بررسی اثرات مهار منتشر شونده بر روی ظهور و توزیع گلیکوکونژوگیت‌ها

The Effect of Spreading Depression on Glycoconjugates of Dentate Gyrus in Rats

مریم جعفریان[۱]، فریبا کریم زاده[۱]، صادق رحیمی[۲]،
سید محمود حسینی[۳]، الهام محمدزاده[۴]، علیرضا فاضل[۱]

۱. گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، تهران، ایران.

Maryam Jafarian[1], Fariba Karimzadeh[1], Sadegh Rahimi[2], Seyed Mahmoud Hosseini[3], Elham Mohammadzadeh[4], Alireza Fazel[1]

1. Deptartment of Anatomy, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
2. School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
3. Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
4. Shefa Neuroscience Research Center, Tehran, Iran.

اطلاعات مقاله
دریافت: ۲۵ مهر ۱۳۹۱
پذیرش: ۳۰ آذر ۱۳۹۱

چکیده

مقدمه مهار منتشر شونده (SD) یک پدیده پاتوفیزیولوژیک در سیستم اعصاب مرکزی است و در جریان بیماری‌هایی نظیر میگرن با اورا، صرع و بیماری‌های عروقی مغز مشاهده می‌شود. با توجه به نقش مهم گلیکوکونژوگیت‌ها در روند تکثیر و تمایز سلول‌ها و برهم کنش سلولها و اینکه SD می تواند در شرایط خاصی باعث فعال شدن نوروژنز شود، دراین مطالعه تأثیر SD روی ظهور و توزیع گلیکوکونژوگیت‌ها بررسی شد. **مواد و روش‌ها** این مطالعه روی ۴۰ سرموش صحرایی نابالغ ۴۵-۳۰ روزه نژاد ویستار انجام شد. ابتدا موشها بطور تصادفی انتخاب و به دو گروه یک هفته‌ای و یک ماهه تقسیم شدند و هر کدام از گروه‌ها به سه زیر گروه کنترل، شاهد و تجربی تقسیم شدند. سپس هفته‌ای یکبار با تزریق کلرید پتاسیم SD ایجاد شد. پس از آن برای حصول اطمینان از وقوع SD با استفاده از دستگاه ثبات امواج مغز موش‌ها ثبـــت شد.گروه یک هفته‌ای پس از دو بار و گروه یک ماهه بعد از چهار بار القاء SD پرفیوژن گردیدند و مغز در آورده شد. سپس مراحل تهیه بافت و رنگ آمیزی‌های عمومی و مطالعات لکتین هیستوشیمی با لکتین های PNA، VVA، LTA، MPA در شکنج دندانه دار انجام شد. **یافته‌ها** نتایج حاصل از این مطالعات نشان داد لکتین‌های PNA، VVA و MPA در سه گروه کنترل، شاهد و تجربی به یک نسبت در برابر لکتین‌ها واکنش نشان دادند؛ اما لکتین PNA نسبت به دو لکتین PMA و VVA از شدت واکنش بیشتری در لایه پلی مورف شکنج دندانه دار برخوردار بود. لکتین LTA در گروه تجربی نسبت به گروه های کنترل و شاهد شدت واکنش بیشتری داشت. **نتیجه گیری** افزایش معنادار لکتین LTA پس از SD می تواند نشانگر نقش قندهای مونو ساکاریدی L-Fucose در تغییرات شکل پذیری سیناپسی پس از القای SD در شکنج دندانه دار باشد.

کلید واژه:
مهار منتشر شونده قشری، شکنج دندانه دار، لکتین.

