

## بررسی اثرات مهار منتشر شونده بر روی ظهور و توزیع گلیکوکونژوگیت‌ها

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

Maryam Jafarian<sup>1</sup>, Fariba Karimzadeh<sup>1</sup>, Sadegh Rahimi<sup>2</sup>,  
Seyed Mahmoud Hosseini<sup>3</sup>, Elham Mohammadzadeh<sup>4</sup>,  
Alireza Fazel<sup>1</sup>

مریم جعفریان<sup>۱</sup>، فریبا کریم زاده<sup>۱</sup>، صادق رحیمی<sup>۲</sup>،  
سید محمود حسینی<sup>۳</sup>، الهام محمدزاده<sup>۴</sup>، علیرضا فاضل<sup>۱</sup>

1. Department 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.

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.

## چکیده

اطلاعات مقاله

دریافت: ۲۵ مهر ۱۳۹۱

پذیرش: ۳۰ آذر ۱۳۹۱

**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 می‌تواند در شرایط خاصی باعث فعال شدن نورون‌ها شود، در این مطالعه تأثیر SD روی ظهور و توزیع گلیکوکونژوگیت‌ها بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه روی ۴۰ سرموش صحرایی نابالغ ۳۰-۴۵ 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 ثبت 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 لکتین‌های PNA، VVA، MPA، LTA در شکنج دنداندار 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 VVA و PMA از شدت واکنش بیشتری در لایه پلی مورف شکنج دنداندار برخوردار بود. لکتین LTA در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد شدت واکنش بیشتری داشت. **نتیجه‌گیری:** افزایش معنادار لکتین LTA پس از SD می‌تواند نشانگر نقش قندهای مونوساکاریدی L-Fucose در تغییرات شکل پذیری سیناپسی پس از القای SD در شکنج دنداندار باشد.

## کلید واژه:

مهار منتشر شونده قشری،  
شکنج دنداندار،  
لکتین.

## ABSTRACT

## Article info:

Received: 16 Oct. 2012

Accepted: 20 Dec. 2012

## Key words:

Cortical Spreading  
Depression,  
Dentate Gyrus,  
Lectins.

**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-fucose monosaccharide in changes of synaptic plasticity induced by SD.

## \* Corresponding Author:

Maryam Jafarian

E-mail: jafaryanm@yahoo.com

## \* نویسنده مسئول:

مریم جعفریان

jafaryanm@yahoo.com آدرس الکترونیکی:

## مقدمه

## 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 ۱۵۰ mg/kg 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 الکتروود در داخل سوراخهای آهیانه و یکی در سوراخ بینی قرار داده شد، در داخل یکی از سوراخ 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 پنتوباریتال 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 هاملتون 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 القای SD هفته ای یکبار بطور مرتب انجام می شد، در طول چهار هفته نگهداری موشها پس از عمل جراحی، برای حفاظت از الکتروودها و کانول ها، با استفاده از جدا کننده های مخصوص همه ی رت ها بصورت جداگانه در جعبه های مخصوص نگهداری 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 در محلول فیکساتیو قرار داده شد. پس از آن مراحل تهیه و آماده سازی بافت انجام شد. برشها بصورت سریال با ضخامت ۵ میکرون انجام شد.

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، ۱۰). 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 (۶، ۷، ۲۰). 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 دیپلاریزاسیون مکرر سلول می شود (۸).

گلیکوکونژوگیتها یکی از مهمترین مولکولهایی هستند که در میان کنش های بین سلولی ایفای نقش می کنند 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 می شوند. از طرفی مطالعات نشان داده است که پدیده SD سبب اختلالات شناختی نیز می شود. 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 می شوند. این مولکولها تمایلات متفاوتی برای واکنش با کربوهیدراتهای سطح سلول دارند و به نظر می رسد 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 دنداندار (Dentate gyrus) در انتقال اطلاعات از قشر انترورینال (Entorhinal cortex) به هیپوکامپ نقش اساسی ایفا می کند (۱۰). در این مطالعه اثر SD روی بروز و توزیع این قندهای انتهایی در سطح سلولی در لایه گرانولار شکنج دنداندار با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت.

## مطالعات لکتین هیستوشیمی

این مطالعه با استفاده از لکتینهای LTA و PNA, VVA, MPA 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 آمینوبنزیلین (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 آبیگری 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

برش های میکروسکوپی مربوط به گروه های مختلف در این مطالعه نشان داد که شدت واکنش با لکتین های PNA، MPA، VVA در همه گروه های مورد مطالعه (کنترل، شاهد و تجربی) چه در گروه یک هفته ای و چه در گروه یک ماهه تفاوت چندانی با یکدیگر نداشته است و همه گروهها به نسبت تقریباً 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 دنداندار 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 معناداری 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 <sub>1</sub> -3) - D - Gal NAC	PNA	Arachishypogaea agglutinin
α - D - Gal	MPA	Maclurapamifera agglutinin
L - fuc (α <sub>1</sub> - 3) GLC NAC	LTA	Lotus tetragonolobus agglutinin
L - fuc (α <sub>1</sub> - 2) Gal (β <sub>1</sub> - 4) GLC	UEA-1	Ulexeuropaeus agglutinin

