

Evaluation of Serum Concentrations of ATG5, ApoB48 in Patients with Ischemic Stroke

Shademan B¹, Ajoolabady A², Nourazarian A^{*3}

1. Department of Medical Biology, School of Medicine, EGE University, Izmir, Turkey

2. Neuroscience Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3. Department of Basic Medical Sciences, Khoy University of Medical Sciences, Khoy, Iran.

* **Corresponding author.** Tel: +984436255777, Fax: +4436255777, E-mail: noorazarian_a@khoyums.ac.ir

Received: May 10, 2022

Accepted: Jul 24, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Stroke is one of the most common causes of death worldwide and has distinctive features. Moreover, the different types of strokes are characterized by different physiopathological mechanisms. In the present study, we aimed to investigate the serum levels of ATG5 and apo B-48 and their diagnostic value in patients with ischemic stroke.

Methods: We selected 100 participants, including 50 ischemic stroke patients (22 women and 28 men) as the case group and 50 healthy individuals (23 women and 27 men) as the control group. Then, we conducted a case-control study in Imam Reza Hospital (Tabriz, Iran) from March 2016 to April 2016. Serum levels of ATG 5 and Apo B-48 were measured in both groups. We also evaluated the additional diagnostic value of these factors in both groups using receptor-related power analysis (ROC).

Results: The mean serum levels of ATG 5 and apo B-48 were significantly higher in the case group than in the control group ($p < 0.0001$). The values under the ROC curve (AUC) for ATG5 and apo B-48 were 0.96 and 0.91, respectively. The area under the ROC curve indicates that ATG 5 and apo B 48 are appropriate biomarkers for diagnosing ischemic stroke.

Conclusion: Serum levels of ATG 5 and apo B -48 are significantly higher in patients with ischemic stroke than in healthy individuals and may be considered diagnostic biomarkers in patients with ischemic stroke.

Keywords: Ischemic Stroke; Apo-Lipoprotein B-48; Autophagy 5-Protein

بررسی غلظت سرمی ATG5، ApoB48 در بیماران مبتلا به سکتة ایسکمیک مغزی

بهروز شادمان^۱؛ امیر عجل آبادی^۲؛ علیرضا نورآذریان^{۳*}

۱. گروه زیست شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه EGE، ازمیر، ترکیه

۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۳. گروه علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خوی، خوی، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۴۳۶۲۵۵۷۷۷ فاکس: ۰۴۴۳۶۲۵۵۷۷۷ پست الکترونیک: noorazarian_a@khoyums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: سکتة مغزی یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر در سراسر جهان است و ویژگی‌های متمایزی دارد. علاوه بر این، انواع مختلف سکتة‌های مغزی با مکانیسم‌های فیزیوپاتولوژیک متفاوتی مشخص می‌شوند. هدف مطالعه حاضر، بررسی سطوح سرمی و ارزش تشخیصی ATG5 و ApoB48 در بیماران مبتلا به سکتة مغزی ایسکمیک بود.

روش کار: در مطالعه حاضر ۱۰۰ نفر شامل ۵۰ بیمار سکتة مغزی ایسکمیک (۲۲ زن و ۲۸ مرد) به عنوان گروه مورد و ۵۰ فرد سالم (۲۳ زن و ۲۷ مرد) به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. سپس، یک مطالعه مورد-شاهدی در بیمارستان امام رضا (تبریز، ایران) از اسفند ۱۳۹۷ تا فروردین ۱۳۹۹ انجام گردید. سطوح سرمی ATG5 و ApoB48 در هر دو گروه اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، ارزش تشخیصی افزایشی این عوامل با استفاده از تجزیه و تحلیل مشخصه عملکرد گیرنده (ROC) در هر دو گروه ارزیابی شد.

یافته‌ها: میانگین سطوح سرمی ATG5 و ApoB48 در گروه مورد به طور قابل توجهی بالاتر از گروه شاهد بود ($p < 0.0001$). مقادیر مساحت زیر منحنی (AUC) ROC برای ATG5 و ApoB48 به ترتیب ۰/۹۶ و ۰/۹۱ بود. مساحت زیر منحنی ROC نشان داد ATG5 و ApoB48 برای تشخیص سکتة مغزی ایسکمیک مناسبتر هستند.

نتیجه‌گیری: سطوح سرمی ATG5 و ApoB48 در بیماران سکتة مغزی ایسکمیک به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم است و می‌تواند به عنوان بیومارکرهای تشخیصی در بیماران سکتة مغزی ایسکمیک مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: سکتة مغزی، Apo-Lipoprotein B 48، Autophagy 5-Protein

دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۰ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۲

مقدمه

گردن ایجاد می‌شود [۲]. تقریباً ۷۰۰۰۰۰ نفر هر ساله در ایالات متحده از سکتة مغزی ایسکمیک رنج می‌برند و درمان خاصی برای این وضعیت ویرانگر وجود ندارد [۳]. تقریباً ۷۵ درصد از انسداد عروق مغزی ناشی از آمبولی است که واسطه انسداد کانونی جریان خون در مغز است [۴]. اصطلاح «ایسکمی» به تضعیف جریان

سکتة مغزی دومین عامل مرگ و میر و علت اصلی ناتوانی در سراسر جهان است که در دو نوع رایج شامل سکتة مغزی ایسکمیک و سکتة هموراژیک رخ می‌دهد [۱]. سکتة مغزی ایسکمیک شایع‌ترین نوع سکتة است که در اثر انسداد یک رگ خونی در مغز یا