• نویسنده مسئول:
مریم جعفریان
آدرس الکترونیکی: jafaryanm@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction Spreading depression (SD) is a pathophysiological phenomenon caused by repetitive depolarization of neurons and glial cells. There is a relationship between SD and some disorders, such as migraine with aura. Glycoconjugates play an important role in cell proliferation and differentiation. It has been shown that SD can stimulate the neurogenesis. In the present study, the effect of SD on expressing; and distribution of glycoconjugates was evaluated. **Materials & Methods** Forty rats (30-45 days) were divided into two groups: 1 week and 1 month; each group was contained three subgroups: control, sham and SD. Two and four SD was induced by KCL injection in 1 week and 1 month groups, respectively. Histochemical studies were performed by using five different horse radish peroxidase labeled lectins, including PNA, VVA, MPA and LTA in polymorph layer of hippocampal dentate gyrus. **Results** There were no differences in the expression of three lectins (PNA, VVA, and MPA) in all different groups. However, induction of SD significantly enhanced the expression of LTA compared with sham and control groups. **Conclusion** Higher intensity reaction of LTA indicates a possible role of L-focuses monosaccharide in changes of synaptic plasticity induced by SD.

Article info:
Received: 16 Oct. 2012
Accepted: 20 Dec. 2012

Key words:
Cortical Spreading Depression,
Dentate Gyrus,
Lectins.

*** Corresponding Author:***
Maryam Jafarian
E-mail: jafaryanm@yahoo.com

مقدمه

مهار منتشر شونده (SD; Spreading Depression) یک پدیده پاتو- فیزیولوژیک و قابل برگشت در سطح سلولهای مغز است، که سبب تحریک پذیری بیش از حد و بدنبال آن کاهش شدید فعالیت نورونها بطور گذرا می شود (۱). SD همراه با تغییرات یونی، متابولیک و همودینامیک است و می تواند متعاقب یک تحریک شیمیایی، مکانیکی و الکتریکی ایجاد می شود (۲). انتشار SD به آهستگی و با سرعتی حدود ۳-۲ میلی متر در دقیقه به مناطق مختلف ماده خاکستری صورت می گیرد (۳). این پدیده در بافتهای مختلفی مثل هیپوکامپ، مخچه، هسته دمدار، پیاز بویایی، تکتوم، تالاموس و جسم مخطط ایجاد می شود (۴). تحقیقات مختلفی که در این زمینه انجام شد نشان می دهد که SD در بیماریهای مهمی مثل میگرن با اورا، صرع، بیماریهای عروقی مغز، آسیب های مغزی و فراموشی های منتشر گذرا نقش دارد (۵ ،۱). ثابت شده است که این پدیده محدود و منحصر به سیستم عصبی است که هم نورونها و هم سلولهای گلیال را درگیر می کند و هم در موجودات با مغز دارای چین و شکنج و هم بدون چین و شکنج بوجود می آید (۷ ،۶ ،۲). رها شدن پتاسیم و هیدروژن به فضای خارج سلول و همزمان ورود یونهای سدیم، کلر و کلسیم بداخل سلول باعث تورم سلول و در عین حال کاهش حجم فضای خارج سلول می شود. این تغییرات سبب دپلاریزاسیون مکرر سلول می شود (۸).

گلیکوکونژوگیت‌ها یکی از مهمترین مولکول‌هایی هستند که در میان کنش‌های بین سلولی ایفای نقش می‌کنند و در سیتوپلاسم و در جدار سلول در امر شناسایی و نقل و انتقال مواد نقش ایفا می کنند. بخش کربوهیدراتی این مولکول‌ها به موازات روند تمایز و تکامل دچار تغییر می‌شوند. از طرفی مطالعات نشان داده است که پدیده SD سبب اختلالات شناختی نیز می‌شود. اما تاکنون مطالعاتی که نشانگر تغییرات گلیکوکونژوگیت‌ها در این پدیده باشد انجام نگردیده است. لکتین‌ها پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌های با منشاء گیاهی و یا جانوری هستند که به طور اختصاصی به قندهای انتهایی متصل می‌شوند. این مولکول‌ها تمایلات متفاوتی برای واکنش با کربوهیدرات‌های سطح سلول دارند و به نظر می‌رسد که ابزار مناسبی برای ارزیابی تغییرات مورفولوژیک قندهای سطح سلول در شرایط مختلف باشند (۹). هیپوکامپ نقش بسیار مهمی در فرایند یادگیری و حافظه، بخصوص تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت دارد و شکنج دندانه‌دار (Dentate gyrus) در انتقال اطلاعات از قشر انتورینال (Entorhinal cortex) به هیپوکامپ نقش اساسی ایفا می‌کند (۱۰). در این مطالعه اثر SD روی بروز و توزیع این قندهای انتهایی در سطح سلولی در لایه گرانولار شکنج دندانه‌دار با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه روی چهل سر موش صحرایی نژاد ویستار با سن ۴۵-۳۰ روزه نابالغ با وزن حدود ۱۰۰-۷۰ گرم انجام شد حیوانات همگی در شرایط یکسان از جهت تغذیه و محیط زندگی و در قفس های استاندارد و در دمای ۲۲-۲۱ درجه سانتی گراد و در سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند.

