مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / تابستان ۱۳۸۹ / دوره ۱۲ / شماره ۲ (پی در پی ۳۴) / صفحات ۹تا ۱۳

تحقیقی

اثر دیازوکساید بر فراساختار کورتکس پاریتال موش صحرائی بعد از ایسکمی- ریپرفیوژن

دکتر مجید کاتبی[۱]، دکتر منصوره سلیمانی[۲]، رضا فراهانی پاد[۳]، محمدعلی عباسی مقدم[۳]، دکتر مهدی مهدی زاده*[۴]، دکتر هما رسولی[۲]

۱- استادیار گروه علوم تشریحی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان. ۲- استادیار گروه علوم تشریحی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی ایران.

۳- دانشجوی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران. ۴- استاد مرکز تحقیقات سلولی مولکولی ، گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *تاکنون درمان دارویی موثری برای جلوگیری از کاهش نورون‌ها بعد از صدمات مغزی مشخص نشده است. در این مطالعه اثر دیازوکساید به عنوان تعدیل کننده‌های کانال پتاسیم میتوکندریایی بر تغییرات فراساختاری نورون‌ها بعد از ایسکمی-ریپرفیوژن بررسی شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۸ گروه ۳تایی شامل گروه شم ، گروه حامل ، گروه‌های ۱ ، ۵ و ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید و گروه‌های ۲ ، ٦ و ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید گروه‌بندی شدند. حیوانات گروه‌های مداخله (دوم تا هشتم) ۲ ساعت بعد از تزریق تحت جراحی انسداد چهار رگ اصلی خون‌دهنده به مغز به مدت پانزده دقیقه قرار گرفتند. بعد از ۲٤ ساعت ریپرفیوژن، بررسی فراساختاری نورون‌ها شامل تغییرات هسته و میتوکندری توسط میکروسکوپ الکترونی انجام شد.*

یافته‌ها : *تغییرات مورفولوژیک فراساختاری پاتولوژیک شامل تورم میتوکندریایی و صدمه به کریستاها و هسته متراکم در نورون‌ها به‌دنبال ایسکمی رخ داد. در گروه‌هایی که گلی‌بنکلامید دریافت کرده بودند؛ تغییرات مورفولوژیک فراساختاری شدید بوده است. این تغییرات در حیواناتی که دوز بیشتری از گلی‌بنکلامید را دریافت کرده بودند؛ بیشتر مشاهده شد. در حیوانات آزمایشگاهی که دیازوکساید را به میزان ۸ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند؛ تغییرات موفورلوژیک فراساختاری پاتولوژیک هسته و میتوکندری کاهش واضحی داشت. کاهش عوارض ناشی از ایسکمی در گروه‌های دریافت کننده ۲ و ٦ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن دیازوکساید مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که دیازوکساید با دوز ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی دارای نقش حفاظتی در برابر تغییرات فراساختاری نورون‌ها شامل تخریب میتوکندری و تغییرات ظاهری آپوپتیک ناشی از ایسکمی می‌باشند.*

کلید واژه‌ها : *ایسکمی ریپرفیوژن ، فراساختار ، میتوکندری ، دیازوکساید ، گلی‌بنکلامید ، کورتکس ، مغز*

---

* *نویسنده مسؤول : دکتر مهدی مهدی‌زاده ، پست الکترونیکی : maranaoo@iums.ac.ir*

نشانی : تهران ، دانشگاه علوم پزشکی ایران ، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی ، گروه علوم تشریحی ، تلفن و نمابر : ۸۸۰۵۸۶۸۹ (۰۲۱)

وصول مقاله : ۸۸/۲/۱، اصلاح نهایی : ۸۸/۱۰/۹، پذیرش مقاله : ۸۸/۱۰/۱۳

مقدمه

شواهدی مبتنی بر موثر بودن درمان دارویی در بهبود نسبی ضایعات ناشی از صدمات مغزی وجود دارد (۱). DND میتوکندری حساسیت ویژه‌ای به صدمات ایسکمی-ریپرفیوژن دارد و میتوکندری با رهاسازی پروتئین‌های فعال‌کننده اپوپتوزیس، نقش کلیدی در فرایند مرگ سلولی ایفاء می‌کند و صدمات میتوکندریایی عاملی است که نقش اساسی در اپوپتوز و پاتوفیزیولوژی ایسکمی مغزی دارد (۵-۲). جلوگیری از ناتوانی عملکرد میتوکندری، میزان بقای سلول به دنبال بروز ایسکمی را افزایش می‌دهد. این پدیده‌ای است که در ischemic preconditioning مشاهده می‌شود و فرایندی است که در آن کانال‌های ATP وابسته به پتاسیم میتوکندری نقش دارند (۶).