خون کافی در مغز اشاره دارد که ممکن است عملکرد طبیعی سلول‌های عصبی را تغییر دهد. مغز عمیقاً به ایسکمی حساس است تا جایی که حتی ایسکمی گذرا ممکن است یک سری از رویدادهای پیچیده را شروع کند که منجر به مرگ سلول‌های عصبی می‌شود. بخش‌های مجزای مغز انعطاف‌پذیری متفاوتی برای ایسکمی دارند و ماده سفید آستانه تحمل بیشتری نسبت به ایسکمی نسبت به ماده خاکستری دارد [۵]. کمبود اکسیژن و گلوکز و اختلال در شیب یونی در سیستم عصبی مرکزی بر اثر سکتة مغزی ایسکمیک رخ می‌دهد. در نتیجه، نورون‌های دپلاریزه تحت هجوم عظیم داخل سلولی Ca^{2+} و جریان گلوتمات قرار می‌گیرند که منجر به فعال‌شدن مسیرهای مرگ سلولی، به ویژه آپوپتوز و نکروپتوز می‌شود [۶]. بنابراین، سمیت تحریکی مکانیزمی برای اختلال عصبی ناشی از ایسکمی است. اگرچه نقش Ca^{2+} در سمیت تحریکی هنوز مبهم است، اعتقاد بر این است که تجمع Ca^{2+} درون سلولی باعث اختلال در میتوکندری، تولید ROS و فعال‌سازی پروتئازها و فسفولیپازها می‌شود، که همگی می‌توانند مسیرهای مرگ سلولی را تغییر دهند [۷]. علاوه بر این، وانگ و همکاران گزارش کردند که NMDAR ها در مرگ سلولی و تصمیم‌گیری برای بقا در شرایط ایسکمی اهمیت قابل توجهی دارند. همچنین آنها نشان دادند که اتصالات شکاف عصبی به سمیت تحریکی، ناشی از NMDAR ها کمک می‌کند. بنابراین اتصالات شکاف بازیگران نقش محوری در مرگ سلول عصبی با واسطه سکتة مغزی ایسکمیک هستند [۸]. شایان ذکر است تعداد فزاینده-ای از شواهد نشان می‌دهد که ماکروآتوفازی همچنین نقش اساسی در پاتوفیزیولوژی و سبب شناسی سکتة مغزی ایسکمیک و بهبودی بیماران سکتة مغزی ایسکمیک ایفا می‌کند [۹]. ماکروآتوفازی (که از این به بعد اتوفازی نامیده می‌شود) یک فرآیند تخریب سلولی انبوه است که اندامک‌های آسیب دیده/با عمر طولانی، اجزای سلولی آسیب دیده، توده‌های

پروتئینی، و پاتوژن‌ها (که در مجموع «محموله‌های اتوفازی» نامیده می‌شوند) را جدا می‌کند و باعث جداسازی آن‌ها در لیزوزوم‌ها می‌شود [۱۰، ۱۱]. از نظر مکانیکی، محموله‌های اتوفازی توسط یک ساختار دو غشایی گذرا، به اصطلاح «اتوفاگوزوم» که در نهایت با یک لیزوزوم ترکیب می‌شود، جدا می‌شوند و منجر به تخریب محموله‌های اتوفازی به بلوک‌های ساختمانی آن‌ها می‌شود [۱۰، ۱۱]. فرآیند اتوفازی توسط یک خانواده پروتئینی از پروتئین‌های ATG تنظیم می‌شود که به صورت سلسله مراتبی برای فرآیند اتوفازی استخدام می‌شوند. خانواده پروتئین ATG در پستانداران شامل بیش از ۳۰ پروتئین است که فرآیند اتوفازی را از تشکیل اتوفاگوزوم تا ایجاد کونزوگاسیون اتوفاگوزوم- لیزوزوم تنظیم می‌کند [۱۲]. mTORC1 شروع اتوفازی را از طریق فسفوریلاسیون ULK1 (که معمولاً به عنوان ATG1 شناخته می‌شود) تنظیم می‌کند [۱۰]. بنابراین mTORC1 تنظیم کننده اصلی اتوفازی در سلول‌های پستانداران است. القای خفیف تا متوسط اتوفازی «اتوفازی تطبیقی» نامیده می‌شود که یک مکانیسم محافظ سلولی است، در حالی که القای بیش از حد اتوفازی «اتوفازی ناسازگار» نامیده می‌شود که یک فرآیند مضر است که می‌تواند منجر به مرگ سلولی شود [۱۳، ۱۴]. تعداد فزاینده‌ای از شواهد نشان می‌دهد که اتوفازی تطبیقی و ناسازگار هر دو در پاتوفیزیولوژی سکتة مغزی ایسکمیک نقش دارند. اتوفازی تطبیقی می‌تواند آسیب عصبی را در سکتة مغزی ایسکمیک کاهش دهد، در حالی که اختلال اتوفازی تطبیقی می‌تواند منجر به نکروز و آپوپتوز در بافت مغز شود [۱۵]. علاوه بر این پان و همکاران نشان دادند که I/R مغزی باعث کاهش تنظیم MTMR14 می‌شود که منجر به اتوفازی بیش از حد می‌شود که به اعدام سلولی کمک می‌کند [۱۶]. سکتة مغزی ایسکمیک به دلیل انسداد جریان خون به مغز کانونی ایجاد می‌شود [۱۷]. در اکثر بیماران سکتة

مغزی (۸۰-۷۰٪)، انسداد ترومبوتیک و آمبولیک قابل مشاهده آنژیوگرافی عامل بروز سکته مغزی است [۱۸]. احتمالاً در بیماران سکته مغزی، میزان انسداد قابل مشاهده کمتر است، به ویژه در بیماران سکته مغزی خفیف و مبتلایان به سندرم لاکونار کلاسیک. مکانیسم‌های دیگری نیز در ایجاد سکته مغزی ایسکمیک نقش دارند، از جمله مسدود شدن شریان‌ها و شریان‌های کوچک، تنگی‌های با درجه بالا (تک یا چندگانه)، کاهش جریان خون از طریق آرتریت و عروق جانبی، تشریح شریانی، و کم‌خونی و هیپر ویسکوزیته قابل توجه نقش دارد [۱۹].

