مقاله پژوهشی

ارزیابی تأثیر مهار تولید نیتریک اکساید توسط L-NAME بر میزان نفوذپذیری سد خونی-مغزی و نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ در نواحی زیر قشری به دنبال ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی در موش صحرایی نر

حسن قشونی[۱]، شیما شهیاد[۲]، علی نوروززاده[۳]، محمدتقی محمدی*[۴]

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۰۵/۲۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۰۷/۲۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: شکسته شدن سد خونی-مغزی و تولید گسترده نیتریک اکساید به دنبال ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی به‌طور وسیعی در نواحی زیرقشری (نواحی مرکزی) واقع می‌گردد. ازاین‌رو، ما اثرات مهار نیتریک اکساید توسط L-NAME بر نسخه‌برداری پروتئین‌های داخل غشایی کلودین-۳ و ۱۲، که نقش کلیدی در ساختار سد خونی-مغزی دارند، در نواحی زیرقشری به دنبال ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی در موش صحرایی را بررسی نمودیم.

مواد و روش کار: هجده سر موش صحرایی نر با نژاد ویستار (۳۲۰-۲۷۰ گرم) به‌طور تصادفی در سه گروه تقسیم شدند: گروه‌های شاهد، کنترل ایسکمیک، ایسکمیک درمان. ایسکمی مغز از طریق انسداد شریان مغزی میانی (MCAO) راست به مدت ۹۰ دقیقه و به دنبال آن ۲۴ ساعت خون‌رسانی مجدد انجام گردید. موش‌های صحرایی L-NAME به میزان mg/kg ۱ به‌طور داخل‌صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از MCAO دریافت کردند. شاخص اختلالات عصبی-حرکتی (NDS)، نفوذپذیری سد خونی-مغزی و نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ در نواحی زیرقشری ۲۴ ساعت پس از خاتمه MCAO بررسی شدند.

یافته‌ها: القاء MCAO سبب ایجاد اختلالات عصبی-حرکتی (۲/۸۳±۰/۳۰) و گسسته شدن سد خونی-مغزی در نیمکره‌های ایسکمیک گروه کنترل ایسکمیک گردید، درحالی‌که تیمار با L-NAME در موش‌های ایسکمیک تیمار شده به‌طور معنی‌داری اختلالات عصبی-حرکتی (۱/۵۰±۰/۲۲) و همچنین نفوذپذیری سد خونی-مغزی را کاهش داد (p=۰/۰۰۲). تیمار با L-NAME در گروه ایسکمیک درمان همچنین سبب افزایش سطوح نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ به ترتیب ۷۶ درصد و ۷۱ درصد گردید که در گروه کنترل ایسکمیک کاهش داشت.

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان می‌دهد که مهار تولید نیتریک اکساید حین ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی گسسته شدن سد خونی-مغزی و پیامدهای سکته را از طریق ممانعت از کاهش سطوح نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: ایسکمی-خون‌رسانی مجدد، نیتریک اکساید، سد خونی-مغزی، کلودین-۳، کلودین-۱۲

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره نهم، ص ٦٤١-٦٣١، آذر ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، تلفن:۰۹۱۲۷۷۱۳۵۸۳ & نمابر: ۰۲۱-۸۲۴۸۳۴۱۹

Email: Mohammadi.mohammadt@yahoo.com & Mohammadimohammadt@bmsu.ac.ir

مقدمه

آدم یا خیز مغز به معنای تجمع بیش‌ازحد آب در پارانشیم مغز می‌باشد که به دنبال سکته مغزی ایجاد شده و آسیب‌های ناشی از آن را تشدید می‌کند (۱). آدم مغزی بعد از بروز سکته مغزی با دو منشأ مسمومیت سلولی و یا عروقی به وجود می‌آید. معمولاً بلافاصله با ایجاد ایسکمی مغز آدم مغزی با تورم سلولی شروع‌شده ولی با گذشت زمان و آسیب دیدن عروق مغز آدم عروقی نیز به آن اضافه می‌گردد (۱-۳). آدم با منشأ مسمومیت سلولی به دلیل کمبود انرژی و عدم توانایی غشاء در تنظیم حجم سلولی روی می‌دهد که با حرکت آب از فضای بین بافتی به داخل سلول همراه است (۲). درحالی‌که آدم با منشأ عروقی در زمانی که عروق مغز آسیب‌دیده باشد ایجاد می‌شود و با حرکت مایع ایزواسموتیک و پروتئین‌ها از پلاسما به

[۱]استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

[۲] استادیار روانشناسی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

[۳] استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

[٤] دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

داخل فضای بین بافتی همراه است (۱، ۲). در این نوع آدم فضای بین بافتی گسترش یافته و باعث ایجاد اختلال در جریان خون و مایعات مغزی در ماده خاکستری و ماده سفید شده و آسیب‌های سکته مغزی را تشدید می‌کند (۴).

سیستم عصبی مرکزی یکی از حساس‌ترین بافت‌های بدن انسان است که برای عملکرد طبیعی خود به تنظیم دقیق و ثابت نگه‌داشتن غلظت یونی و دیگر مواد تشکیل‌دهنده محیط خارج سلولی نیاز دارد (۵). در اندوتلیوم گردش خون مغز یک سد انتخابی وجود دارد که همانند یک فیلتر در انتقال مواد به بافت مغز نقش ایفا می‌کند (۶). این سد انتخابی سد خونی-مغزی نامیده می‌شود. اتصالات محکم از اجزای مهم این سد انتخابی بوده و از تعداد زیادی پروتئین اختصاصی تشکیل شده است (۵). کلودین‌ها از مهم‌ترین پروتئین‌های اتصالات محکم سلول‌های اندوتلیال عروق مغز بوده که به صورت عرضی در غشاء این سلول‌ها قرار می‌گیرند (۶). حداقل ۲۴ نوع ایزوفرم متفاوت از کلودین‌ها در پستانداران شناسایی شده که همگی‌ها از لحاظ تاخوردن یکسان بوده و از طریق اتصالات هموفیلیک و هتروفیلیک باهم ارتباط برقرار می‌کنند تا ساختار اولیه اتصالات محکم بوجود آید. الگوی بیان کلودین‌ها در بین بافت‌های مختلف متفاوت بوده و در اندوتلیوم عروقی مغز کلودین-۳، ۵ و ۱۲ دیده می‌شود (۷، ۸).