در ابتدا mg/kg ۱۵۰ کتامین به صورت داخل صفاقی به موش صحرایی تزریق شد. پس از بیهوشی سر حیوان در داخل دستگاه استریوتاکس قرار می گرفت تا بی حرکت مانده و امکان اعمال جراحی بر روی آن وجود داشته باشد. سپس ناحیه ی سر ضد عفونی شده و با تیغ بیستوری یک برش ساژیتال روی پوست سر ایجاد می گردید. بدنبال آن بافت های زیر جلدی کنار زده شده تا استخوان جمجمه در معرض دید قرار گیرد. سپس با استفاده از مته ی مخصوص، ۵ سوراخ تا سطح سخت شامه بدون زخمی کردن آن به ترتیب: دو سوراخ مقابل هم در استخوان پاریتال، دو سوراخ روبروی هم در لوب فرونتال و یک سوراخ بر روی استخوان بینی بعنوان مرجع ایجاد شد (با استفاده از بزرگنمایی لوپ مطمئن شدیم که به سطح سخت شامه رسیده ایم). سپس دو الکترود در داخل سوراخهای آهیانه و یکی در سوراخ بینی قرار داده شد، در داخل یکی ازسوراخ های فرونتال کانولی که از سر سرنگ های استیل ۲۳G ضد زنگ بطول یک سانتیمتر به طور دستی درست شده بود و در دیگری یک پیچ عینک با سایز کوچک (برای نگهداری سیمان) قرار داده می شد. سپس توسط سیمان دندانپزشکی ناحیه ی جراحی پر می گشت و برای حفاظت کانولا از آلودگی از سر سرنگ های دندانپزشکی استفاده می شد (۱۱). حیوانات حداقل ۷۲ ساعت دوره ی بهبودی بعد از عمل داشته اند، پس از ۷۲ ساعت دوباره با استفاده از پنتوباربیتال سدیم (60 mg/kg) بیهوش شده و سپس محلول کلرید پتاسیم ۳ مولار به میزان ۱۵-۱۰ میکرولیتر به ازای هر موش صحرایی با استفاده از سرنگ هامیلتون به آهستگی در مدت ۱ دقیقه تزریق می شد، سپس با استفاده از دستگاه ثبات و نرم افزار LTP به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه از هر موش صحرایی ثبت به عمل می آمد تا از وقوع SD مطمئن شویم.

پس از آن با استفاده از نرم افزار LTP، امواج آنالیز شدند (۱۲). عمل القایSD هفته ای یکبار بطور مرتب انجام می شد، در طول چهار هفته نگهداری موشها پس از عمل جراحی، برای حفاظت از الکترودها و کانول ها، با استفاده از جدا کننده های مخصوص همه‌ی رت‌ها بصورت جداگانه در جعبه های مخصوص نگهـــداری می شدند و از نظر آب و غذا و وضعیت سلامت کنترل می شدند. پس از اتمام دوره مغز موشها پس از پرفیوژن درآورده شد و درمحلول فیکساتیو قرار داده شد. پس از ان مراحل تهیه و آماده سازی بافت انجام شد. برشها بصورت سریال با ضخامت ۵ میکرون انجام شد.

مطالعات لکتین هیستو شیمی

این مطالعه با استفاده از لکتینهای PNA, VVA, MPA و LTA تهیه شده از شرکت سیگما انجام شد (جدول ۱). ابتدا نمونه ها با روش معمول آبدهی شدند و سپس نمونه های بافتی به مدت نیم ساعت در محلول بافر فسفات سالین (PBS) تازه قرار داده شدند.