روش کار

جمعیت مورد مطالعه

۱۰۰ شرکت کننده شامل ۵۰ بیمار سکته مغزی ایسکمیک (۲۲ زن و ۲۸ مرد) به عنوان گروه مورد و ۵۰ فرد سالم بدون سکته مغزی یا هر گونه اختلال عصبی (۲۳ زن و ۲۷ مرد) به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. تصویربرداری تشدید مغناطیسی و توموگرافی کامپیوتری برای تشخیص رادیولوژیک بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک استفاده شد. همچنین اندازه انفارکتوس با آستانه ۲/۰ سانتی متر ارزیابی شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل تشخیص سکته مغزی ایسکمیک، پر کردن فرم و رضایت کتبی برای شرکت در مطالعه بود، در حالی که معیارهای خروج شامل سابقه قبلی سکته مغزی ایسکمیک، انفارکتوس، صرع، اختلال گردش خون، وضعیت پس از زایمان، CVD ایسکمیک، ترومبوز، بارداری، اختلالات کلیوی، کم کاری تیروئید، تومورهای مغزی، میگرن و استفاده از داروهای ضد بارداری و ترکیبات دارویی که می‌تواند با نتایج و سابقه تداخل داشته باشد.

نوع مطالعه و ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه مورد-شاهدی کد اخلاقی (IR.TBZMED.REC.1399.879) از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز دریافت گردید. علاوه بر

این، هم بیماران و هم خانواده آنها از مطالعه حمایت نمودند. این مطالعه از اسفند ۱۳۹۷ تا فروردین ۱۳۹۹ در بیمارستان امام رضا (تبریز، ایران) انجام شد.

جمع‌آوری نمونه خون

پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، ۱۰ میلی لیتر نمونه خون از شرکت کنندگان با استفاده از فلبوتومی گرفته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲/۱ ساعت در دمای اتاق منعقد شدند. پس از انعقاد، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در 4°C سانتریفیوژ شدند. سپس نمونه‌های سرم به دست آمده به ویال‌های دیگر منتقل و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد برای آنالیز بعدی نگهداری شدند.

اندازه‌گیری عوامل بیوشیمیایی

کیت‌های کلسترول (cat. Number, 110 500 BT)، کیت‌های تری‌گلیسیرید (cat. Number, GPO-PAP, 132 504 H917) و کیت‌های HDL (cat. Number, 1050012) که همگی از شرکت پارس‌آزمون، ایران تهیه شدند. برای ارزیابی پروفایل لیپیدی در هیتاچی ۹۱۷ استفاده شد. در مطالعه از فرمول فریدوالد برای تعیین کمیت LDL استفاده گردید.

اندازه‌گیری سطح سرمی ATG 5 و Apo B 48

با استفاده از کیت‌های Elisa MyBioSource (MBS700741, MBS169369, USA) طبق دستور شرکت سازنده کیت، سطح سرمی ATG5 و ApoB48 اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای ارزیابی داده‌ها از GraphPad Prism 8، آزمون من-ویتنی^۱ و رگرسیون لجستیک استفاده شد. همچنین از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای ارزیابی نرمال بودن متغیر کمی و درصد فراوانی و نیز میانگین $\pm$ انحراف معیار برای به دست آوردن متغیرهای کمی و کیفی به ترتیب استفاده شد. برای تشخیص مناسبترین مقادیر آستانه (توقف) برای افتراق شرکت کنندگان سالم از بیماران سکته مغزی

^۱ Mann-Whitney U

ایسکمیک، از منحنی‌های ROC استفاده شد. مقادیر $p < 0.05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک آزمودنی‌ها

این مطالعه شامل ۵۰ نمونه از گروه مورد و ۵۰ نمونه از گروه شاهد بود. همانطور که جدول ۱ نشان می‌دهد، تفاوت معنی‌داری در وضعیت دیابت، مصرف

سیگار، سن، جنسیت، مصرف الکل، وزن و قد بین دو گروه وجود نداشت، اما تفاوت معنی‌داری در فشار خون بالا و BMI بین دو گروه وجود داشت ($p < 0.05$) علاوه بر این، ۵۴ درصد از بیماران سکته مغزی ایسکمیک (۲۷ بیمار) سکته عروقی شدید داشتند، در حالی که ۴۶ درصد از بیماران سکته مغزی ایسکمیک (۲۳ بیمار) سکته عروق خفیف داشتند.