آسیب به سد خونی-مغزی زمان کوتاهی پس از ایسکمی مغزی آغاز شده و در طی دوره خون‌رسانی مجدد، بسته به میزان و شدت ایسکمی، به اوج خود می‌رسد (۹). مطالعات انجام شده نقش چندین فاکتور مهم نظیر نیتریک اکساید در ایجاد آسیب به این سد انتخابی در طی ایسکمی-خون‌رسانی مجدد را گزارش کرده‌اند (۱۰-۱۲). در مطالعه‌ای که با استفاده از مدل حیوانی سکته مغزی انجام شده رابطه بین آسیب سد خونی-مغزی و افزایش تولید نیتریک اکساید به خوبی نشان داده شده است (۱۱). بر پایه نتایج این تحقیق، افزایش فعالیت آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید (NOS)[1] که باعث تبدیل اسید آمینه ال-آرژنین به نیتریک اکساید و ال-سیترولین می‌گردد در قسمت‌هایی از بافت مغز که سد خونی-مغزی آسیب دیده نقش مهم در تشکیل آدم مغز دارد. در مطالعه دیگر که با ایجاد آمبولی توسط میکروسفر در موش صحرایی انجام شده بین میزان افزایش تولید نیتریک اکساید و افزایش آسیب وارده به سد خونی-مغزی رابطه نزدیک گزارش شده است (۱۲). همچنین ایجاد آمبولی توسط میکروسفر در مغز جبریل سبب افزایش نفوذپذیری سد خونی-مغزی گردید که با افزایش بیان آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید و تولید نیتریک اکساید در اندوتلیوم عروقی مغز همراه بود (۱۳). بر این اساس اگر بتوان بین آسیب سد خونی-مغزی ناشی از ایسکمی و افزایش تولید نیتریک اکساید رابطه‌ای برقرار نمود مهار تولید آن باید بتواند در کاهش آسیب سد خونی-مغزی و کاهش ایجاد آدم نقش مؤثر داشته باشد. با این حال مکانیسم دقیقی که نشان دهند مهار تولید نیتریک اکساید در حین ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغز سبب کاهش صدمه به سد خونی-مغزی شده وجود ندارد.

اساساً، آسیب به سد خونی-مغزی در نیمکره‌های ایسکمی شده بیشتر در نواحی زیرقشری مثل استریاتوم دیده می‌شود که با کاهش بیان پروتئین‌های اتصالات محکم همراه است (۱۴، ۱۵). همچنین میزان فعالیت آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید در نواحی ایسکمی شده زیرقشری که با افزایش تشکیل آدم در این ناحیه همراه است به خوبی مشاهده می‌گردد (۱۶). ازآنجایی‌که با توجه به جستجوهای انجام شده در منابع علمی قابل دسترس، مطالعه‌ای که در آن تأثیر مهار تولید نیتریک اکساید بر نسخه‌برداری از ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ در نواحی زیرقشری در مدل ایسکمی-خون‌رسانی مجدد در موش صحرایی یافت نشد لذا مطالعه حاضر بر این اساس طراحی و انجام گردید.

مواد و روش کار

در این تحقیق که یک مطالعه مداخله ای-تجربی بود از ۱۸ سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) در محدوده وزنی ۲۷۰ تا ۳۲۰ گرم خریداری می‌شدند، استفاده گردید. حیوانات قبل از مطالعه و در طی آزمایش در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت مناسب، درجه حرارت ۲۵ ^{o}C و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمام آزمایش‌ها بر طبق مقررات اخلاقی کار با حیوانات، مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و کنوانسیون هلسینکی انجام گردید.

برای آماده سازی حیوان جهت ایجاد ایسکمی موقتی-موضعی مغز از روش ارائه شده توسط Longa و همکاران استفاده گردید (۱۷). در ابتدا موش‌های صحرایی توسط ایزوفلوران ۲/۵ درصد (انگلستان) بیهوش شدند. بعد از تثبیت حیوان بر روی میز جراحی، ناحیه گردن از وسط باز شده و بافت همبند و عضلات را کنار زده تا امکان دسترسی آسان به شریان کاروتید مشترک و شاخه‌های آن (خارجی و داخلی) فراهم گردد. در گروه‌های ایسکمی، با بستن موقت شریان کاروتید مشترک طرف راست شکاف طریفی در شاخه کاروتید خارجی ایجاد نموده و همزمان با بستن قسمت پائین آن نخ نایلون آماده شده (شماره ۰-۳) که نوک آن توسط حرارت گرد شده

[1] Nitric oxide synthase

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

و سطح آن با پلی ال-لیزین پوشانده شده را از راه شکاف وارد شریان داخلی و از آنجا به آرامی به داخل جمجمه و به طرف حلقه ویلیس هدایت کرده تا به ابتدای شریان میانی مغز برسد. با عبور نوک نخ از ابتدای شریان میانی مغز، مقاومت اندکی در هدایت آن ایجاد می‌شد. بعد از اطمینان از قرارگیری نخ آماده شده در محل مورد نظر نخ نایلون به مدت ۹۰ دقیقه در محل تثبیت می‌شد. برای خاتمه ایسکمی و شروع مرحله خون‌رسانی مجدد نخ نایلون را به آرامی از رگ بیرون آورده و با بستن شریان خارجی زخم‌های ایجاد شده در ناحیه گردن را بخیه زده و حیوان تا بهوش آمدن در محل گرم نگهداری می‌شد. در تمام دوره آزمایش تا خاتمه بیهوشی درجه حرارت حیوان با کمک لامپ گرم کننده در محدوده ۳۸-۳۷ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته می‌شد. بعد از هوشیاری کامل، حیوان را به قفس منتقل نموده و تا انجام آزمایش‌های بعدی در شرایط مناسب نگهداری می‌گردید.