برای رنگ آمیزی ابتدا هر یک از لکتین های مورد نظر به مقدار ده میکروگرم ماده مؤثر (Lectin-HRP Conjugate) در یک میلی لیتر (PBS) رقیق شدند. پس از خارج کردن نمونه ها از محلول PBS، برشهای مربوط به هر مرحله برای استفاده از چهار لکتین یاد شده به سه دسته تقسیم گردید. آنگاه بر روی هر سری از برشها چند قطره از لکتین رقیق شده مورد نظر چکانده و به مدت دو ساعت در درجه حرارت اتاق قرار گرفتند. سپس مقاطع در PBS به مدت ۳ دقیقه شستشو داده شده و در مرحله بعد، نمونه ها به مدت ده دقیقه در محلول سه درصدی دی آمینوبنزیدین (DAB Diaminobenzidine) به میزان ۰/۰۳ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر PBS و محلول آب اکسیژنه (200µl) در ۱۰۰ میلی لیتر قرار داده شدند. در مرحله آخر مقاطع مورد نظر به روش معمول در درجات صعودی الکل آبگیری شده و با گزیلول شفاف گردید. برای رنگ زمینه نیز از آلسین بلو استفاده گردید. در هر گروه حداقل سه نمونه با لکتین رنگ آمیزی شدند و یک برش به عنوان شاهد در معرض HRP و DAB و آب اکسیژنه بدون استفاده از لکتین قرار گرفت. با توجه به اینکه اتصال لکتین/HRP با قند انتهایی در مجاورت DAB و آب اکسیژنه به علت وجود HRP رنگ قهوه ای ظاهر می شود، لامهای آماده شده با میکروسکوپ نوری معمولی مورد بررسی قرار گرفتند و از واکنشهای ایجاد شده توسط میکروسکوپ دوربین دار OLYMPUS BX51 با بزرگنمایی ۱۰ و ۱۰۰ عکسبرداری شد و سپس شدت رنگ پذیری نسبت به هر لکتین بصورت کیفی (عدم واکنش ۰، واکنش ضعیف +، واکنش متوسط ++ و واکنش شدید+++) درجه بندی شد (۱۳).

یافته ها

برش‌های میکروسکوپی مربوط به گروه‌های مختلف در این مطالعه نشان داد که شدت واکنش با لکتین‌های PNA، MPA، VVA در همه گروه های مورد مطالعه (کنترل، شاهد و تجربی) چه در گروه یک هفته ای و چه درگروه یک ماهه تفاوت چندانی با یکدیگر نداشته است و همه گروهها به نسبت تقریبا ثابت به لکتین ها پاسخ دادند (جدول ۲).

اما میزان پاسخ به لکتین PNA نسبت به دو لکتین دیگر از شدت واکنش بیشتری برخوردار بود (تصویر ۱). در مطالعه با این نوع لکتین (PNA) واکنش بیشتری در لایه ی پلی مورف شکنج دندانه دار نسبت به سایر نواحی دیده شد (تصویر ۳ ،۲ ، ۱).

شدت واکنش در لکتین LTA در لایه گرانولار گروه SD (+++) نسبت به گروههای شاهد و کنترل (+) بصورت معنا داری افزایش یافته بود (تصویر ۵ ،۴).

جدول ۱. لکتین های مورد استفاده در این تحقیق

کربوهیدرات های اختصاصی	علامت اختصاری	منشا لکتین
D- Gal - (β_1-3) - D - Gal NAC	PNA	Arachishypogaea agglutinin
α - D - Gal	MPA	Maclurapamifera agglutinin
L - fuc (α_1 - 3) GLC NAC	LTA	Lotus tetragonolobus agglutinin
L - fuc (α_1 - 2) Gal (β_1 - 4) GLC	UEA-1	Ulexeuropaeus agglutinin