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک جامعه مورد مطالعه

متغیرها	گروه کنترل	گروه مورد	تعداد کل	P-value*
جنسیت	زن ۲۳ (۵۱،۱)	زن ۲۲ (۴۹)	۴۵	۰/۵۰
تعداد (درصد)	مرد ۲۷ (۴۹،۱)	مرد ۲۸ (۵۱)	۵۵	
سن، میانگین (SD)	۵۴،۱۶ (۱۴،۲)	۵۸،۴۶ (۱۰،۵)		۰،۸۹
سابقه مصرف سیگار	دارد ۱۱ (۴۲،۳)	دارد ۱۵ (۵۷،۷)	۲۶	۰،۲۴
تعداد (درصد)	ندارد ۳۹ (۵۲،۷)	ندارد ۳۵ (۴۷،۳)	۷۴	
سابقه مصرف الکل	دارد ۶ (۳۵،۳)	دارد ۱۱ (۶۴،۷)	۱۷	۰،۱۴
تعداد (درصد)	ندارد ۴۴ (۵۳،۰)	ندارد ۳۹ (۴۷،۰)	۸۳	
سابقه بیماری دیابت	دارد ۱۲ (۴۱،۴)	دارد ۱۷ (۵۸،۶)	۲۹	۰،۱۸
تعداد (درصد)	ندارد ۳۸ (۵۳،۵)	ندارد ۳۳ (۴۶،۵)	۷۱	
سابقه فشار خون	دارد ۱۵ (۳۵،۷)	دارد ۲۷ (۶۴،۳)	۴۲	۰،۰۱
تعداد (درصد)	ندارد ۳۵ (۶۰،۳)	ندارد ۲۳ (۳۹،۷)	۵۸	
قد، میانگین (SD)	۱۶۷،۴۲ (۹،۵)	۱۶۷،۶۸ (۹،۷)		۰،۸۹
وزن، میانگین (SD)	۶۹،۷۰ (۱۲،۴)	۷۰،۲ (۱۲،۷)		۰،۸۴
BMI، میانگین (SD)	۲۰،۶۷ (۱،۶)	۲۴،۶۳ (۳،۶)		<۰،۰۰۱

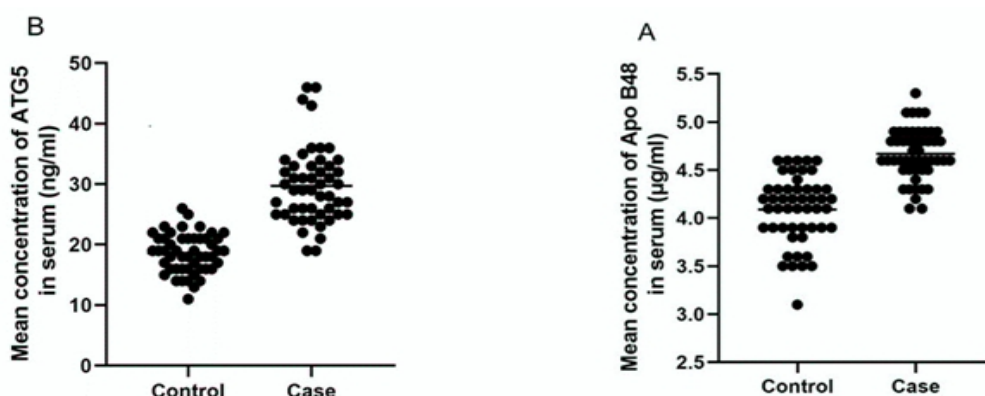
اندازه‌گیری سطوح سرمی فاکتورهای بیوشیمیایی

تفاوت معنی‌داری در سطوح سرمی ATG5، TG، ApoB48 و کلسترول بین هر دو گروه وجود دارد. با این حال، تفاوت قابل توجهی در سطوح سرمی HDL-C و LDL-C بین دو گروه مشاهده نشد (جدول ۲). سطوح سرمی ATG5 در بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک نسبت به گروه کنترل ($3/2 \pm 18/60$ نانوگرم در میلی لیتر) با $p < 0.0001$

به‌طور قابل توجهی افزایش یافت ($16/2 \pm 29/72$ نانوگرم در میلی لیتر) (شکل ۱). سطح سرمی ApoB48 در بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک در مقایسه با گروه کنترل ($0/35 \pm 4/09$ میکروگرم بر میلی لیتر) با $p < 0.0001$ به‌طور قابل توجهی ($4/67 \pm 0/26$ میکروگرم بر میلی لیتر) افزایش یافت (شکل ۱).

جدول ۲. مقایسه سطوح سرمی پارامترهای بیوشیمیایی بین گروه مورد و شاهد

متغیرها	گروه کنترل میانگین (SD)	گروه مورد میانگین (SD)	P-value *
Apo B 48 (μg/mL)	۴۰۹ (۰,۳۵)	۴۶۷ (۰,۲۶)	<۰/۰۰۰۱
ATG 5 (ng/mL)	۱۸۶۰ (۳,۲)	۲۹۷۲ (۶,۲)	<۰/۰۰۰۱
LDL-C (mg/dL)	۱۰۵,۹۲ (۳۷,۵)	۱۱۲,۹۰ (۴۹,۰)	۰/۴۲
HDL-C (mg/dL)	۴۶,۲۶ (۹,۴)	۴۴,۶۲ (۱۰,۸)	۰/۴۲
CHOL (mg/dL)	۱۷۲,۲۸ (۳۸,۹)	۱۹۲,۵۴ (۵۸,۴)	۰/۰۴
TG (mg/dL)	۱۵۲,۶۴ (۵۷,۱)	۲۰۰,۳۸ (۶۴,۴)	<۰/۰۰۰۱



شکل ۱. میانگین غلظت بیومارکرهای Apo B 48، ATG5 در بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک و گروه کنترل

