

Protective Effects of Angiotensin II AT1 Receptors Blockade against Brain Injury in Experimental Model of Stroke in Rat

Panahpour H^{*1}, Nekooeian AA², Dehghani GA³

¹Department of Physiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

²Department of Pharmacology, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

³Department of Physiology, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

*Corresponding Author: Tel/Fax: +98451-5510057 E-mail: h.Panahpour @arums.ac.ir

Received: 13 Jan 2014 Accepted: 19 May 2014

ABSTRACT

Background & objectives: Ischemic stroke remains the third leading cause of invalidism and death in industrialized countries. It is suggested that renin–angiotensin system (RAS) may contribute in stroke related pathogenic mechanisms and involve in the ischemic brain damage. This study designed to investigate the role of angiotensin II (Ang II) in conjunction with AT₁ receptors in treatment of the brain injuries following transient focal cerebral ischemia in rats.

Methods: Forty eight male Sprague-Dawley rats were studied in four groups. Sham group, ischemic control group and two ischemic groups that received candesartan (0.1mg/kg, or 0.5mg/kg) at the beginning of reperfusion period. Transient focal cerebral ischemia was induced by 60 minutes occlusion of the middle cerebral artery, followed by 24 hours reperfusion. At the end of the reperfusion period, neurological deficit score (NDS) was performed. Total cortical and striatal infarct volumes were determined using triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining technique.

Results: Animals in sham operated group had normal motor function and no ischemic lesions were observed in cortical or striatal regions. Occurring ischemia in ischemic control group that received vehicle produced considerable infarction in cortex ($253\pm15\text{mm}^3$) and striatum ($92\pm7\text{mm}^3$), as well as these animals had sever impaired motor dysfunctions. Blocking of AT1 receptors with candesartan (0.1mg/kg or 0.5mg/kg) improved neurological outcome and significantly lowered cortical and striatal infarct volumes relative to ischemic control group.

Conclusion: The findings of the present study indicated that stimulation of AT1 receptors by Ang II involved in ischemia/reperfusion injuries and blocking of AT1 receptors can decrease ischemic brain injury and improve neurological outcome.

Keywords: Stroke, AT1 Receptor, Candesartan, Rat

بررسی اثرات درمانی مهار گیرنده های نوع یک آنژیوتانسین دو در کاهش ضایعه مغزی در مدل آزمایشگاهی سکته مغزی در موش صحرایی

حمداله پناهپور^{*}، علی اکبر تکوئیان^۱، غلامعباس دهقان^۲

^۱ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

^۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

*نویسنده مسئول: تلفاکس: ۰۵۱۰۰-۵۵۱۰۰۷؛ h.Panahpour @arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: سکته مغزی سومین عامل مرگ و معلولیت در جوامع صنعتی است. پیشنهاد شده است که سیستم رنین-آنژیوتانسین ممکن است در مکانیسمهای پاتولوژیک سکته مغزی نقش داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات درمانی مهار گیرنده های AT1 آنژیوتانسین دو بر ضایعه ایسکمیک مغزی می باشد. این مطالعه با استفاده از مدل آزمایشگاهی ایسکمی موضعی مغز در موش صحرایی با فشار خون طبیعی انجام شده است.

روش کار: در این تحقیق تعداد ۴۸ عدد موش صحرایی نر از نژاد Sprague - Dawley در چهار گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه شاهد، گروه کنترل ایسکمیک و دو گروه ایسکمیک که داروی کندسارتان را (با دوزهای ۱/۰ میلی گرم بر کیلو گرم یا ۵/۰ میلی گرم بر کیلو گرم) در آغاز مرحله برقراری مجدد جریان خون پس از وقوع ایسکمی دریافت کردند. ایسکمی موضعی با استفاده از تکنیک انسداد شریان میانی مغز توسط فیلامان مخصوص در نیمکره راست مغز حیوانات به مدت یک ساعت ایجاد شد. در این حیوانات ۲۴ ساعت پس از پایان ایسکمی اختلالات حرکتی با استفاده از آزمون نورولوژیک ویژه ای ارزیابی شد و حجم ضایعه مغزی ایجاد شده با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی با تری فنیل تترازولیوم کلراید تعیین شد.