جمعیت زیادی از کانال‌های پتاسیمی وابسته به ادنوزین تری فسفات که تنظیم‌کننده حجم ماتریکس میتوکندریایی و تولید ادنوزین تری فسفات هستند؛ در غشاء داخلی میتوکندری وجود دارد (۷و۸). کانال‌های پتاسیمی وابسته به میتوکندری حساسیتی انتخابی نسبت به بازکننده‌هایی مثل دیازوکساید دارد (۹).

عوامل دارویی کنترل کننده کانال‌های ATP وابسته به پتاسیم میتوکندری، می‌توانند از ناتوانی عملکرد میتوکندری به روشی مشابه فرایند ischemic preconditioning پیشگیری کنند (۱۳-۱۰).

دیازوکساید یک بازکننده اختصاصی کانال‌های ATP وابسته به پتاسیم میتوکندری، صدمات ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن را در بافت قلبی محدود می‌کند. (۱۰و۱۷-۱۴).

به تازگی تجویز بازکننده‌های کانال‌های ATP وابسته به پتاسیم میتوکندری به عنوان روشی برای حفظ عملکرد سلول‌های عضلانی قلب در وضعیت ایسکمی طولانی هنگام جراحی مورد توجه قرار گرفته است (۱۸). همچنین گزارش شده؛ دیازوکساید در یک مدل ضایعه نخاعی از صدمات ناشی از ایسکمی موقتی کاسته است (۱۹).

این مطالعه به منظور تعیین نقش حفاظتی دیازوکساید بر نورون‌ها در برابر تاثیرات ایسکمی ریپرفیوژن از لحاظ مورفولوژیک انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار با وزن ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرائی در شرایط استاندارد هوای مطلوب و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند و غذای استاندارد فشرده و آب معمولی مصرف کردند.

یک هفته قبل از جراحی موش‌های صحرائی به هشت گروه تقسیم شدند و قبل از جراحی گروهی از موش‌های صحرائی داروی گلی‌بنکلامید به عنوان داروی مسدودکننده کانال پتاسیمی و دیازوکساید به عنوان بازکننده کانال پتاسیمی دریافت کردند و درکل هشت گروه با جمعیت سه سر موش صحرائی در هر گروه، به شرح جدول یک مطالعه شدند:

جدول ۱ : گروه های مورد مطالعه

گروه‌ها	
اول	***شم - جراحی روی آنها بدون انسداد جریان خون انجام شد.***
دوم	***حامل - انسداد چهار رگ به طور موقت انجام شد و نرمال‌سالین را به روش داخل صفاقی دریافت کردند.***
سوم	***گروهی که ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید رابه صورت داخل صفاقی ۲ساعت قبل از جراحی دریافت کردند.***
چهارم	***گروهی که ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید رابه صورت داخل صفاقی ۲ساعت قبل از جراحی دریافت کردند.***
پنجم	***گروهی که ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید رابه صورت داخل صفاقی ۲ساعت قبل از جراحی دریافت کردند.***
ششم	***گروهی که ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید را به صورت داخل صفاقی ۲ساعت قبل از جراحی دریافت کردند.***
هفتم	***گروهی که ۶ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید را به صورت داخل صفاقی ۲ساعت قبل از جراحی دریافت کردند.***
هشتم	***گروهی که ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید را به صورت داخل صفاقی ۲ساعت قبل از جراحی دریافت کردند.***

کلیه نکات مربوط به دستورالعمل کار با حیوانات در این مطالعه رعایت شد. موش‌های صحرائی با ترکیب ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین و ۱۰میلی‌گرم/کیلوگرم زایلازین بیهوش شدند.