پروتکل و گروه‌های آزمایشی در این تحقیق به صورت زیر انجام شد و حیوانات مورد نظر به صورت تصادفی در سه گروه به شرح زیر قرار گرفتند: ۱- گروه شاهد (۶ =n): در حیوانات این گروه بعد از بیهوشی، عمل جراحی جهت انسداد شریان میانی مغز با آشکارسازی شریان کاروتید مشترک و شریان‌های کاروتید خارجی و داخلی در ناحیه گردن انجام شده ولی عمل انسداد شریان میانی مغز صورت نمی‌پذیرفت. با توجه به عدم انسداد شریان میانی مغز، ۲۴ ساعت بعد از پایان جراحی هیچ‌گونه علائم حاکی از ایسکمی مغزی مشاهده نشد. ۲- گروه کنترل ایسکمی (۶ =n): در حیوانات این گروه کلیه اعمال جراحی تا مرحله القاء ایسکمی مشابه گروه شاهد می‌باشد. القاء ایسکمی به مدت ۹۰ دقیقه دوام پیدا می‌کرد و مرحله خون‌رسانی مجدد با بیرون کشیدن آهسته نخ شروع شده و بعد از ۱۵ دقیقه محل جراحی بخیه زده شده و حیوان در محل مناسب نگهداری می‌شد. ارزیابی اختلالات عصبی-حرکتی ۲۴ ساعت بعد از شروع مرحله خون‌رسانی مجدد در حیواناتی که زنده می‌ماندند، انجام می‌گردید. سپس تحت بیهوشی عمیق، با تزریق داخل صفاقی تیوپنتال سدیم، حیوان را کشته، سر را جدا کرده و مغز را با احتیاط کامل از جمجمه خارج نموده و جهت بررسی متغیرهای مورد نظر آماده سازی می‌شد. ۳- گروه ایسکمی تیمار شده با L-NAME (۶ =n): حیوانات این گروه ۳۰ دقیقه قبل از ایجاد ایسکمی محلول L-NAME به میزان ۱ mg/kg به صورت داخل صفاقی دریافت کردند و مابقی پروتکل‌ها و جراحی جهت فیلامان گذاری برای القاء ایسکمی-خون‌رسانی مجدد همانند گروه کنترل ایسکمی انجام گردید. قابل‌ذکر است، حیواناتی که در حین جراحی یا بعد از آن در طی مرحله خون‌رسانی مجدد زنده نمی‌ماندند از گروه‌های مطالعه خارج شده و توسط حیوانات جدید جایگزین می‌شدند.

ماده مورد استفاده برای تیمار حیوانات در این تحقیق L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester) از شرکت سیگما (امریکا) خریداری شد. جهت آماده سازی محلول L-NAME برای تزریق، ابتدا پودر خریداری شده توسط ترازوی دقیق دیجیتالی وزن شده و به صورت تازه با محلول نرمال سالین حل می‌شد. در نهایت محلول تهیه شده به صورت تازه و پس از محاسبه مقدار تزریق (۱mg/kg) برای هر حیوان به صورت داخل صفاقی تزریق انجام می‌گردید. ضمناً میزان دوز و روش مصرف L-NAME بر اساس مطالعات قبلی انتخاب گردیده است (۱۸). میزان حجم تزریق بین ۰/۵ تا یک میلی لیتر بسته به وزن و محاسبات انجام شده بود که معادل آن نرمال سالین به حیوانات گروه شاهد و کنترل ایسکمی تزریق شد.

بررسی آسیب و نفوذپذیری سد خونی-مغزی به صورت کمی و با استفاده از تکنیک خروج اونس بلو از عروق انجام می‌گردید (۱۰). در این روش محلول اونس بلو (سیگما، آلمان) به صورت داخل وریدی (۱ml/kg از محلول ۲ درصد، ۳۷ درجه) به مدت ۵ دقیقه به آرامی تزریق می‌شد. بعد از ۱۲ ساعت حیوان را بیهوش کرده و با باز کردن قفسه سینه یک کانول در داخل بطن چپ قرار داده و ۳۰۰ml نرمال سالین گرم به‌طور آهسته تزریق می‌شد. بعد از خاتمه شستشو سر حیوان را جدا کرده و مغز به آرامی و بدون ایجاد آسیب از جمجمه خارج شده و پس از جدا کردن ساقه مغز، مخچه و پیاز بویایی توسط ماتریکس مغزی شش برش عرضی (coronal) به قطر ۲ میلیمتر تهیه شد. بعد از آماده سازی، از برش‌ها توسط دوربین دیجیتال (Canon, Japan) عکس گرفته و نواحی آبی رنگ که دال بر خروج اونس بلو بوده و شاخص آسیب به سد خونی مغزی است از لحاظ کیفی مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

در حیواناتی که تا ۲۴ ساعت بعد از پایان دوره ایسکمی زنده می‌ماندند اختلالات عصبی- حرکتی با بکارگیری تست پنج نمره‌ای توسط فردی که نسبت به گروه تیمار شده آگاهی نداشت مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۹). در این تست به صورت قراردادی اختلالات عصبی- حرکتی حیوان به شرح زیر از نمره ۱ تا ۵ درجه بندی شده است. نمره ۱ به حیواناتی داده می‌شد، ازجمله حیوانات گروه شاهد، که هیچ‌گونه اختلال حرکتی نشان نمی‌دادند. نمره ۲ برای حیوانی در نظر گرفته می‌شد که دست سمت متقابل نیمکره ایسکمی شده (دست چپ) را موقع آویزان شدن از دم خم می‌نمود (حالت Flexion). نمره ۳ به حیوانی تعلق می‌گرفت که در شروع حرکت در یک سطح صاف به سمت متقابل نیمکره ایسکمی شده (سمت چپ) می‌چرخید و حیوانی که رفلکس ایستادن را از دست داده بود نمره ۴ و در نهایت نمره ۵ به حیواناتی داده می‌شد که فاقد هر گونه حرکت خودبخودی بودند.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