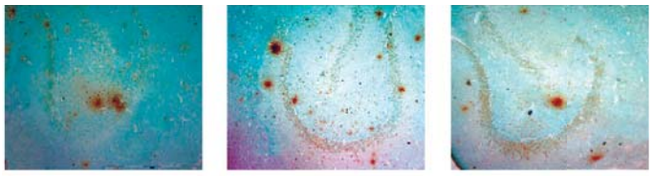
شفای خاتم

جدول ۲. نتایج حاصله از واکنش به لکتین ها

	کنترل	شاهد	SD
VVA	++	+	++
MPA	+	+	+
NPA	+++	+++	+++
LTA	+	+	+++

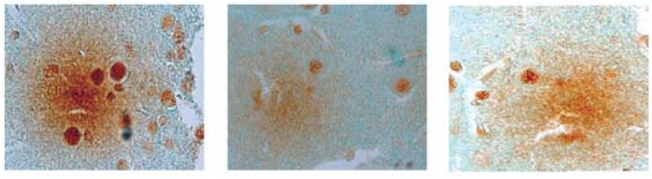
شفای خاتم

Control Sham SD



تصویر ۱. نمونه ای از واکنش نورون‌ها با لکتین PNA در شکنج دندانه‌دار (بزرگنمایی ×۱۰) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (++++)

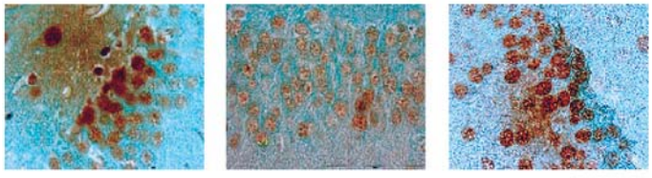
Control Sham SD



PNA

تصویر ۲. نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین PNA در لایه ی پلی مورف (بزرگنمایی×۱۰۰) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (++++)

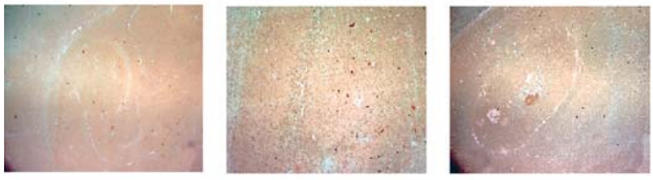
Control Sham SD



PNA

تصویر ۳. نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین PNA در لایه گرانولار شکنج دندانه دار (بزرگنمایی ×۱۰۰) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (+++)

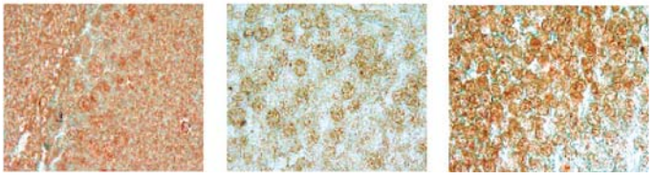
Control Sham SD



LTA

تصویر ۴. نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین LTA در شکنج دندانه دار گروه کنترل (بزرگنمایی ×۱۰) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (+)

Control Sham SD



LTA

تصویر ۵. نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین LTA در لایه ی گرانولار شکنج دندانه دار (بزرگنمایی ×۱۰۰) گروه کنترل (+) شاهد (+) و SD (+++)