برای اندازه‌گیری دمای بدن در حین بیهوشی از دماسنج رکتال استفاده شد و با استفاده از نور مادون قرمز دما در حد ۰/۵±۳۷ درجه سانتی‌گراد حفظ شد.

روش جراحی

ابتدا در حدود یک سانتی‌متر در امتداد خط میانی خلف سر برشی ایجاد شد و سپس عضلات پاراورتبرال کنار زده شد و شریان‌های ورتبرال با الکتروکوتر ۰/۵ میلی‌متر کوتر شد.

سپس برش را بخیه زده و با برش یک سانتی‌متری دیگری در ناحیه قدامی گردن شریان‌های کاروتید مشترک را به مدت ۱۵دقیقه با کلیپس بسته و پس از آن ریپرفیوژن برقرار شد.

بافت مغز بعد از ۲۴ ساعت با محلول نرمال‌سالین و سپس محلول کارنوفسکی (محلول ۲/۵ درصد گلوتارادئید و محلول ۴درصد پارافرمالدئید) پرفیوژن انجام شد و سپس مغز خارج و کورتکس پاریتال در همان فیکساتیو مورد استفاده برای پرفیوژن قرار داده شد.

مطالعه میکروسکوپ الکترونی

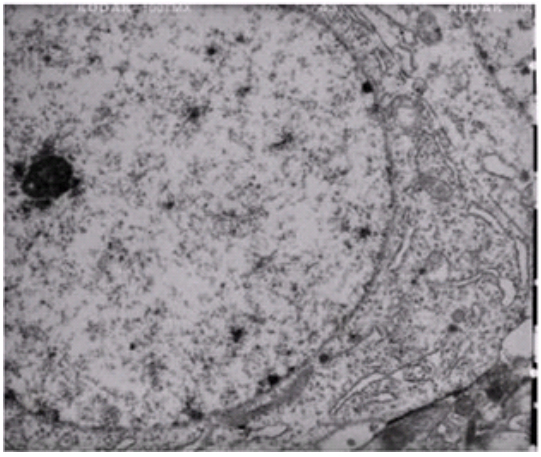
بعد از فیکساسیون، هر نمونه از بافت در تتروکسید اسمیوم یک درصد قرار گرفت. سپس نمونه در محلول استون با غلظت صعودی آبگیری و در رزین قالبگیری گردید. سپس با سیترات سرب ۲۵ درصد و اورانیل استات ۵ درصد در متانول ۵۰ درصد رنگ‌آمیزی شد و با میکروسکوپ الکترونی در محل دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مطالعه گردید.

یافته‌ها

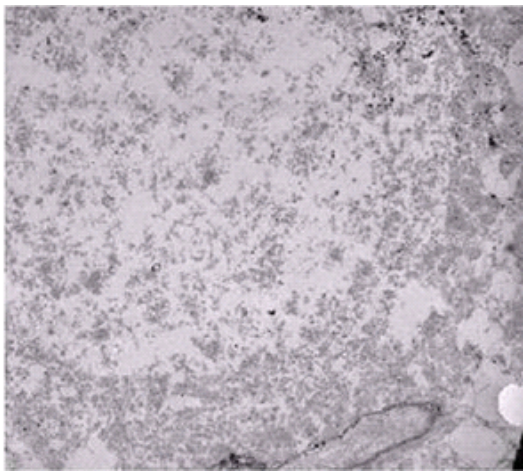
نورون‌های گروه شم کنترل دارای سیتوپلاسم و هسته‌های با مورفولوژی طبیعی بودند. در میتوکندری‌های این نورون‌ها نیز صدمه‌ای دیده نشد.

مطالعه میکروسکوپ الکترونی در گروه بدون درمان شواهدی دال بر وجود سلول‌های اپوپتوتیک با غشاء نامنظم هسته، فشردگی کروماتین و قطعه قطعه شدن هسته، اجسام اپوپتوتیک و تغییرات میتوکندریایی بود. پس از ۱۵ دقیقه ایسکمی و ۲۴ ساعت ریپرفیوژن، هسته تعدادی از نورون‌ها متراکم و چروکیده و کنار غشاء هسته متمرکز شده بود. سیتوپلاسم دچار تورم بود و علاوه بر آن صدمه واضح میتوکندریایی به شکل تورم، تخریب کریستاها و تورم فضاهای میان کریستاها دیده شد.