یافته ها: حیوانات گروه شاهد عملکرد حرکتی طبیعی داشتند (نمود آزمون نورولوژیک ۱) و آسیب ایسکمیک در نواحی قشری و زیر قشری مغز آنها مشاهده نشد. وقوع ایسکمی در گروه کنترل سبب ایجاد حجم ضایعه مغزی در قابل ملاحظه ای در قشر مغز (253 ± 15 میلیمتر مکعب) و نواحی زیر قشری (92 ± 7 میلیمتر مکعب) شد و حیوانات این گروه اختلالات حرکتی شدیدی داشتند. مهار گیرنده های AT1 آنژیوتانسین دو با داروی کندسارتان (با دوزهای ۱/۰ میلی گرم بر کیلو گرم یا ۵/۰ میلی گرم بر کیلو گرم) اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی را کاهش داد و حجم ضایعه مغزی را در نواحی قشری و زیر قشری مغز بطور معنی داری کاهش داد.

نتیجه گیری: یافته های این مطالعه نشان می دهد که آنژیوتانسین دو از طریق تحریک گیرنده های AT1 در ایجاد ضایعه ایسکمیک مغزی نقش دارد. و مهار این گیرنده ها می تواند حجم ضایعه ایسکمیک مغزی را کاهش داده و اختلالات حرکتی ناشی از سکته مغزی را بهبود ببخشد.

کلمات کلیدی: سکته مغزی، گیرنده های AT1، کندسارتان، موش صحرایی

دریافت: ۹۲/۱۰/۲۳ پذیرش: ۹۳/۲/۲۹

شناسایی بهتر پاتوفیزیولوژی این بیماری و معرفی روشهای درمانی جدید صورت می گیرد. سیستم رنین - آنژیوتانسین در بدن انسان نقش مهمی در کنترل فشار خون و هموستاز آب و نمک دارد. این سیستم علاوه بر عملکردهای فیزیولوژیک متعددی

مقدمه

سکته مغزی سومین عامل مرگ و معلولیت در جوامع صنعتی است [۱] و تاکنون درمان موثری برای آن پیدا نشده است. امروزه مطالعات وسیعی با استفاده از مدل های حیوانی سکته مغزی با هدف

انجام آزمایشات استفاده شد. آزمایشات بر اساس رعایت اصول اخلاقی مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. حیوانات آزادانه دسترسی به آب و غذا داشتند و در محیطی با تهویه و دمای مناسب (۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند.

پروتکل تحقیق

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک و حجم ضایعه مغزی در چهار گروه به شرح زیر مورد مطالعه قرار گرفت. گروه شاهد ($n = 12$): در این گروه حیوان بیوهش شده و جراحی ناحیه گردن انجام شد. شریان کاروتید راست و شاخه های آن از بافت های اطراف جدا شدند اما انسداد شریان میانی مغز صورت نگرفت.

گروه ایسکمیک ($n = 12$): در این گروه ایسکمی مغزی با انسداد شریان میانی مغز در نیمکره راست به مدت ۱ ساعت ایجاد شد. در پایان دوره ایسکمی و شروع برقراری مجدد جریان خون به حیوان محلول کربنات سدیم ۱٪ / نرمال (۱ میلی لیتر بر کیلو گرم) بصورت داخل وریدی تزریق شد.

گروه کندسارتان یک ($n = 12$): در این گروه ایسکمی مغزی همانند گروه قبل ایجاد شد و حیوان داروی کندسارتان (۱٪ / میلی گرم بر کیلو گرم) را در پایان دوره ایسکمی و شروع برقراری مجدد جریان خون بصورت داخل وریدی دریافت کرد.

گروه کندسارتان دو ($n = 12$): در این گروه ایسکمی مغزی همانند گروه قبل ایجاد شد و حیوان داروی کندسارتان (۵٪ / میلی گرم بر کیلو گرم) را در پایان دوره ایسکمی و شروع برقراری مجدد جریان خون بصورت داخل وریدی دریافت کرد.

تعدادی از حیوانات مورد مطالعه در گروه های آزمایشی ($n=4$) بطور تصادفی انتخاب شده و برای ثبت فشار خون مورد مطالعه قرار گرفتند. در این حیوانات شریان دمی کانول گذاری شده و فشار خون بطور مداوم از ده دقیقه قبل از ایسکمی تا ده دقیقه پس از پایان این دوره ثبت شد.