شفای خاتم

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه بروز و یا تغییرات گلیکوکونژوگیتها بر اساس شدت واکنش HRP با DAB و ایجاد رنگ قهوه ای در طی روند وقوع SD با میکروسکوپ نوری در منطقه شکنج دندانه دار، مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس شدت واکنش در منطقه مورد مطالعه اطلاعات ثبت و تفسیر شد. نتایج مطالعه با لکتینهای MPA، VVA و PNA نشان داد که شدت واکنش ها در همه منطقه مورد مطالعه در گروههای کنترل، شاهد و تجربی تفاوت چندانی چه در گروه یک هفته ای و چه در گروه یک ماهه نداشته است. اما شدت واکنش با PNA در همه گروهها (کنترل، شاهد و تجربی) نسبت به VVA و MPA در لایه پلی مورف شکنج دندانه دار شدیدتر بوده است.گلیکوکونژوگیت ها چه در سطح سلولها و مایع خارج سلولی و چه در سیتوپلاسم سلولها نقش بسیار مهمی در میان کنشهای سلولی در دوران تکامل و پس از آن دارند. لکتین PNA (اختصاصی قند دی ساکاریدی) با قند انتهایی باند می شود. Brunngraber و همکارانش (۱۹۷۵) نشان دادند که میزان شدت واکنش این لکـتین با ایـن دی سـاکارید در ماده سفید حدوداً سه برابر بیشتر از واکنش آن در ماده خاکستری است (۱۴). لذا واکنش شدید PNA در لایه پلی مورف شکنج دندانه دار نشان دهنده شدت واکنش با رشته های عصبی در این منطقه می باشد. نظر به اینکه در لایه پلی مورف شکنج دندانه دار، تعداد سلولها نسبت به زوائد سلولی (آکسون ها و دندریت ها) کمتر است، شدت واکنش مشاهده شده نشان دهنده ی ارتباطات عصبی بسیار وسیع در این منطقه بوده که در ارتباط با اطلاعات مربوط به حافظه جدید و انتقال آن به هیپوکامپ می باشد (چرا که آکسون نورون های گرانولار در این منطقه با دندریت های نورون های پیرامیدال نواحی CA1 و CA3 سیناپس می کنند). شدت واکنش با این زوائد عصبی شاید نمایانگر نقش این دی ساکارید در امر تسهیل و یا نوعی رابطه با انتقال امواج عصبی در سطح غشاء می باشد. وجود اکسونها و دندریتهای فراوان در این ناحیه، واکنش بیشتر PNA را توجیه می کند.

تنها لکتین LTA در منطقه شکنج دندانه دار در گروه SD نسبت به گروههای کنترل و شاهد بطور معنی داری بیشتر بوده است، که خود بیانگر نقش قند ما قبل آخر و نوع اتصال آن با قند انتهایی فوکوز در واکنش با LTA می باشد (۱۵).

لکتین LTA بطور اختصاصی به قند L - fuc ($\alpha_1 - 3$) GLC NAC متصل می‌شود. مطالعات نشان داده است که قند فوکوز قندی است که در پدیده مورفوژنز فعال است (۱۶). برخی مطالعات نشان می‌دهند که افزایش L-Fucose به شکل مشهودی سبب افزایش فعالیت دستگاه گلژی در فرایند پس از ترجمه (Post-translation) در پروتئین سازی در هیپوکامپ می‌شود. فوکوز در دستگاه گلژی به پروتئین ساخته شده متصل می شود و در نهایت باعث افزایش گلیکو پروتئینها با اتصال قند انتهایی فوکوز در این ناحیه می گردد (۱۸، ۱۷). همچنین مطالعات نشان داده است که اکسون نورونها در منطقه هیپوکامپ حاوی (FTG) است که خود دارای قند L-Fucose می باشد و در انتقال سریع مواد از جسم سلول به سمت اکسون نقش اساسی ایفا می کند و در نتیجه موجب فعالیت زیاد نورون های منطقه می شود.

تقویت سیناپسی طولانی مدت (Long Term Potentiation; LTP) به عنوان افزایش نسبتا طولانی مدت پاسخ پس سیناپسی به شاخه های آوران بدنبال تحریک تتانیک همان آورانهاست. معمولا این پدیده با بازه وسیعی از بسامدها و الگوهای تتانوس ایجاد می شود. LTP یک فرایند پیش سیناپسی است. افزایش پیک عصبی در هیپوکامپ سبب ایجاد این پدیده می شود. ورنسمن و همکاران (۲۰۰۶)، برگر و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده اند که پدیده SD می تواند سبب تقویت قدرت سیناپسی شود (۲۰، ۱۹)، لذا افزایش معنادار لکتین LTA (قند L-Fucose) در گروه SD می تواند نشان دهنده تاثیر این قند در انتقال اطلاعات از قشر به هیپوکامپ و ایجاد تقویت طولانی مدت در منطقه هیپوکامپ در اثر ایجاد SD باشد.