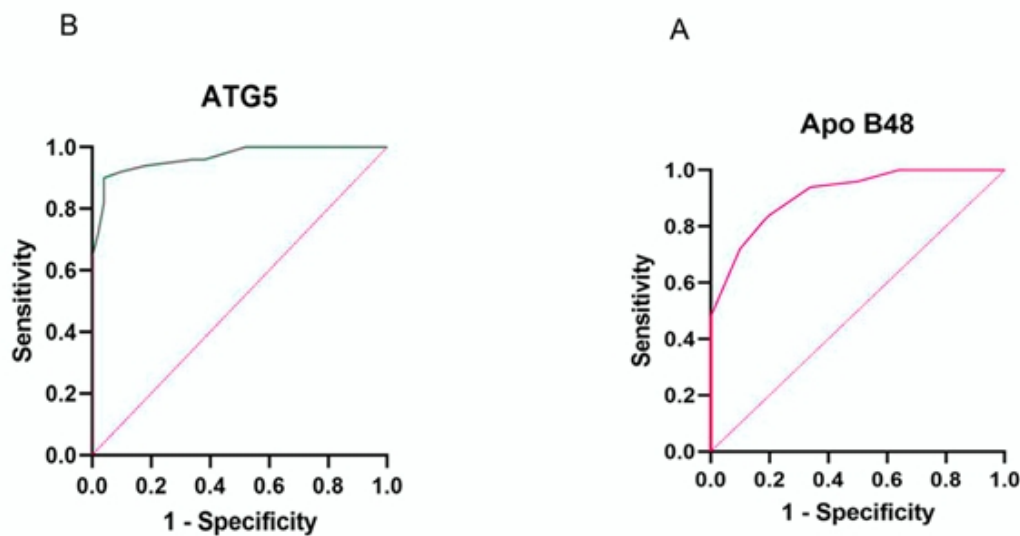
تحلیل رگرسیون لجستیک

تجزیه و تحلیل رگرسیون لجستیک نشان داد که با هر افزایش یک واحدی در سطوح سرمی ATG 5 و Apo B 48، شانس ایجاد سکته مغزی ایسکمیک به ترتیب ۲ و ۱۶ برابر افزایش می‌یابد. این مقدار برای ATG 5 و Apo B 48 از نظر آماری معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$).

تحلیل منحنی ROC

برای بررسی ظرفیت تشخیصی فاکتورهای سرمی فوق‌الذکر، آنالیز منحنی ROC مورد نیاز است. مقادیر مساحت زیر منحنی (AUC) ROC برای ATG 5 و Apo B 48 به ترتیب ۰/۹۶۵۶ و ۰/۹۱۲۰ از ۹۵ درصد بود. با توجه به اینکه سطح زیر منحنی نتایج (۹۵٪ منطقه اطمینان) مقدار AUC ۰/۵ را نشان نمی‌دهد، نتایج با $p < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار هستند که نشان می‌دهد ATG 5 و Apo B 48 برای

تشخیص سکته مغزی ایسکمیک مناسب‌تر هستند (شکل ۲). طبق آزمون شاخص بودن، بهترین مقدار نقطه برش Apo B 48 در سطوح سرمی $\leq ۴/۳۵$ است، که نشان می‌دهد سطوح سرمی بالاتر از $۴/۳۵$ برای Apo B 48 می‌تواند برای تشخیص بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک استفاده شود. در حالی که سطح سرمی کمتر از $۴/۳۵$ نشان‌دهنده افراد سالم است. همچنین حساسیت ۸۴ درصد و ویژگی ۸۰ درصد در این برش نشان می‌دهد که ۸۴ درصد بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک و ۸۰ درصد افراد سالم به درستی به عنوان افراد مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک و افراد سالم تشخیص داده شده‌اند. همچنین در مقدار نقطه برش ATG 5 در سطوح سرمی $\leq ۲۳/۵$ ، حساسیت ۹۰ درصد و ویژگی ۹۶ درصد است که به ترتیب برای تشخیص سکته مغزی ایسکمیک و افراد سالم قابل استفاده است.



شکل ۲. تجزیه و تحلیل منحنی‌های ROC برای سطوح سرمی Apo B 48 و بیومارکرهاى ATG 5 در بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک

همبستگی اسپیرمن

نتایج آزمون همبستگی اسپیرمن نشان داد که یک ارتباط کم اما از نظر آماری ناچیز بین ATG 5 و Apo B 48 با BMI در بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک با $p > 0.05$ وجود دارد.

تحلیل رگرسیون لجستیک

تجزیه و تحلیل همبستگی سطح سرمی Apo B 48 و ATG 5 با نوع درگیری عروق در بیماران سکته مغزی ایسکمیک، نشان داد که از نظر آماری همبستگی معنی‌داری بین سطح سرمی Apo B 48 و ATG 5 با نوع درگیری عروق در بیماران مبتلا به سکته مغزی ایسکمیک وجود ندارد.

بحث

سکته مغزی دومین عامل مرگ و میر و یکی از علل اصلی ناتوانی در سراسر جهان است. ادبیات فعلی نشان می‌دهد که اتوفازی در بیماری‌های عروق مغزی مختلف مانند سکته مغزی ایسکمیک القا می‌شود. با این حال، مکانیسم‌های اساسی تنظیم اتوفازی در طول