که دارد، در روندهای پاتولوژیک چون آسیب ایسکمیک اندامهای حیاتی بدن چون قلب^[۲] و کلیه^[۳] نقش دارد. پیشنهاد شده است که سیستم رین - آنژیوتانسین و پپتید فعال آن آنژیوتانسین دو ممکن است در روندهای پاتولوژیک مربوط به سکته مغزی دخالت داشته باشد. پیشنهاد شده است که سیستم رین - آنژیوتانسین ممکن است در کاهش شیوع سکته مغزی و حتی در کاهش آسیب نورونها پس از وقوع سکته مغزی نقش داشته باشد^[۴]. مطالعات قبلی ما نشان داده است که مهار آنژیتم تبدیل کننده آنژیوتانسین با استفاده از انالاپریل^۱ در مرحله قبل از ایسکمی^[۵] و پس از وقوع ایسکمی^[۶] می تواند حجم ضایعه مغزی را کاهش داده و شدت ادم مغزی ایجاد شده را تقلیل دهد. همچنین گزارش شده است که مهار گیرنده های نوع یک آنژیوتانسین دو (AT1) با تجویز کندسارتان^۲ در مرحله قبل از ایسکمی در موش صحرایی با فشار خون طبیعی^[۷] و فشار خون بالا^[۸] اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی را بهبود داده و حجم ضایعه مغزی را کاهش می دهد. اما گزارشها در خصوص اثرات مهار گیرنده های AT1 در مرحله پس از وقوع ایسکمی به شکل مداخله درمانی محدود است. با توجه به ضرورت بررسی کارآئی این مداخله به شکل درمان پس از وقوع سکته مغزی در این مطالعه اثرات مهار گیرنده های AT1 با تجویز کندسارتان پس از وقوع ایسکمی مورد مطالعه قرار می گیرد. کند سارتان به عنوان آنتاگونیست گیرنده های AT1 به آسانی از سد خونی مغزی عبور می کند و قادر است گیرنده های AT1 مغزی را بطور موثر و طولانی مدت مهار کند^[۹,۱۰].

روش کار

در این مطالعه از موش صحرایی نر نژاد - Sprague Dawley با محدوده وزنی ۲۰-۳۰ گرم برای

^۱Enalapril

^۲Candesartan

خم شدن پای جلو سمت مقابل ضایعه مشاهده می شد حیوان نمره ۲ دریافت می کرد. اگر حیوان به هنگام قرار گرفتن در سطح صاف حرکت چرخشی به سمت مقابل ضایعه داشت نمره ۳ می گرفت و اگر قادر به ایستادن روی پاهاش نبود و فاقد رفلکس به پا خواستن بود^۳ نمره ۴ دریافت می کرد. زمانیکه حیوان فاقد حرکت خودبخودی بود نمره ۵ به حیوان اختصاص داده می شد.

تعیین حجم ضایعه مغزی

۲۴ ساعت پس از پایان دوره ایسکمی، حیوان زیر بیهوشی عمیق کشته شد. مغز حیوان خارج شده و به مدت ۵ دقیقه در نرمال سالین سرد قرار گرفت تا قوام لازم جهت برش با استفاده از ماتریکس مخصوص را پیدا کند. شش برش به ضخامت ۲ میلیمتر از مغز حیوان تهیه شد. برشهای با غوطه ور شدن در محلول ۲ درصد تری فنیل ترازاولیوم ۱۰ کلراید^۴ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی شد. پس از آن با استفاده از یک دوربین دیجیتال متصل به کامپیوتر از برشهای تصویربرداری شد. با استفاده از نرم افزار تصویر NIH Image analyzer سطح ناحیه ضایعه و دو نیمکره در هر برش اندازه گیری شد و با کمک قالب تعریف شده در نرم افزار Excel حجم ضایعه مغزی ایجاد شده و درصد وقوع ضایعه ایسکمیک در کورتکس و نواحی زیرقشری مغز با حذف اثر ایجاد شده توسط ادم مغزی محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری از نرم افزار آماری Sigma stat استفاده شد. بیشتر داده ها بصورت میانگین ± خطای معیار استاندارد بیان شده است. برای مقایسه نتایج از آزمونهای آماری آنالیز واریانس و T – test استفاده شد. برای مقایسه داده های مربوط به آزمون نورولوژیک از آزمون Mann – Whitney استفاده شد.