در موش‌های صحرائی که ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید دریافت کردند؛ فضای پری‌نوکلئار وسیع شده و ادم شدید در سیتوپلاسم مشاهده شد. یکپارچگی غشاء هسته از دست رفته و محتویات هسته وارد سیتوپلاسم شده بود و میتوکندری‌ها در مراحل مختلف تخریب با کریستاهای غیرقابل تشخیص دیده شدند (شکل ۱ ب).



(الف)



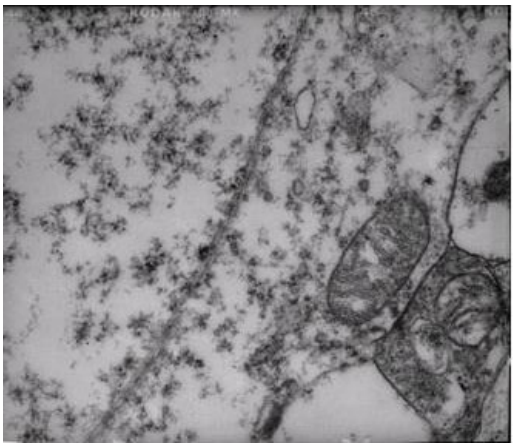
(ب)

شکل ۱ : از بین رفتن یکپارچگی غشاء هسته به علاوه ادم شدید سیتوپلاسمی همراه با پراکندگی ارگانل‌های سیتوپلاسمی در نورون‌های کورتیکال موش صحرائی پس از ۲۴ ساعت ایسکمی-ریپرفیوژن و تجویز ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید (شکل ب) در مقایسه با ساختار سیتوپلاسمی نورون‌های کورتیکال پس از ۲۴ ساعت ایسکمی-ریپرفیوژن و تجویز ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید (شکل الف). بزرگ‌نمایی ۵۰۰۰ برابر

دوزهای متفاوت دیازوکساید و گلی‌بنکلامید به ترتیب باعث جلوگیری از صدمات و افزایش‌دهنده صدمات ناشی از ایسکمی-ریپرفیوژن بودند.

در نمونه‌هایی که ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید تجویز شده بود؛ ساختمان نورون نسبت به گروه ایسکمی طبیعی‌تر بود و میتوکندری مورفولوژی بهتری در مقایسه با گروه گلی‌بنکلامید داشت (شکل‌های ۱ الف و ۲ الف)؛ ولی در گروه‌هایی که ۲ و ۶ میلی‌گرم دیازوکساید را دریافت کرده بودند؛ تغییرات واضحی در جهت بهبودی مشاهده نشد. در حالی که در نمونه‌های دریافت کننده

۲۵میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید؛ ساختار کریستاهای میتوکندری بهم ریخته و ساختمان‌های لوله‌ای وزیکولی جایگزین شده بود (شکل۲ب).



(الف)

(ب)

شکل ۲ : تخریب کریستاهای میتوکندری و وجود ساختارهای لوله‌ای وزیکولی در نورون‌های کورتیکال موش صحرائی پس از ۲۴ ساعت ایسکمی-ریپرفیوژن و تجویز ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم گلی‌بنکلامید (شکل ب) در مقایسه با ساختار حفظ شده میتوکندری در نورون‌های کورتیکال پس از ۲۴ ساعت ایسکمی-ریپرفیوژن و تجویز ۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم دیازوکساید (شکل الف). بزرگ‌نمایی ۵۰۰۰ برابر

بحث

یافته اصلی این تحقیق توصیف نقش نوروپروتکتیو دیازوکساید و تاثیر آنتاگونیستی گلیبن‌کلامید است. کانال‌های پتاسیمی نقش اساسی در بقای نورون‌ها در شرایط ایسکمی بازی می‌کنند. مطالعه‌ای نشان داد که دیازوکساید در بچه خوک‌های تازه متولد شده بعد از ایسکمی گلوبال گذرا روند بهبودی را تسریع کرده است (۲۰).