ایسکمی و سکته مغزی ایسکمیک تا حد زیادی شناخته شده است. در موش‌های MCAO (مدل سکته مغزی ایسکمیک)، مشخص شد که microRNA-9a-5p (miR-9a-5p) کاهش یافته است، که از طریق ایجاد اتوفازی بیش از حد پس از MCAO به نقص‌های عصبی کمک می‌کند. با این حال، بیان بیش از حد miR-9a-5p سطوح ATG5 را کاهش داد و اتوفازی را کاهش داد [۲۰]. این مطالعه نشان می‌دهد که miR-9a-5p بیان ATG5 را تنظیم می‌کند و در نتیجه از بیش فعال شدن اتوفازی جلوگیری می‌کند که منجر به کاهش نقایص عصبی تحت سکته مغزی ایسکمیک می‌شود. به طور مشابه، مشخص شد که کاهش تنظیم miR-30b به القای اتوفازی بیش از حد از طریق ترویج مزدوجات ATG12-ATG5 کمک می‌کند، که باعث افزایش بیشتر آسیب کبدی تحت ایسکمی کبدی می‌شود [۲۱]. این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که مشارکت ATG5 در اتوفازی بیش از حد برای بافت‌های انسانی تحت ایسکمی مضر است. علاوه بر این، ATG5 از عملکرد میتوکندری پشتیبانی می‌کند و

رگ‌زایی را در سلول‌های اندوتلیال تحت H/R پاتولوژیک ترویج می‌کند [۲۲]. بنابراین، ATG5 اندوتلیال فرصت‌های درمانی جدیدی را برای ناهنجاری‌های مرتبط با نئواسکولاریزاسیون نشان می‌دهد. همچنین، تنظیم دگرگونی STAT3 منجر به اتوفازی با واسطه ATG5 شد که آسیب کبدی را در شرایط *in vitro* و *in vivo* تحت I/R کبدی کاهش داد [۲۳]. بنابراین، القای خفیف اتوفازی در طول شرایط ایسکمیک ممکن است آسیب را در بافت‌های انسانی کاهش دهد. تأثیر ناهنجاری‌های لیپوپروتئین در شروع یا پیشرفت ایسکمی عروق مغزی مبهم باقی مانده است. در مطالعه MR، اثرات آپولیپروتئین‌ها و لیپیدها بر سکنه مغزی ایسکمیک به طور مقایسه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که Apo B از اهمیت بالایی برخوردار است که به علت تری‌گلیسیرید، کلسترول LDL و Apo B در ارتباط با سکنه مغزی ایسکمیک کمک می‌کند [۲۴]. با این وجود، مطالعات بیشتری برای روشن کردن ارتباط بین آپولیپروتئین سرم و سکنه مغزی ایسکمیک مورد نیاز است.

در مطالعه حاضر ارتباط سطح سرمی Apo B 48 و ATG5 را در بیماران مبتلا به سکنه مغزی ایسکمیک بررسی کردیم. در یک مطالعه مورد-شاهدی همسان جنسیتی، همبستگی سطح سرمی Apo B 48 و سکنه آنرواسکلروتیک شریان بزرگ مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که سطح سرمی ناشتا Apo B 48 در بیماران مبتلا به سکنه آنرواسکلروتیک شریان بزرگ به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم با $p < 0.01$ بود [۲۵]. نتیجه این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد، زیرا نشان داده شده که در بیماران مبتلا به سکنه مغزی ایسکمیک سطح سرمی Apo B 48 به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم است. با این حال، باید توجه داشت که تغییرات در رژیم غذایی ممکن است بر سطح سرمی Apo B 48 در بیماران مبتلا به سکنه مغزی ایسکمیک و افراد سالم

تأثیر بگذارد [۲۶]. بنابراین، نتایج این مطالعه بسیار نزدیک به نتایج مطالعه حاضر است، هرچند، این مطالعه Apo A را ارزیابی کرد نه Apo B 48 را. علاوه بر این، در مطالعه مشابه دیگری، ارتباط بین سطح لیپید سرم، آل‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف Apo E و خطر سکنه مغزی در بین ۲۱۶ بیمار سکنه مغزی ایسکمیک و ۲۸۲ فرد سالم از نظر جنسیت و سن بررسی شد. این مطالعه نشان داد که Apo E4 در بیماران مبتلا به سکنه مغزی ایسکمیک در مقایسه با Apo E3 به طور قابل توجهی بالاتر بود [۲۷].

در مطالعه حاضر، سطوح سرمی روزه Apo B 48 در بیماران مبتلا به سکنه مغزی ایسکمیک افزایش می‌یابد. نشان داده شد که سطوح سرمی ناشتا Apo B 48 با سکنه مغزی ایسکمیک مرتبط است، و نشان می‌دهد که لیپوپروتئین‌های حاوی Apo B 48 به تصلب شرایین کمک می‌کنند، که به نوبه خود، خطر ابتلا به سکنه مغزی ایسکمیک را افزایش می‌دهد. بنابراین، نتیجه‌گیری می‌شود که Apo B 48 ناشتا یک نشانگر زیستی جدید برای تشخیص سکنه مغزی ایسکمیک است و همچنین می‌تواند یک هدف درمانی بالقوه برای سکنه مغزی ایسکمیک باشد. در مجموع سطوح بالایی از انواع خاصی از آپوپروتئین‌ها مانند Apo B 48، Apo A 48، و Apo E3 با افزایش خطر ابتلا به سکنه مغزی ایسکمیک در بین جمعیت‌ها مرتبط است. با توجه به اینکه اکثر شرکت‌کنندگان بالای ۵۰ سال سن داشتند، از نظر آماری، افزایش سن تأثیری بر نتایج مطالعه حاضر نداشت. گزارش شده است که ICH به فعال‌شدن اتوفازی میکروگلیال از طریق افزایش تنظیم ATG 5 کمک می‌کند، که منجر به فعال‌شدن میکروگلیال و التهاب متعاقب آن می‌شود، که نشان می‌دهد القای بیش از حد اتوفازی در هنگام سکنه می‌تواند مضر باشد [۲۸]. اگرچه این مطالعه ارتباط بین سطح سرمی ATG 5 و سکنه مغزی ایسکمیک را بررسی نکرد، این مطالعه نشان داد که سطح بیان ATG 5 و در نتیجه سطح سرمی ATG 5 با بروز