روش جراحی

برای ایجاد ایسکمی موضعی مغز از روش انسداد شریان میانی مغز با استفاده از فیلامان مخصوص^۱ استفاده شد[۶]. حیوان با تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۴ میلی گرم بر کیلو گرم) بیهوش شد. با استفاده از یک سیستم کنترل فیدبکی دمای بدن در محدوده ۳۷±۰/۵ درجه سانتیگراد حفظ شد. برشی به اندازه ۲ سانتیمتر در ناحیه قدامی گردن حیوان ایجاد شد. پس از آن شریان کاروتید مشترک راست تا محل انشعاب به شاخه های خارجی و داخلی به آرامی از بافتیهای اطراف بویژه عصب واگ جدا شد. شاخه های فرعی کاروتید خارجی کوتولی شدو این شریان بطور دائمی مسدود شد.

شریانهای کاروتید مشترک و کاروتید داخلی بطور موقت با استفاده از میکرو کلمپ مسدود شد. در شریان کاروتید خارجی برش کوچکی ایجاد شده و فیلامان نایلون ۳-۰ با بوشش پلی - ال - لیزین آز محل برش ایجاد شده در کاروتید خارجی به کاروتید داخلی هدایت شد. اطراف محل برش با گره ای از نخ سیلک ۵-۰ برای جلوگیری از خونریزی مسدود شد. میکرو کلمپ از روی شریان کاروتید داخلی برداشته شده و فیلامان از مسیر شریان کاروتید داخلی به سمت حلقه ویلیس هدایت شد تا شریان میانی مغز را مسدود سازد. پس از یک ساعت انسداد شریان میانی مغز با خارج کردن فیلامان جریان خون مجدد آ در مسیر مذکور برقرار شد.

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک

۲۴ ساعت پس از پایان ایسکمی حیوانات از نظر بروز اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی با استفاده از یک آزمون ۵ نمره ای ویژه مورد ارزیابی قرار گرفتند[۶]. در این آزمون به حیوانی که از نظر حرکتی طبیعی بوده و اختلال حرکتی نداشت نمره ۱ داده می شد. اگر به هنگام آویزان شدن حیوان از دم

³ Righting Reflex

⁴ Triphenyltetrazolium Chloride

¹ Intraluminal Filament Method

² Ploy-L-Lysine

شد و نتایج بر مبنای میانه در متن بیان شد. مقادیر $P < 0.5$ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