جهت اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های مورد نظر (کلودین-۳ و ۱۲) از روش اندازه‌گیری mRNA با استفاده از تکنیک کمی نسخه‌برداری معکوس-واکنش زنجیری پلیمراز۲ (qRT-PCR) در سه مرحله استفاده شد. در ابتدا RNA کل از ۵۰ mg بافت مغز توسط کیت استخراج RNA (Invisorb RNA kit II) براساس پروتکل کارخانه سازنده استخراج گردید. کمیت و کیفیت نمونه‌های RNA استخراج شده به‌وسیله الکتروفورز RNA کل بر روی ژل آگاروز ۱ درصد انجام گردید. در مرحله دوم سنتز DNA مکمل (cDNA) از ۳µL از RNA کل با استفاده از کیت سنتز cDNA (Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit) بر اساس پروتکل کارخانه سازنده (Bioneer, Takapozyst, Iran) انجام گردید. جهت اندازه‌گیری ژن‌های مورد نظر، جفت پرایمرهای مربوط به هر ژن با ۸۰ nM مورد استفاده قرار گرفتند. واکنش‌ها بر مبنای استفاده از رنگ SYBR Green انجام شد. واکنش در حجم نهایی ۲۵ µL و با اضافه کردن cDNA۱µg انجام شد. برحسب تعداد نمونه ابتدا مخلوطی از مواد داده شده تهیه و پس از توزیع ۲۴ µL از مخلوط به تیوب‌های مخصوص دستگاه، به هر کدام ۱ µL cDNA افزوده شد. در پایان منحنی‌های ذوب هر واکنش بررسی شد تا صحت پیک مربوط به ژن مورد نظر و فقدان پرایمر دایمر تأیید شود. در نهایت برای محاسبه بیان ژن‌های مختلف از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده گردید (۲۰).

نتایج آماری به‌دست آمده در این تحقیق به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (Mean ± SEM) ارائه شده است. برای آنالیز داده‌های مربوط به بیان ژن از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده گردید و برای مقایسه درصدها و اسکورها از آزمون Tukey به‌عنوان Post-hoc استفاده شد. همچنین برای داده‌های عصبی-حرکتی از روش مقایسه‌ای غیر پارامتریک و آزمون آماری Mann-Whitney U استفاده گردید. در تمامی مقایسه‌ها $p<0/05$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

مقاطع عرضی (برش‌های کرونال) تهیه شده از بافت مغز موش‌های صحرایی بعد از تزریق محلول اونس بلو به صورت داخل وریدی در حیوانات مورد مطالعه در تصویر شماره ۱ ارائه شده است. در این تصاویر نواحی سالم مغز سفید رنگ بوده اما به دلیل وجود نواحی ایسکمی و صدمه به عروق مغز ماده اونس بلو از خون وارد پارانشیم مغز گردیده و باعث ایجاد رنگ آبی در این نواحی شده است. در حیوانات گروه شاهد به دلیل عدم وجود ضایعه ایسکمی و عدم آسیب به سد خونی -مغزی رنگ هر دو نیمکره مغزی به صورت کاملاً سفید و بی رنگ است. درحالی‌که در حیوانات گروه کنترل ایسکمی در نیمکره ضایعه دیده (راست) خروج ماده اونس بلو به صورت بافت آبی رنگ به خوبی مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده آسیب سد خونی-مغزی در نیمکره ایسکمی شده به‌ویژه نواحی زیر قشر (استریاتوم) می‌باشد. تیمار با L-NAME خروج ماده رنگی اونس بلو از خون به پارانشیم مغز علی الخصوص در نواحی استریاتوم را به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش داده است که نشان‌دهنده کاهش آسیب به سد خونی-مغزی در نیمکره ایسکمی شده حیوانات تیمار شده می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی اختلالات عصبی-حرکتی در تمامی گروه‌های مطالعه در نمودار ۱ نشان داده شده است. در حیوانات گروه شاهد هیچ‌گونه اختلالات عصبی-حرکتی مشاهده نشد. بنابر این میزان عددی این شاخص یک از ۵ بود. درحالی‌که مقادیر عددی این اختلالات برای حیوانات گروه کنترل ایسکمی افزایش پیدا کرد و میزان عددی این شاخص برابر با ۰/۳۰ ± ۲/۸۳ بود. تیمار با L-NAME میزان شاخص اختلالات عصبی-حرکتی را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با حیوانات گروه کنرل ایسکمی کاهش داد و میزان این شاخص برای حیوانات گروه تیمار شده برابر با ۰/۲۲ ± ۱/۵۰ بود ($p=0/002$).

مقادیر کمی نسخه‌برداری از ژن کلودین-۱۲ نسبت به بتا اکتین در اندوتلیوم عروق مغز ناحیه ایسکمی شده زیر قشر در نمودار شماره ۲ ارائه شده است. میزان این نسبت به لحاظ عددی در حیوانات گروه شاهد برابر با ۰/۲۷ ± ۱/۲۸ بود. ایجاد ایسکمی-خون‌رسانی مجدد در حیوانات گروه کنترل ایسکمی باعث کاهش معنی‌دار نسخه‌برداری از ژن کلودین-۱۲ در مقایسه با گروه شاهد گردید ($p=0/009$)، که میزان عددی آن برابر با ۰/۰۸ ± ۰/۴۳ بود. درحالی‌که تیمار با L-NAME میزان نسخه‌برداری از ژن کلودین-۱۲ را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ایسکمی افزایش داد ($p=0/002$)، که میزان عددی آن برابر با ۰/۰۴ ± ۱/۵۲ بود.

نمودار شماره ۳ مقادیر کمی نسخه‌برداری از ژن کلودین-۳ نسبت به بتا اکتین در اندوتلیوم عروق مغز ناحیه ایسکمی شده زیرقشر را نشان می‌دهد. میزان این نسبت به لحاظ عددی در حیوانات گروه شاهد برابر با ۰/۳۰ ± ۰/۸۳ بود. ایجاد ایسکمی-خون‌رسانی مجدد در حیوانات گروه کنترل ایسکمی باعث کاهش نسخه‌برداری از ژن کلودین-۳ گردید اما این کاهش به لحاظ آماری در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار نبوده و میزان عددی آن برابر با

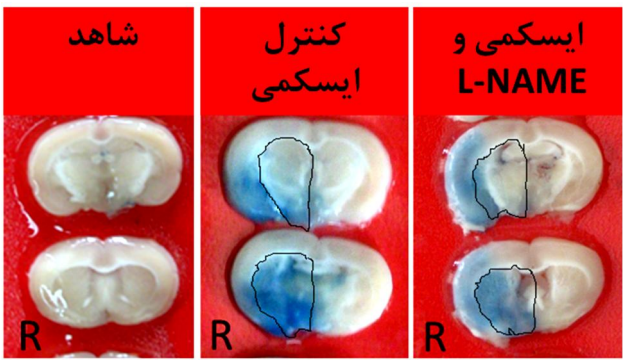
۲ Quantitative Real time - Polymerase chain Reaction