بالای سگته مغزی ایسکمیک مرتبط است. زی^۱ و همکاران به‌طور ژنتیکی ATG 5 را حذف کردند، که بقای سلول‌های پیش ساز را کاهش داد و باعث آپوپتوز شد. بنابراین، این مطالعه نقش محافظت‌کننده سلولی اتوفازی با واسطه ATG 5 را در نورون‌های هیپوکامپ نشان می‌دهد. بنابراین، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که ممکن است ارتباط متنوعی بین سطوح سرمی ATG 5 و سگته مغزی ایسکمیک وجود داشته باشد که با نتایج مطالعه حاضر در تناقض است. اولاً در طول بررسی، هیچ شرایط عفونی در بیماران مشاهده نشد. با این حال، این مطالعه عواملی را نادیده گرفت که ممکن است کمیت سیتوکین‌ها را مخدوش کنند، مانند داروهای ضد التهابی، ریتم شبانه‌روزی، عوامل محیطی و استرس. ثانیاً اکثر بیمارانی که در این مطالعه ثبت نام کردند برای اولین بار بیمارستان امام رضا (ع) تبریز را تجربه کردند. با این حال، چندین بیمار قبل از مراجعه به بیمارستان، عوامل درمانی پزشکی را دریافت کردند. علاوه بر این، مشخص نبود که آیا آنها داروهای استروئیدی دریافت کرده‌اند یا خیر. ثالثاً در حین پذیرش از بیماران نمونه خون گرفته شد. در این رابطه، ممکن است یک سوگیری در تفسیر نتایج مطالعه حاضر وجود داشته باشد. علاوه بر این، یکی از کاستی‌های مطالعه حاضر این است که سطوح تسریع‌شده ATG 5 ممکن است مستقیماً با بافت مغز مرتبط نباشد. مشاهده شده است که ATG 5 به‌طور گسترده در انواع مختلف بافت بیان می‌شود. تجزیه و تحلیل PCR نشان داده‌است که ATG 5 در رده‌های سلولی مختلف پستانداران از جمله سلول‌های T بیان می‌شود. هم اصلاحات پس از ترجمه و هم تنظیم مثبت ATG 5 در نمونه بافت مغز از موارد مولتیپل اسکلروزیس عودکننده- فروکش‌کننده که توسط هیستوشیمی ایمونوفلورسانس ارزیابی شده است که نشان می‌دهد سلول‌های T انسفالیتوزنیک بیان

¹ Xi

ATG 5 را در نمونه‌های مولتیپل اسکلروزیس مغز ایجاد می‌کنند، دیده شده است [۲۹]. این داده‌ها با هم نشان می‌دهند که سطوح افزایش یافته Atg5 ممکن است به جای بافت‌های مغز به بافت‌های دیگر مرتبط باشد. همچنین، Apo B 48 از ژن APOB در روده به دنبال فرآیند ویرایش mRNA تولید می‌شود، بنابراین، کاهش سرعت در صورت منشاء سطوح بالا Apo B 48 از اهمیت بالایی برخوردار است [۳۰].

نتیجه گیری

سگته مغزی ایسکمیک یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر در سراسر جهان است. بنابراین، استفاده از نشانگرهای زیستی جدید برای تشخیص و درمان آن ضروری است. مطالعه حاضر نشان داد که غلظت سرمی ATG 5 و Apo B 48 به‌طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم است. بنابراین، غلظت سرمی Apo B 48 و پروتئین ATG 5 می‌تواند به عنوان نشانگرهای زیستی جدید برای پیش‌بینی یا تعدیل درمانی بیماران سگته مغزی ایسکمیک مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به اندازه کوچک جامعه مورد مطالعه، پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری در مقیاس بزرگ برای اعتبار سنجی بیشتر نتایج فعلی انجام شود. ارزیابی سایر پروتئین‌های اتوفازی در مراحل مختلف سگته مغزی ایسکمیک و ارتباط آن با استرس اکسیداتیو و پروفایل چربی غیرطبیعی ارزیابی نوع داروها و مکمل‌های غذایی مورد استفاده در افراد سالم و همچنین بیماران سگته مغزی ایسکمیک از اهمیت بالایی برخوردار است. بنابراین در مطالعات آتی پیشنهاد می‌شود این عوامل در نظر گرفته شوند.

تشکر و قدردانی

از تمامی همکارانی که در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز با محققین همکاری کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافی
در مطالعه حاضر وجود ندارد.