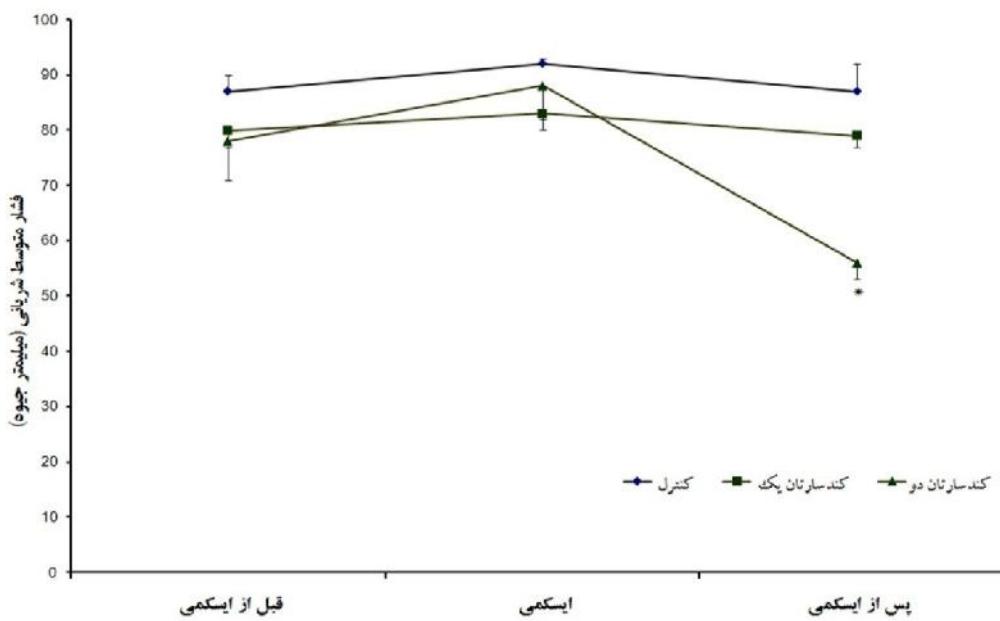
ارزیابی نتایج ثبت فشار خون شریانی

نتایج حاصل از ثبت مداوم فشار خون از ۱۰ دقیقه قبل از وقوع ایسکمی تا ۱۰ دقیقه پس از پایان این دوره نشان داد که فشار خون متوسط شریانی ثبت شده از گروه کنترل ایسکمی با فشار خون ثبت شده از گروه کندرسارتان یک ($10.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$) در مرحله قبل از ایسکمی، هین ایسکمی و پس از آن تفاوت معنی داری نداشت. همچنین فشار خون ثبت شده از گروه کندرسارتان دو ($5.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$) در مرحله قبل از ایسکمی و هین ایسکمی با این گروه متفاوت نبود اما در مرحله پس از پایان ایسکمی و به دنبال تجویز داروی کندرسارتان با دوز $5.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$ فشار خون بطور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.5$) (شکل ۱).

ارزیابی اختلالات حرکتی نورولوژیک
 در حالیکه حیوانات گروه شاهد از نظر حرکتی طبیعی بوده و هیچگونه اختلال حرکتی نداشته‌اند. ۲۴ ساعت پس از وقوع ایسکمی اختلالات حرکتی شدیدی در حیوانات گروه کنترل ایسکمی مشاهده شد. مهار گیرنده‌های AT1 آنژیوتانسین دو با داروی کندرسارتان (با دوزهای $1/0.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$ یا $5/0.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$) در هردو گروه کندرسارتان یک و دو بطور معنی داری نمره آزمون نورولوژیک را نسبت به گروه کنترل کاهش داده و اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی را بهبود بخشید. میانه نمره آزمون نورولوژیک (در دامنه $25-75$ درصد) در گروه کنترل 3 (با دامنه $4-3$) می‌باشد و تجویز کندرسارتان بطور معنی داری آنرا در گروه کندرسارتان یک با میانه 2 (با دامنه $1-2$) ($P = 0.003$) و گروه کندرسارتان دو با میانه 1 (با دامنه $1-2$) ($P = 0.003$) کاهش داد.

ارزیابی حجم ضایعه مغزی

شکل ۱. فشار خون متوسط شریانی در حیوانات گروه ایسکمی و گروه‌های درمان شده با کندرسارتان: کندرسارتان یک ($10.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$) و کندرسارتان دو ($5.0 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$) (* نسبت به گروه کنترل $P < 0.5$).



بطور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل ایسکمیک کاهش داد. همچنین تجویز کندسارatan با دوز 0.5mg/kg میلی گرم بر کیلو گرم) حجم ضایعه مغزی در نواحی قشری ($P<0.05$) و زیر قشری ($P<0.01$) مغز را بطور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل ایسکمیک کاهش داد اما اثرات این دو دوز درمانی از داروی کندسارatan تفاوت معنی داری با همدیگر نداشت (شکل‌های ۲ و ۳).

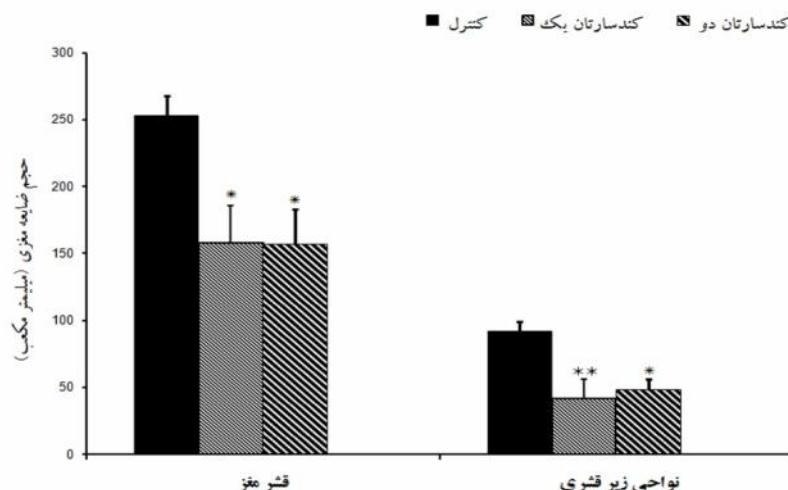
در برشهای تبیه شده از مغز حیوانات گروه شاهد ضایعه ای مشاهده نشد. اما وقوع ایسکمی در مغز حیوانات گروه کنترل ایسکمیک ضایعه شدیدی با حجم 253 ± 15 میلیمتر مکعب در نواحی قشری و 92 ± 7 میلیمتر مکعب در نواحی زیر قشری نیمکره راست مغز ایجاد کرد (شکل ۳). درمان با کندسارatan با دوز 0.1mg/kg میلی گرم بر کیلو گرم حجم ضایعه مغزی در نواحی قشری ($P<0.05$) و زیر قشری ($P<0.01$) مغز را