منابع

1. Gorji A. Spreading depression: a review of the clinical relevace. Brain Res. 2001; 38(1-2): 33-60.
2. Smith JM, Bradley DP, James MJ, Huang CL-H. Physiological studies of cortical spreading depression. Biol Rev Camb philos Soc. 2006; 81(4): 457-81.
3. Sachs M, Pape HC, Speckmann EJ, Gorji A. The effect of astrogen and progesterone on spreading depression in rat neocortical tissues. Neurology of disease. 2007; 25(1): 27-34.
4. Leao AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. Neurophysiol. 1944; 28(7): 359–90.
5. Leao AAP. Spreading depression. Funct. Neurol. 1986; 1: 363–366.
6. Bures J, Buresova O, Krivanek J. The mechanisms and applications of Lea˜o's spreading depression of electroencephalographic activity. New York, Academic Press. 1974.
7. Wiggins AK, Shen PJ, Gundlach AL. Neuronal-NOS adaptor protein expression after Spreading Depression: Implications for NO production and Ischemic tolerance. J Neurochem Int. 2003; 87(6): 1365-80.

8. Alberts B, Wilson J, Johnson A, lewis J, Raff M, Roberts K. Molecular Biology of the cell. 4th ed. Boston: Garland science; 2002.

9. Soderstrom KO, Malmi R, Karjalainen K. Binding of fluorescein isothiocyanate conjugated lectins to rat spermatogenic cells in tissue sections. Histochemistry. 1984; 80(6): 575-9.

10. Malcolm B. Core text of neuroanatomy. 4th ed. Virjinia: Williams & Wilkins; 1991.

11. Alaei H, Hosseinni M. Angiotensin converting enzyme inhibitor captopril modifies conditioned place preference induced by morphine and morphine withdrawal signs in rats. pathophysiology. 2007; 14(1): 55-61.

12. Costa-Cruz RR, Amancio-dos-Santos A, Guedes RC. Characterization of cortical spreading depression in adult well-nourished and malnourished rats submitted to the association of pilocarpine-induced epilepsy plus streptozotocin-induced hyperglycemia. Neurosci Lett. 2006; 401(3): 271-5.

13. Fazel AR, Sumida H, Schulte B, Thompson PR. Lectin histochemistry of the embryonic heart fucose-specific lectin binding sites in developing rats and chicks. Am J Anat. 1984; 184(1): 76-84.

14. Brunngraber EG, Brown BD, Aro A. Distribution and age-dependent concentration in brain tissue of glycoprotein's containing N-acetylgalactosamine. Neurobiology. 1975; 5(6): 339-46.

15. Bonvicini F, Badiali DE, Giorgi L, Bianchi D, Laschi R. Light and electron microscopy investigation of glycoconjuates of rat hippocampus by lectin –gold technique. Drugs Exp Clin Res. 1987; 13(3): 175-83.

16. Gerke M, Plenderleith MB. Analysis of the unmyelinated primary sensory neurone projection through the dorsalcolumns of the rat spinal cord using transganglionic transport of the plant lectin Bandeiraea simplicifolia I-isolectin B4. J Neurol Sci. 2004; 221(1-2): 69-77.

17. Dodd J, Jessell TM. Cell surface glycoconjugates and carbohydrate-binding proteins: possible recognition signals in in sensory neurone development. J Exp Biol. 1986; 124: 225-38.

18. Kochibe N, Furukawa K. Purification and properties of a novel fucose-specific hemagglutinin of Aleuria aurantia. Biochemistry. 1980; 19(13): 2841-46.

19. Bearger M, Speckmann EJ, Pape HC, Gorji A. Spreading depression enhances human neocortical excitabil ity in vitro. Cephalgia. 2008; 28(5): 558-562.

20. Wernsmann B. Pape HC. Speckmann HJ. Gorji A. Effect of cortical spreading depression on synaptic transmissionof rat hippocampal tissues. Euro Jorl Neurosci. 2006; 23(5): 1103-1110.