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

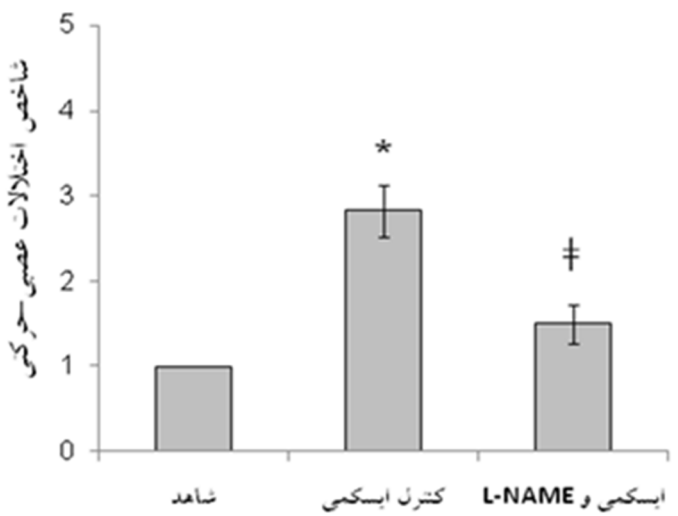
۰/۰۵ ± ۰/۲۷ بود (p=۰/۱۷۸). همچنین تیمار با L-NAME میزان نسخه‌برداری از ژن کلودین-۳ را در مقایسه با گروه کنترل ایسکمی افزایش داده که میزان عددی آن برابر با ۰/۱۸ ± ۱/۱۶ بود (p=۰/۰۲۵).

جدول (۱): پرایمرهای مورد استفاده در qRT–PCR برای ژن‌های مورد بررسی

Genes	Primer
Forward Claudin-12	CGGGCCTGTGGGTGAAGTGC
Reverse Claudin-12	CGAACTGGAGGACGCGCAGG
Forward Claudin -3	GGGTTGTACGTGGGCTGGGC
Reverse Claudin -3	GTGGATCGCGGCGCGGAATA
Forward Rat ACTB	CCACACCCGCCACCAGTTCG
Reverse Rat ACTB	CTAGGGCGGCCCACGATGGA



تصویر (۱): تصاویر نشان‌دهنده برش‌های عرضی (کرونال) تهیه شده از بافت مغز موش‌های صحرایی بعد از تزریق محلول اونس بلو به صورت داخل وریدی در حیوانات گروه شاهد، کنترل ایسکمی و ایسکمی تیمار شده با L-NAME می‌باشند. مناطق آبی رنگ نشان‌دهنده آسیب به سد خونی – مغزی در حیواناتی است که در آنها آسیب ایسکمی- خون‌رسانی مجدد القا شده است.

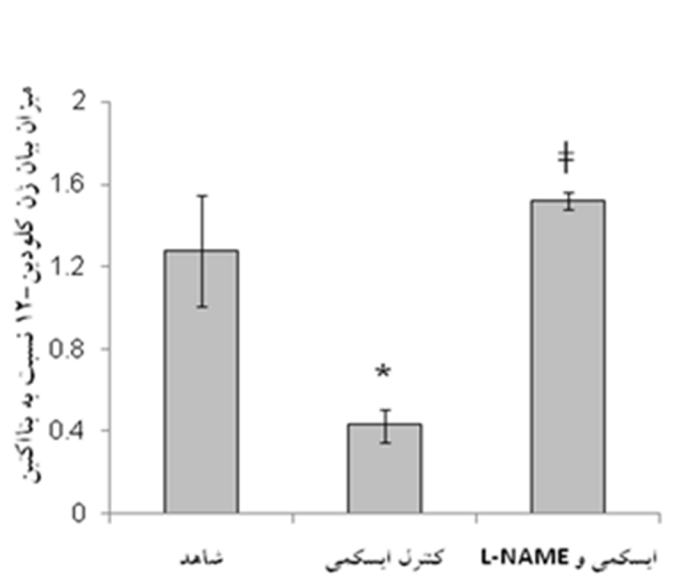


نمودار (۱): شاخص اختلالات عصبی- حرکتی بعد از ایجاد آسیب ایسکمی – خون‌رسانی مجدد در حیوانات گروه شاهد، کنترل ایسکمی و ایسکمی تیمار شده با L-NAME. داده‌ها به صورت Means± SEM نشان داده شده است.

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با p=۰/۰۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد است.

‡ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با p=۰/۰۰۲ در مقایسه با گروه کنترل ایسکمی است.

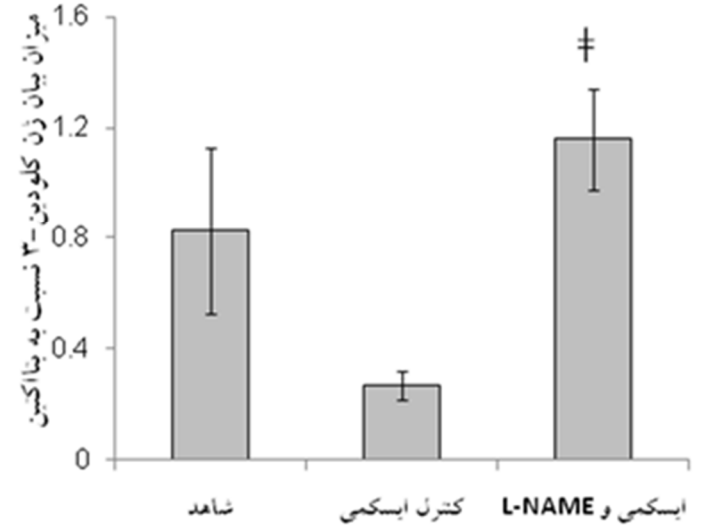
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]



نمودار (۲): میزان بیان ژن کلودین-۱۲ در نواحی زیر قشر (استریاتوم) بعد از ایجاد آسیب ایسکمی – خون‌رسانی مجدد در حیوانات گروه شاهد، کنترل ایسکمی و ایسکمی تیمار شده با L-NAME. داده‌ها به صورت Means± SEM نشان داده شده است.

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با p=۰/۰۰۹ در مقایسه با گروه شاهد است.

‡ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با p=۰/۰۰۲ در مقایسه با گروه کنترل ایسکمی است.