شما

جدول ۲. نتایج حاصله از واکنش به لکتین ها

SD	شاهد	کنترل
++	+	++
+	+	+
+++	+++	+++
+++	+	+

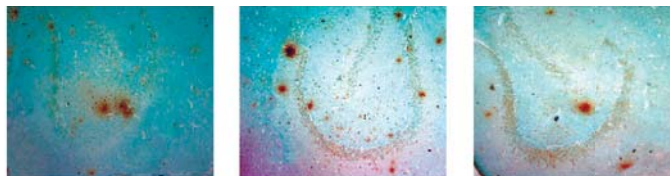
شما

# شفاخته

Control

Sham

SD

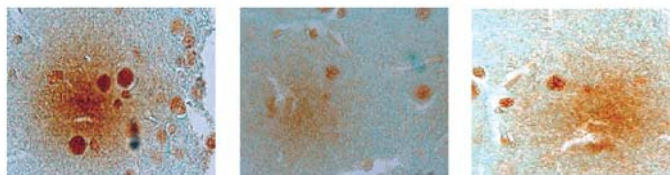


**تصویر ۱.** نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین PNA در شکنج دنداندار (بزرگنمایی ۱۰×) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (++++)

Control

Sham

SD



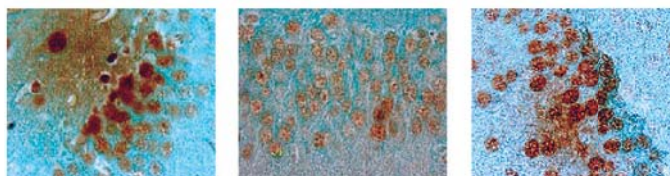
**تصویر ۲.** نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین PNA در لایه ی پلی مورف (بزرگنمایی ۱۰×) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (++++)

PNA

Control

Sham

SD



**تصویر ۳.** نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین PNA در لایه گرانولار شکنج دنداندار (بزرگنمایی ۱۰×) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (+++)

PNA

Control

Sham

SD



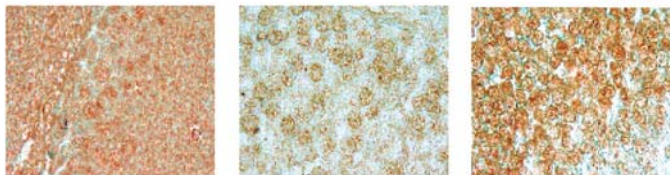
**تصویر ۴.** نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین LTA در شکنج دنداندار (بزرگنمایی ۱۰×) در سه گروه کنترل، شاهد و SD (+)

LTA

Control

Sham

SD



**تصویر ۵.** نمونه ای از واکنش نورون ها با لکتین LTA در لایه ی گرانولار شکنج دنداندار (بزرگنمایی ۱۰×) در سه گروه کنترل (+) شاهد و SD (+++)

LTA

شفاخته

## 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 دنداندار، مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس شدت واکنش در منطقه مورد مطالعه اطلاعات ثبت و تفسیر شد. نتایج مطالعه با لکتینهای VVA، MPA 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 دنداندار 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 لکتین با این دی ساکارید در ماده سفید حدوداً سه برابر بیشتر از واکنش آن در ماده خاکستری است (۱۴). لذا واکنش شدید PNA در لایه پلی مورف شکنج دنداندار نشان دهنده شدت واکنش با رشته های عصبی در این منطقه می باشد. نظر به اینکه در لایه پلی مورف شکنج دنداندار، 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 نوروں های گرانولار در این منطقه با دندریت های نوروں 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 آکسونها و دندریتهای فراوان در این ناحیه، واکنش بیشتر PNA را توجیه می کند.

تنها لکتین LTA در منطقه شکنج دنداندار 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  $\alpha_1 - 3$  GLC fuc (L - fuc) متصل می شود. مطالعات نشان داده است که قند فوکوز قندی است که در پدیده مورفوژنز فعال است (۱۶). برخی مطالعات نشان می دهند که افزایش L-Fucose به شکل مشهودی سبب افزایش فعالیت دستگاه گلژی در فرایند پس از ترجمه (Post-translation) در پروتئین سازی در هیپوکامپ می شود. 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 آکسون نوروںها در منطقه هیپوکامپ حاوی (FTG) است که خود دارای قند L-Fucose می باشد و در انتقال سریع مواد از جسم سلول به سمت آکسون نقش اساسی ایفا می کند و در نتیجه موجب فعالیت زیاد نوروں های منطقه می شود.

تقویت سیناپسی طولانی مدت (Long Term Potentiation; LTP) به عنوان افزایش نسبتاً طولانی مدت پاسخ پس سیناپسی به شاخه های آوران بدنبال تحریک تتانیک همان آورانه است. معمولاً 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 relevance. *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 Leao'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. Virginia: 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 glycoconjugates 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 dorsal columns 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 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. Bearer M, Speckmann EJ, Pape HC, Gorji A. Spreading depression enhances human neocortical excitability in vitro. *Cephalgia*. 2008; 28(5): 558-562.
20. Wernsmann B, Pape HC, Speckmann HJ, Gorji A. Effect of cortical spreading depression on synaptic transmission of rat hippocampal tissues. *Euro Jorl Neurosci*. 2006; 23(5): 1103-1110.