شکل ۲. نمونه ای از تصاویر برشهای مغزی تبیه شده از مغز موش صحرائی ۲۴ ساعت پس از ایسکمی (۶۰ دقیقه) یا جراحی در گروههای آزمایشی.

منطقه سالم به رنگ تیره و ناحیه ایسکمیک به رنگ روش مشاهده می شود.



شکل ۳. حجم ضایعه مغزی در حیوانات گروه ایسکمیک و گروههای درمان شده با کندسارatan: کندسارatan یک (0.1mg/kg) و کندسارatan دو (0.5mg/kg) ۲۴ ساعت پس از وقوع ایسکمی مغزی (* نسبت به گروه کنترل $P<0.05$). ** نسبت به گروه کنترل $P<0.01$).



بحث

بسیاری از عملکردهای آنژیوتانسین دو به عنوان پیتید فعال سیستم رینین - آنژیوتانسین از طریق گیرنده های AT1 آن صورت می گیرد. از آنجاییکه این گیرنده ها در روندهای پاتولوژیک مرتبط با سکته مغزی چون فشار خون بالا، ترمیوز شریانی و هیپرتروفی قلب نقش دارند[۱۱]. ممکن است آنژیوتانسین دو از طریق تحریک این گیرنده ها در تشديد ضایعات ایسکمیک مغزی دخالت داشته باشد. برای بررسی این فرضیه نقش گیرنده های AT1 و اثرات درمانی مهار آن با تجویز کندرسارتان پس از وقوع سکته مغزی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که مهار گیرنده های AT1 با تجویز درمانی کندرسارتان پس از وقوع سکته مغزی حجم ضایعه مغزی ایجاد شده در قشر مغز و نواحی زیر قشری را کاهش داد و اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی مغزی را بیبود بخشید. یا فته های این مطالعه با گزارشیان سایر محققین که نشان دادند پیش درمانی کندرسارتان حجم ضایعه مغزی را پس از ایسکمی موضعی موقت در موش صحرایی با فشار خون طبیعی [۷] او یا ایسکمی موضعی دائمی موش صحرایی فشار خون بالا [۸] کاهش می دهد، همخوانی دارد. همچنین گزارش شده است که ایررسارتان آنتاگونیست دیگر گیرنده های AT1 اختلالات حرکتی ناشی از ایسکمی مغزی را کاهش داده است[۱۲]. در مقابل گزارش دیگری حاکی از اینست که مهار گیرنده های AT1 با پیش درمانی کندرسارتان بصورت دوزهای متعدد در روزهای متوالی (۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم بر روز- به مدت ۱۲ روز) نتوانست اثرات محافظتی نسبت به ضایعه ایسکمیک مغزی ایجاد کند [۱۳]. پیشنهاد شده است علت این تناقض و تفاوت اثرات ناشی از افت فشار خون است. چرا که این محققین افت معنی دار فشار خون را قبل، بعد و در طی ایسکمی گزارش کردند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد آنژیوتانسین دو از طریق گیرنده های AT1 می تواند نقش مهمی در ایجاد ضایعه مغزی داشته باشد و مهار این گیرنده ها با تجویز درمانی کندرسارتان می تواند ضمن کاهش ضایعه مغزی اختلالات حرکتی ناشی از سکته مغزی را ببیود بخشد.

استانبول ترکیه به جهت راهنماییهای ارزشمندشان
تشکر و سپاسگزاری می شود.