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از تعدیل کننده‌های کانال‌های پتاسیمی بعد از ایسکمی-ریپرفیوژن میزان صدمات ساختمانی نورون‌ها را تغییر می‌دهد. در بافت عصبی مورد مطالعه، بعد از ۱۵ دقیقه ایسکمی و ۲ ساعت ریپرفیوژن، ادم سیتوپلاسمی شدید با بهم‌ریختگی ارگانل‌ها و نامشخص بودن کریستاهای میتوکندری دیده شد و این یافته مشابه نتایج به دست آمده از مطالعه Solenski بود (۲۱).

تجویز دیازوکساید منجر به کاهش صدمات میتوکندریایی شد که مشابه یافته‌های مطالعه‌ای بر روی نورون‌های طناب نخاعی پس از ایسکمی-ریپرفیوژن در محیط آزمایشگاهی می‌باشد (۲۲). نتایج به دست آمده در راستای نتایج مطالعه‌ای است که کاهش حجم ناحیه سکته مغزی پس از تجویز دیازوکساید را گزارش کرده است (۲۳).

فرضیات متعددی برای توصیف یافته‌های فوق ارائه شده است. براساس مطالعه Wu تاثیرات نوروپروتکتیو به دست آمده می‌تواند؛ ناشی از تغییر میزان یون کلسیم میتوکندریایی از طریق مهار بازشدن منافذ میتوکندری باشد (۲۴). در میان سایر مکانیسم‌های احتمالی می‌توان؛ به کاهش رهاسازی گلوتامیت (۲۵)، تغییر در نفوذپذیری سدخونی مغزی (۲۶) و تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (۲۷) اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که دیازوکساید اثر مستقیم نوروپروتکتیو در ضایعات بعد از ایسکمی دارد.

به منظور ایجاد زمینه استفاده کلینیکی از دیازوکساید به عنوان دارو در درمان ضایعات عصبی بعد از سکته مغزی در انسان، ادامه تحقیقات برای آگاهی از مکانیسم اثر دیازوکساید پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات پزشکی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران به خاطر تأمین هزینه‌های طرح (شماره مصوب ۲۷۰م ت) سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از خانم‌ها پروانه طباطبایی و معصومه بخشایش کارشناسان مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران به خاطر همکاری صمیمانه در اجرای این مطالعه قدردانی می‌گردد.

References

1. Goldstein LB. Basic and clinical studies of pharmacologic effects on recovery from brain injury. J Neural Transplant Plast. 1993 Jul-Sep;4(3):175-192.

2. Mattson MP, Culmsee C, Yu ZF. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms in stroke. Cell Tissue Res. 2000 Jul;301(1):173-187.

3. Nicholls DG, Budd SL. Mitochondria and neuronal survival. Physiol Rev. 2000 Jan;80(1):315-360.

4. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. Cardiovasc Res. 2000 Feb;45(3):528-537.

5. Kaufmann SH, Hengartner MO. Programmed cell death: alive and well in the new millennium. Trends Cell Biol. 2001 Dec;11(12):526-534.

6. Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. Circ Res. 1992 Feb;70(2):223-233.

7. Holmuhamedov EL, Jovanović S, Dzeja PP, Jovanović A, Terzic A. Mitochondrial ATP-sensitive K+ channels modulate cardiac mitochondrial function. Am J Physiol. 1998 Nov; 275(5 Pt 2):H1567-1576.

8. Szewczyk A, Czyz A, Wojcik G, Wojtczak L, Nalecz MJ. ATP-regulated K+ channel in mitochondria: pharmacology and function. J Bioenerg Biomembr. 1996 Apr;28(2):147-152.

9. Domoki F, Perciaccante JV, Veltkamp R, Bari F, Busija DW. Mitochondrial potassium channel opener diazoxide preserves neuronal-vascular function after cerebral ischemia in newborn pigs. Stroke. 1999 Dec;30(12):2713-2718.

10. Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, et al. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K+ channels. Possible mechanism of cardioprotection. Circ Res. 1997 Dec;81(6):1072-1082.

11. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection? Circulation. 1998 Jun 23;97(24):2463-2469.

12. Liu Y, Sato T, Seharaseyon J, Szewczyk A, O'Rourke B, Marbán E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels. Viable candidate effectors of ischemic preconditioning. Ann N Y Acad Sci. 1999 Jun 30;874:27-37.

13. Sato T, Marbán E. The role of mitochondrial K(ATP) channels in cardioprotection. Basic Res Cardiol. 2000 Aug;95(4):285-289.

14. Ichinose M, Yonemochi H, Sato T, Saikawa T. Diazoxide triggers cardioprotection against apoptosis induced by oxidative stress. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003 Jun;284(6):H2235-2241.

15. Liu D, Lu C, Wan R, Auyeung WW, Mattson MP. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels protects neurons against ischemia-induced death by a mechanism involving suppression of Bax translocation and cytochrome c release. J Cereb Blood Flow Metab. 2002 Apr;22(4):431-443.

16. Takashi E, Wang Y, Ashraf M. Activation of mitochondrial K(ATP) channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway. Circ Res. 1999 Dec 3-17;85(12):1146-1153.

17. Teshima Y, Akao M, Li RA, Chong TH, Baumgartner WA, Johnston MV, et al. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channel activation protects cerebellar granule neurons from apoptosis induced by oxidative stress. Stroke. 2003 Jul;34(7):1796-1802.

18. Kevelaitis E, Oubénaïssa A, Peynet J, Mouas C, Menasché P. Preconditioning by mitochondrial ATP-sensitive potassium channel openers: An effective approach for improving the preservation of heart transplants. Circulation. 1999 Nov 9;100(19 Suppl):II345-350.

19. Caparrelli DJ, Cattaneo SM 2nd, Bethea BT, Shake JG, Eberhart C, Blue ME, et al. Pharmacological preconditioning ameliorates neurological injury in a model of spinal cord ischemia. Ann Thorac Surg. 2002 Sep;74(3):838-844.

20. Domoki F, Perciaccante JV, Veltkamp R, Bari F, Busija DW. Mitochondrial potassium channel opener diazoxide preserves neuronal-vascular function after cerebral ischemia in newborn pigs. Stroke. 1999 Dec;30(12):2713-2718.

21. Solenski NJ, diPierro CG, Trimmer PA, Kwan AL, Helm GA. Ultrastructural changes of neuronal mitochondria after transient and permanent cerebral ischemia. Stroke. 2002 Mar;33(3):816-824.

22. Roseborough G, Gao D, Chen L, Trush MA, Zhou S, Williams GM, Wei C. The mitochondrial K-ATP channel opener, diazoxide, prevents ischemia-reperfusion injury in the rabbit spinal cord. Am J Pathol. 2006 May;168(5):1443-1451.

23. Shimizu K, Lacza Z, Rajapakse N, Horiguchi T, Snipes J, Busija DW. MitoK(ATP) opener, diazoxide, reduces neuronal damage after middle cerebral artery occlusion in the rat. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002 Sep;283(3):H1005-1011.

24. Wu L, Shen F, Lin L, Zhang X, Bruce IC, Xia Q. The neuroprotection conferred by activating the mitochondrial ATP-sensitive K+ channel is mediated by inhibiting the mitochondrial permeability transition pore. Neurosci Lett. 2006 Jul 10; 402(1-2):184-189.

25. Ben-Ari Y, Krnjević K, Crépel V. Activators of ATP-sensitive K+ channels reduce anoxic depolarization in CA3 hippocampal neurons. Neuroscience. 1990;37(1):55-60.

26. Lenzsér G, Kis B, Bari F, Busija DW. Diazoxide preconditioning attenuates global cerebral ischemia-induced blood-brain barrier permeability. Brain Res. 2005 Jul 27;1051(1-2):72-80.

27. Liang HW, Xia Q, Bruce IC. Reactive oxygen species mediate the neuroprotection conferred by a mitochondrial ATP-sensitive potassium channel opener during ischemia in the rat hippocampal slice. Brain Res. 2005 May 3;1042(2):169-175.