References

- 1- Neaton JD, Wentworth DN, Cutler J, Stamler J, Kuller L. Risk factors for death from different types of stroke. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Ann Epidemiol*. 1993 Sep;3(5):493-9.
- 2- Kim KY, Shin KY, Chang K-A. Potential Biomarkers for Post-Stroke Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci* 2022; 23(2):602. Hinkle JL, Guanci MM. Acute ischemic stroke review. *J neurosci nurs*. 2007 Oct 1;39(5):285-93.
- 3- Shademan B, Nourazarian A, Laghousi D, Karamad V, Nikanfar M. Exploring potential serum levels of Homocysteine, interleukin-1 beta, and apolipoprotein B 48 as new biomarkers for patients with ischemic stroke. *J Clin Lab Anal*. 2021 Oct;35(10):e23996.
- 4- Mattson MP, Duan W, Pedersen WA, Culmsee C. Neurodegenerative disorders and ischemic brain diseases. *Apoptosis*. 2001 Feb;6(1):69-81.
- 5- Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev*. 1999 Jan;79(4):1431-568.
- 6- Bano D, Nicotera P. Ca²⁺ signals and neuronal death in brain ischemia. *Stroke*. 2007 Feb;38(2):674-6.
- 7- Wang Y, Denisova JV, Kang KS, Fontes JD, Zhu BT, Belousov AB. Neuronal gap junctions are required for NMDA receptor-mediated excitotoxicity: Implications in ischemic stroke. *J Neurophysiol*. 2010 Dec;104(6):3551-6.
- 8- Zhang Y, Cao Y, Liu C. Autophagy and Ischemic Stroke. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1207:111-134..
- 9- Ajoolabady A, Aghanejad A, Bi Y, Zhang Y, Aslkhodapasandhukmabad H, Abhari A, et al. Enzyme-based autophagy in anti-neoplastic management: from molecular mechanisms to clinical therapeutics. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2020 Aug;1874(1):188366.
- 10- Ajoolabady A, Aslkhodapasandhokmabad H, Aghanejad A, Zhang Y, Ren J. Mitophagy receptors and mediators: therapeutic targets in the management of cardiovascular ageing. *Ageing Res Rev*. 2020 Sep; 62:101129.
- 11- Zhang Y, Sowers JR, Ren J. Targeting autophagy in obesity: from pathophysiology to management. *Nature Rev Endocrinol*. 2018 Jun;14(6):356-76.
- 12- Bar-Yosef T, Damri O, Agam G. Dual role of autophagy in diseases of the central nervous system. *Front Cell Neurosci*. 2019 May; 13:196.
- 13- Kriel J, Loos B. The good, the bad and the autophagosome: exploring unanswered questions of autophagy-dependent cell death. *Cell Death Differ*. 2019 Apr;26(4):640-52.
- 14- Galluzzi L, Pedro BS, Manuel J, Blomgren K, Kroemer G. Autophagy in acute brain injury. *Nature Rev Neurosci*. 2016 Aug;17(8):467-84.
- 15- Pan Q, Liu Y, Wang G, Wen Z, Wang Y. MTMR14 protects against cerebral stroke through suppressing PTEN-regulated autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 Sep;529(4):1045-52.
- 16- Zivin JA. Factors determining the therapeutic window for stroke. *Neurol*. 1998 Mar;50(3):599-603.
- 17- Furlan A, Higashida R, Wechsler L, Gent M, Rowley H, Kase C, et al. Intra-arterial prourokinase for acute ischemic stroke. The PROACT II study: a randomized controlled trial. *Prolyse in Acute Cerebral Thromboembolism*. *JAMA*. 1999 Dec;282(21):2003-11.
- 18- Brott T, Bogousslavsky J. Treatment of acute ischemic. *New Engl J Med*. 2000 Sep;343(10):710-722.
- 19- Wang N, Yang L, Zhang H, Lu X, Wang J, Cao Y, et al. MicroRNA-9a-5p alleviates ischemia injury after focal cerebral ischemia of the rat by targeting ATG5-mediated autophagy. *Cell Physiol Biochem*. 2018 ;45(1):78-87.

- 20- Li SP, He JD, Wang Z, Yu Y, Fu SY, Zhang HM, et al. miR-30b inhibits autophagy to alleviate hepatic ischemia-reperfusion injury via decreasing the Atg12-Atg5 conjugate. *World J Gastroenterol*. 2016 May;22(18):4501-4514.
- 21- Sprott D, Poitz DM, Korovina I, Ziogas A, Phielers J, Chatzigeorgiou A, et al. Endothelial-specific deficiency of ATG5 (autophagy protein 5) attenuates ischemia-related angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019 Jun;39(6):1137-48.
- 22- Han YF, Zhao YB, Li J, Li L, Li YG, Li SP, et al. Stat3-Atg5 signal axis inducing autophagy to alleviate hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Cell Biochem*. 2018 Apr;119(4):3440-50.
- 23- Yuan S, Tang B, Zheng J, Larsson SC. Circulating lipoprotein lipids, apolipoproteins and ischemic stroke. *Ann neurol*. 2020 Dec;88(6):1229-36.
- 24- Tian J, Chen H, Liu P, Wang C, Chen Y. Fasting apolipoprotein B48 is associated with large artery atherosclerotic stroke: a case-control study. *Sci Rep*. 2019 Mar;9(1):1-6.
- 25- Markišić M, Pavlović AM, Pavlović DM. The impact of homocysteine, vitamin B12, and vitamin D levels on functional outcome after first-ever ischaemic stroke. *Biomed Res Int*. 2017;2017:5489057.
- 26- Saidi S, Slamia LB, Ammou SB, Mahjoub T, Almawi WY. Association of apolipoprotein E gene polymorphism with ischemic stroke involving large-vessel disease and its relation to serum lipid levels. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2007 Jul;16(4):160-6.
- 27- Xi Y, Dhaliwal JS, Ceizar M, Vaculik M, Kumar KL, Lagace DC. Knockout of Atg5 delays the maturation and reduces the survival of adult-generated neurons in the hippocampus. *Cell death dis*. 2016 Mar;7(3):e2127.
- 28- Alirezaei M, Fox HS, Flynn CT, Moore CS, Hebb AL, Frausto RF, et al. Elevated ATG5 expression in autoimmune demyelination and multiple sclerosis. *Autophagy*. 2009 Feb;5(2):152-8.
- 29- Young SG. Recent progress in understanding apolipoprotein B. *Circulation*. 1990 Nov;82(5):1574-94.