نمودار (۳): میزان بیان ژن کلودین-۳ در نواحی زیر قشر (استریاتوم) بعد از ایجاد آسیب ایسکمی – خون‌رسانی مجدد در حیوانات گروه شاهد، کنترل ایسکمی و ایسکمی تیمار شده با L-NAME. داده‌ها به صورت Means± SEM نشان داده شده است.

‡ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با p=۰/۰۲۵ در مقایسه با گروه کنترل ایسکمی است.

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر استفاده از مهار کننده غیر اختصاصی آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید (L-NAME) و مهار تولید نیتریک اکساید در حیواناتی که در آنها آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد القا شده بود باعث کاهش صدمه به سد خونی-مغزی در نواحی ایسکمی شده و همچنین اختلالات عصبی-حرکتی گردید. همچنین

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

تیمار با L-NAME از کاهش نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲، که در ناحیه زیرقشری (استریاتوم) به دلیل آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد در این ناحیه کاهش یافته بود، جلوگیری کرد. بنابر این با توجه به نتایج مطالعه حاضر و نقش پروتئین‌های اتصالات محکم در ایجاد و حفظ سد خونی-مغزی پیشنهاد می‌گردد مهار تولید نیتریک اکساید با جلوگیری از کاهش نسخه‌برداری پروتئین‌های اتصالات محکم از ایجاد صدمه به سد خونی-مغزی در نواحی استریاتوم و نهایتاً تشکیل آدم مغزی در این ناحیه بعد از بروز آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد جلوگیری می‌کند.

بر اساس مطالعات آزمایشگاهی دو دهه اخیر افزایش تولید نیتریک اکساید هم در طول دوره ایسکمی و هم در مرحله خون‌رسانی مجدد نقش مهم و کلیدی در پاتوفیزیولوژی آسیب‌های ناشی از سکته مغزی دارد (۲۱-۲۳). این افزایش تولید با توجه به زمان، محل و منبع تولید می‌تواند آسیب‌های نورونی ناشی از ایسکمی و یا سکته مغزی را تشدید نماید (۲۴، ۲۵). بر طبق مطالعات انجام شده تولید نیتریک اکساید در نواحی زیرقشری به‌ویژه استریاتوم، که نواحی مرکزی (core) بروز ایسکمی در مدل انسداد شریان میانی مغز است، به مقدار زیادی افزایش می‌یابد (۱۴، ۱۵). بر این اساس طبق نتایج به‌دست آمده از مطالعات گذشته مهار تولید نیتریک اکساید در نواحی زیرقشری، توسط مهار کننده‌های غیر انتخابی آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید نظیر L-NAME، آسیب‌های ناشی از ایسکمی مغزی در مدل‌های ایسکمی موضعی-موقتی و یا دائم مغزی را کاهش خواهد داد. در مطالعه حاضر تیمار با این مهار کننده غیر اختصاصی (L-NAME) قبل از ایجاد ایسکمی از میزان ورود ماده‌ی اونس بلو به بافت مغز (شاخص نفوذپذیری و آسیب به سد خونی-مغزی) جلوگیری نموده و هم راستا با کاهش صدمه به سد خونی-مغزی میزان اختلالات عصبی-حرکتی را در پاسخ به ایسکمی-خون‌رسانی مجدد به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داده است. به نظر می‌رسد تیمار با L-NAME بر مبنای کاهش خروج اونس بلو از عروق مغزی، شدت آسیب سد خونی-مغزی و تشکیل آدم با منشأ عروقی را کاهش داده و با کاهش آدم مغزی به بهبود ضایعه ایسکمی-خون‌رسانی مجدد و نهایتاً به بهبود عملکرد عصبی کمک کرده است. در راستای نتایج به دست آمده در مطالعات گذشته نقش کلیدی نیتریک اکساید در تخریب سد خونی-مغزی در شرایط ایسکمی-خون‌رسانی مجدد گزارش شده است. (۱۸، ۲۶). لذا بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مهار فعالیت ایزوفرم های مختلف آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید در زمان ایسکمی-خون‌رسانی مجدد و به تبع آن کاهش تولید نیتریک اکساید شدت آسیب سد خونی-مغزی در نواحی زیرقشری را کاهش داده و نهایتاً با کاهش نفوذپذیری عروق مغز و تشکیل آدم عوارض بعدی سکته مغزی نظیر اختلالات عصبی-حرکتی را تقلیل می‌دهد.

کلودین‌ها دسته‌ای از پروتئین‌های اتصالات محکم بوده و نقش اساسی و مهم در ایجاد ساختار اتصالات محکم و نفوذپذیری عروق مغز بر عهده دارند (۶). اتصالات محکم شامل شبکه‌ای از پروتئین‌ها می‌باشند که در فضای بین سلول‌های اندوتلیال گسترش پیدا کرده و با ایجاد سدی فیزیکی و محکم از انتشار مواد از مسیرهای کنار سلولی جلوگیری می‌کند (۵). بر پایه مطالعات اخیر کلودین‌های شماره ۳، ۵ و ۱۲ در اندوتلیوم عروق مغز بیان می‌شوند اما در ارتباط با چگونگی تغییرات آنها در شرایط پاتولوژیک مغز مثل سکته مغزی مطالعات اندکی وجود دارد (۸، ۲۷، ۲۸). در تحقیق حاضر القاء ایسکمی-خون‌رسانی مجدد میزان نسخه‌برداری از ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ را در نواحی زیرقشری کاهش داد که به نظر می‌رسد با تغییر در ساختار اتصالات محکم سبب افزایش نفوذپذیری سد خونی-مغزی در نیمکره ایسکمی گردیده است. بر اساس مطالعات تغییر در ماهیئت اتصالات محکم که در سکته مغزی اتفاق می‌افتد سد خونی-مغزی آسیب دیده و با عبور مواد پروتئینی محلول در آب آدم مغزی تشکیل شده و با تشدید ضایعه مغزی میزان مرگ‌ومیر افزایش می‌یابد (۴، ۲۹). بررسی مطالعات انجام شده در شرایط هیپوکسی-اکسیژن رسانی مجدد و یا ایسکمی-خون‌رسانی مجدد بافت مغز نشان داده که از طریق گسسته شدن پروتئین‌های اتصالات محکم بین سلول‌های اندوتلیال نفوذپذیری عروق مغزی افزایش می‌یابد (۳۰، ۳۱). این تغییرات ممکن است با افزایش فعالیت آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید که منجر به تولید بیشتر نیتریک اکساید می‌شود ارتباط داشته باشد (۳۲). از طرفی دریافت L-NAME در گروه ایسکمی تیمار شده توانست همراه با کاهش آسیب سد خونی-مغزی از کاهش نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ جلوگیری نماید. به نظر می‌رسد پروتئین‌های کلودین-۳ و ۱۲ نقش مهمی در حفظ ساختمان اتصالات محکم و نفوذپذیری سد خونی-مغزی به‌ویژه در ناحیه زیر قشری داشته باشند (۳۳، ۳۴). با توجه به اینکه این نتایج موید فرضیه بالا است پس افزایش تولید نیتریک اکساید در زمان ایسکمی-خون‌رسانی مجدد می‌تواند با کاهش تولید پروتئین‌های کلودین-۳ و ۱۲ در آسیب سد خونی-مغزی در ناحیه زیر قشر که نواحی مرکزی سکته مغزی را به خود اختصاص می‌دهد نقش داشته باشد. ضمناً، طبق نتایج این تحقیق کاهش تولید نیتریک اکساید آسیب سد خونی-مغزی را در طی ایسکمی-خون‌رسانی مجدد در ناحیه زیرقشری کاهش داده است که با جلوگیری از تغییرات ایزوفرم های کلودین‌ها در قسمت زیرقشری همراه می‌باشد.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