تشکر و قدردانی
بدینوسیله از دکتر عابدین وکیلی از دانشگاه علوم
پزشکی سمنان و پروفسور مهمت کایا از دانشگاه

References

- 1- Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci*. 1999 Sep; 22: 391-7.
- 2- Ferrari R, Cargnoni A, Curello S, Ceconi C, Boraso A, Visioli O. Protection of the ischemic myocardium by the converting-enzyme inhibitor zofenopril: insight into its mechanism of action. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1992 Nov; 20:694-704.
- 3- Kohara K, Mikami H, Okuda N, Higaki J, Ogihara T. Angiotensin blockade and the progression of renal damage in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1993 Jun; 21:975-9.
- 4- Saad MA, Abbas AM, Boshra V, Elkhateeb M, El Aal IA. Effect of angiotensin II type 1 receptor blocker, candesartan, and beta 1 adrenoceptor blocker, atenolol, on brain damage in ischemic stroke. *Acta Physiol Hung*. 2010 Jun; 97(2):159-71.
- 5- Panahpour H, Nekoeian A, Dehghan GA. Inhibition of angiotensin-converting enzyme reduces cerebral infarction size in experimental-induced focal cerebral ischemia in the rat. *Iranian J Med Sci*. 2007 Mar; 32(1):12-7.
- 6- Panahpour H, Dehghani GA. Attenuation of focal cerebral ischemic injury following post-ischemic inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity in normotensive Rat. *Iran Biomed J*. 2012 Oct, 16: 202-8.
- 7- Engelhorn T, Goerike S, Doerfler A, Okorn C, Forsting M, Heusch G, et al. The angiotensin II type 1-receptor blocker candesartan increases cerebral blood flow, reduces infarct size, and improves neurologic outcome after transient cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004 Apr, 24(4):467-74.
- 8- Ito T, Yamakawa H, Bregenzio C, Terron JA, Falcon-Neri A, Saavedra JM. Protection against ischemia and improvement of cerebral blood flow in genetically hypertensive rats by chronic pretreatment with an angiotensin II AT1 antagonist. *Stroke*. 2002 Sep; 33(9):2297-303.
- 9- Culman J, Blume A, Gohlke P, Unger T. The renin-angiotensin system in the brain: possible therapeutic implications for AT₁-receptor blockers. *J Hum Hypertens*. 2002 Aug, 16 3:S64-70.
- 10- Gohlke P, Von Kugelgen S, Jurgensen T, Kox T, Rascher W, Culman J, et al. Effects of orally applied candesartan cilexetil on central responses to angiotensin II in conscious rats. *J Hypertens*. 2002 May, 20: 909-18.
- 11- Thone-Reineke C, Zimmermann M, Neumann C, Krikov M, Li J, Gerova N, et al. Are angiotensin receptor blockers neuroprotective? *Curr Hypertens Rep*. 2004 Aug, 6:257-66.
- 12- Dai WJ, Funk A, Herdegen T, Unger T, Culman J. Blockade of central angiotensin AT₁ improves neurological outcome and reduces expression of AP-1 transcription factors after focal brain cerebral ischemia in rats. *Stroke*. 1999 Nov, 30: 2391–2399.
- 13- Sugawara T, Kinouchi H, Oda M, Shoji H, Omae T, Mizoi K. Candesartan reduces superoxide production after global cerebral ischemia. *Neuroreport*. 2005 Mar, 16:325-8.
- 14- Saavedra JM, Ito T, Nishimura Y. The role of angiotensin II AT₁-receptors in the regulation of the cerebral blood flow and brain ischemia. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2001 Sep, 2: 102-109.
- 15- Nishimura Y, Ito T, Saavedra JM. Angiotensin II AT₁ blockade normalizes cerebrovascular autoregulation and reduces cerebral ischemia in spontaneously hypertensive rats. *Stroke*. 2000 Oct, 31: 2478-86.

- 16- Blume A, Herdegen T, Unger T. Angiotensin peptides and inducible transcription factors. *J Mol Med.* 1999 Mar; 77: 339–357.
- 17- Panahpour H, Bohlooli Sh, Motavallibashi SE. Antioxidant Activity-Mediated Neuroprotective Effects of an Antagonist of AT1 Receptors, Candesartan, against Cerebral Ischemia and Edema in Rats. *Neurophysiology*, 2013 Nov, 45(Issue 5-6): 441-447
- 18- Faure S, Bureau A, Oudart N, Javellaud J, Fournier A, Achard JM. Protective effect of candesartan in experimental ischemic stroke in the rat mediated by AT2 and AT4 receptors. *J Hypertens.* 2008 Oct, 26(10):2008-15.