با توجه به این نکته که نقش کامل نیتریک اکساید در پاتوفیزیولوژی آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی و به دنبال آن آسیب به سد خونی-مغزی و تشکیل آدم به خوبی مشخص نشده است پیشنهاد می‌گردد مطالعاتی در زمینه فعال شدن برخی سیگنال‌های ثانویه توسط نیتریک اکساید که می‌تواند بعد از آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغزی باعث تغییر در میزان بیان پروتئین‌های اتصالات محکم و موقعیت مکانی آنها گردد توسط محققین مورد مطالعه قرار گیرد.

به‌طور خلاصه از نتایج این تحقیق چنین استنباط می‌شود که جلوگیری از افزایش فعالیت آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید و مهار تولید نیتریک اکساید در نواحی زیرقشری، که نواحی مرکزی سکته مغزی در مدل انسداد شریان میانی مغز را تشکیل می‌دهد، از کاهش نسخه‌برداری ژن‌های کلودین-۳ و ۱۲ جلوگیری کرده و با حفظ ساختار سد خونی-مغزی از تشکیل آدم مغزی با منشأ عروقی جلوگیری نموده و سبب بهبود عملکرد عصبی-حرکتی بعد از آسیب ایسکمی-خون‌رسانی مجدد مغز می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی از گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) که امکانات و شرایط لازم برای انجام تحقیق حاضر را فراهم نموده تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 and brain edema. Pediatr Nephrol 2007;22(6):778-84.
2. Kimelberg HK. Current concepts of brain edema. Review of laboratory investigations. J Neurosurg 1995;83(6):1051-9.
3. Klatzo I. Evolution of brain edema concepts. Acta Neurochir Suppl (Wien) 1994;60:3-6.
4. Papadopoulos MC, Binder DK, Verkman AS. Enhanced macromolecular diffusion in brain extracellular space in mouse models of vasogenic edema measured by cortical surface photobleaching. FASEB J 2005;19(3):425-7.
5. Abdullahi W, Tripathi D, Ronaldson PT. Blood-Brain Barrier Dysfunction in Ischemic Stroke: Targeting Tight Junctions and Transporters for Vascular Protection. Am J Physiol Cell Physiol 2018;315(3):C343-C356.
6. Haseloff RF, Dithmer S, Winkler L, Wolburg H, Blasig IE. Transmembrane proteins of the tight junctions at the blood-brain barrier: Structural and functional aspects. Semin Cell Dev Biol 2015;38:16-25.
7. Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. Pharmacol Rev 2005;57(2):173-85.
8. Wolburg H, Noell S, Mack A, Wolburg-Buchholz K, Fallier-Becker P. Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. Cell Tissue Res 2009;335(1):75-96.
9. Sandoval KE, Witt KA. Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke. Neurobiol Dis 2008;32(2):200-19.
10. Mohammadi MT, Shid-Moosavi SM, Dehghani GA. Contribution of nitric oxide synthase (NOS) in blood-brain barrier disruption during acute focal cerebral ischemia in normal rat. Pathophysiology 2012;19(1):13-20.
11. Parathath SR, Parathath S, Tsirka SE. Nitric oxide mediates neurodegeneration and breakdown of the blood-brain barrier in tPA-dependent excitotoxic injury in mice. J Cell Sci 2006;119(Pt 2):339-49.
12. Han F, Shirasaki Y, Fukunaga K. Microsphere embolism-induced endothelial nitric oxide synthase expression mediates disruption of the blood-brain barrier in rat brain. J Neurochem 2006;99(1):97-106.
13. Hashiguchi A, Yano S, Morioka M, Hamada J, Ushio Y, Takeuchi Y, et al. Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase via phosphatidylinositol 3-kinase pathway contributes to ischemic tolerance in the CA1 subfield of gerbil hippocampus. J Cereb Blood Flow Metab 2004;24(3):271-9.
14. Mohammadi MT. Overproduction of nitric oxide intensifies brain infarction and cerebrovascular

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

damage through reduction of claudin-5 and ZO-1 expression in striatum of ischemic brain. Pathol Res Pract 2016;212(11):959-64.

15. Leger PL, Bonnin P, Moretti R, Tanaka S, Duranteau J, Renolleau S, et al. Early Recruitment of Cerebral Microcirculation by Neuronal Nitric Oxide Synthase Inhibition in a Juvenile Ischemic Rat Model. Cerebrovasc Dis 2016;41(1-2):40-9.
16. Nakashima MN, Yamashita K, Kataoka Y, Yamashita YS, Niwa M. Time course of nitric oxide synthase activity in neuronal, glial, and endothelial cells of rat striatum following focal cerebral ischemia. Cell Mol Neurobiol 1995;15(3):341-9.
17. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 1989;20(1):84-91.
18. Ding-Zhou L, Marchand-Verrecchia C, Croci N, Plotkine M, Margaill I. L-NAME reduces infarction, neurological deficit and blood-brain barrier disruption following cerebral ischemia in mice. Eur J Pharmacol 2002;457(2-3):137-46.
19. Sarami Foroshani M, Sobhani ZS, Mohammadi MT, Aryafar M. Fullerenol Nanoparticles Decrease Blood-Brain Barrier Interruption and Brain Edema during Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury Probably by Reduction of Interleukin-6 and Matrix Metalloproteinase-9 Transcription. J Stroke Cerebrovasc Dis 2018;27(11):3053-65.
20. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 2001;25(4):402-8.
21. Dawson DA. Nitric oxide and focal cerebral ischemia: multiplicity of actions and diverse outcome. Cerebrovasc Brain Metab Rev 1994;6(4):299-324.
22. Dalkara T, Moskowitz MA. The complex role of nitric oxide in the pathophysiology of focal cerebral ischemia. Brain Pathol 1994;4(1):49-57.
23. Jiang Z, Li C, Arrick DM, Yang S, Baluna AE, Sun H. Role of nitric oxide synthases in early blood-brain barrier disruption following transient focal cerebral ischemia. PloS one 2014;9(3):e93134.
24. Tajes M, Ill-Raga G, Palomer E, Ramos-Fernandez E, Guix FX, Bosch-Morato M, et al. Nitro-oxidative stress after neuronal ischemia induces protein nitrotyrosination and cell death. Oxid Med Cell Longev 2013;2013:826143.
25. Zhang J, Han Y, Wang Y, Cheng X, Wang CJ. Neuronal nitric oxide synthase inhibition reduces brain damage by promoting collateral recruitment in a cerebral hypoxia-ischemia mice model. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2018;22(10):3166-72.
26. Mark KS, Burroughs AR, Brown RC, Huber JD, Davis TP. Nitric oxide mediates hypoxia-induced changes in paracellular permeability of cerebral microvasculature. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;286(1):H174-80.
27. Nitta T, Hata M, Gotoh S, Seo Y, Sasaki H, Hashimoto N, et al. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. J Cell Biol 2003;161(3):653-60.
28. Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Kraus J, Rascher-Eggstein G, Liebner S, Hamm S, et al. Localization of claudin-3 in tight junctions of the blood-brain barrier is selectively lost during experimental autoimmune encephalomyelitis and human glioblastoma multiforme. Acta Neuropathol 2003;105(6):586-92.
29. Fagan SC, Hess DC, Hohnadel EJ, Pollock DM, Ergul A. Targets for vascular protection after acute ischemic stroke. Stroke 2004;35(9):2220-5.
30. Fischer S, Clauss M, Wiesnet M, Renz D, Schaper W, Karliczek GF. Hypoxia induces permeability in brain microvessel endothelial cells via VEGF and NO. Am J Physiol 1999;276(4 Pt 1):C812-20.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

31. Mark KS, Davis TP. Cerebral microvascular changes in permeability and tight junctions induced by hypoxia-reoxygenation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002;282(4):H1485-94.
32. Ding R, Chen Y, Yang S, Deng X, Fu Z, Feng L, et al. Blood-brain barrier disruption induced by hemoglobin in vivo: Involvement of up-regulation of nitric oxide synthase and peroxynitrite formation. Brain Res 2014;1571:25-38.
33. Lv J, Hu W, Yang Z, Li T, Jiang S, Ma Z, et al. Focusing on claudin-5: A promising candidate in the regulation of BBB to treat ischemic stroke. Prog Neurobiol 2018;161:79-96.
34. Jiang X, Andjelkovic AV, Zhu L, Yang T, Bennett MVL, Chen J, et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke. Prog Neurobiol 2018;163-164:144-71.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

Original Article

EVALUATION OF THE INHIBITION OF NITRIC OXIDE PRODUCTION BY L-NAME ON BLOOD-BRAIN BARRIER PERMEABILITY AND TRANSCRIPTION OF CLAUDIN-3 AND 12 GENES AT THE SUBCORTICAL AREAS FOLLOWING CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN MALE RAT

*Hassan Ghoshooni[1], Shima Shahyad[2], Ali Noroozzadeh[3], Mohammad Taghi Mohammadi[4]**

Received: 12 Aug, 2018; Accepted: 21 Oct, 2018

Abstract

Background & Aims: Blood-brain barrier (BBB) breakdown and nitric oxide (NO) overproduction following cerebral ischemia-reperfusion extensively happens in the subcortical regions (core areas). Hence, we assessed the effects of NO inhibition by L-NAME on transcription of the transmembrane proteins claudin-3 and 12, with key role in BBB structure, at subcortical areas following cerebral ischemia-reperfusion in rat.

Materials & Methods: Eighteen male Wistar rats (270-320 g) were randomly divided into three groups; sham, control ischemia and treated ischemic groups. Brain ischemia was induced by 90 min right middle cerebral artery occlusion (MCAO) followed by 24 hours reperfusion. Rats received L-NAME intraperitoneally at dose of 1 mg/kg 30 min before MCAO. Neurological deficit score (NDS), BBB permeability and transcription of the claudin-3 and 12 genes at subcortical areas were assessed 24 hours after termination of MCAO.

Results: MCAO induced neurological dysfunction (2.83±0.30) and BBB interruption in the ischemic hemispheres of control ischemic group, whereas L-NAME administration in ischemic treated rats significantly declined neurological dysfunction (1.50±0.22) and also BBB permeability. L-NAME administration in treated ischemic group also enhanced the transcription levels of caudin-3 and 12 by 76% and 71%, respectively, which declined in control ischemic group.

***Conclusion*:** Our findings indicate that NO inhibition in cerebral ischemia-reperfusion declines the BBB interruption and stroke outcomes through preventing from reduction of the transcription levels of caudin-3 and 12 in subcortical areas.

Keywords: Ischemic-reperfusion, Nitric oxide, Blood-brain barrier, Claudin-3, Claudin-12

Address: Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: +989127713583
Email: mohammadi.mohammadt@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2018: 29(9): 641 ISSN: 1027-3727

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

[1] *Assistant Professor, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[2] *Assistant Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[3] *Assistant Professor, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[4] *Associate Professor, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran (Corresponding Author)*