# بررسی مکانیسم سکته ایسکمی با آنالیز پروتئوم مغز انسان

رقیه امیدی[1]، حکیمه زالی[2*]، مصطفی رضایی طاویرانی[1]، فرهاد مدارا[3]

1) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
2) دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
3) گروه مغز و اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: 91/11/16 تاریخ پذیرش: 92/1/20

## چکیده

***مقدمه***: سکته مغزی سومین عامل مرگ و میر در جهان است. در سکته ایسکمیک که در 85 تا90 درصد از موارد سکته مغزی مشاهده می شود، جریان خون مغزی به دلیل انسداد عروق خونی قطع می شود و یک پروسه بسیار پیچیده در سطح سلولی و بافت شروع می شود که اصطلاحاً آبشار ایسکمی نامیده می شود و نهایتاً منجر به آسیب بافتی و بروز سکته ایسکمیک می شود. رویکرد درمانی در این زمینه ضعیف است و شناخت بیشتر مکانیسم های ملکولی کمک موثرتری به تشخیص و درمان می کند. از ابزارهای ارزشمند در شناخت فرآیند های ملکولی درگیر در بیماری ها، استفاده از روش های پروتئومیکس است که یک تصویر کلی از پروتئین های بیان‌شده در سطح سلول یا بافت را برای ما فراهم می سازد و اطلاعات باارزشی را برای توصیف پروسه های بیولوژیکی در اختیار ما قرار می دهد.

***مواد و روش ها:*** در این مطالعه داده های حاصل از تغییرات پروتئوم مغز انسان در سکته ایسکمیک با استفاده از ژل الکتروفورز دو بعدی و طیف سنجی جرمی توسط برنامه DAVID مورد آنالیز قرار می گیرد. لیست ژن های مربوط به پروتئین های دارای بیان تغییر یافته از مقاله the proteome of human brain after ischemic stroke به دست آمد. یافته های به دست آمده توسط نرم افزار بیوانفورماتیکی DAVID مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ارتباط ژنی سکته ایسکمیک و سایر بیماری ها، خوشه بندی پروتئین های سکته بر اساس فرآیندهای بیولوژیک، جایگاه های درون سلولی و عملکردهای مولکولی از داده پایگاه GO انجام شد.

***یافته های پژوهش***: از 39 پروتئین شناسایی شده دخیل در سکته ایسکمیک 4 چارت مسیر بیولوژیکی به دست آمده، که در همراهی با بیماری های سیستم عصبی مرکزی هم چون پارکینسون، آلزایمر و هانتینگتون هستند. جایگاه بیشتر پروتئین ها در میتوکندری است و بیشتر پروتئین ها در فرآیندهای پاسخ اکسیداتیو و ایجاد نکروز و اپیتوز دخالت دارند.

***بحث و نتیجه گیری***: داده های حاصل از آزمایش های پروتئومیکس بر مبنای ژل الکتروفورز دو بعدی، نقش به سزایی را در درک پروسه ای که در طی سکته ایسکمیک اتفاق می افتد، دارند. شناسایی پروتئین ها می تواند به عنوان هدف های درمانی یا مارکرهای بیولوژیکی برای تشخیص و پیش بینی احتمال وقوع سکته مغزی مورد استفاده قرار گیرند.

**واژه های کلیدی:** الکتروفورز دو بعدی، سکته ایسکمیک، برنامه DAVID، پروتئوم

* **نویسنده مسئول:** دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

***Email:*** hakimehzali@yahoo.com



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

**مقدمه**

سکته مغزی بعد از انفارکتوس میوکارد و سرطان سومین عامل مرگ و میر و شایع ترین علت معلولیت دائم در بزرگسالان در سراسر جهان است،(1). ایسکمی مغزی می تواند منجر به اختلالات حرکتی، نقایص حسی، نقایص مربوط به بینایی و اختلال در تکلم گردد. از دیدگاه پاتوفیزیولوژی دو مکانیسم برای سکته مغزی وجود دارد: ایسکمی و خونریزی،(2)، در سکته ایسکمی که در 85 تا 90 درصد از موارد سکته مغزی مشاهده می شود،(3)، جریان خون مغزی به دلیل انسداد عروق خونی قطع می شود،(2)، و یک پروسه بسیار پیچیده در سطح سلولی و بافت شروع می شود که اصطلاحاً آبشار ایسکمی نامیده می شود که نهایتاً منجر به آسیب بافتی و بروز سکته ایسکمیک می شود،(۴،۵). با توجه به شدت ایسکمی در بافت مغز سلول های عصبی توسط دو مکانیسم آپوپتوز و نکروز دچار مرگ سلولی می شوند به طوری که در نواحی با ایسکمی شدید سلول ها دچار نکروز می شوند که همراه است با از دست دادن هوموستازی کلسیم و گلوتامات در سلول و در نواحی با ایسکمی خفیف سلول ها دچار آپوپتوزیس می شوند که به فعال شدن توالی های ژنی خاصی وابسته است،(6-8). یکی از اهداف تحقیقات در دهه گذشته تعیین مکانیسم هایی است که در شرایط اختلال در گردش خون و اتمام ذخایر انرژی در سلول، منجر به مرگ سلول می شوند،(9). امروزه اطلاعات زیادی از توالی های DNA در بانک های اطلاعاتی ذخیره سازی شده است اما از آن جائی که ارتباط خطی ثابتی بین ژن و اجزاء پروتئینی یا پروتئوم یک سلول وجود ندارد پژوهشگران دریافته اند که صرفاً داشتن توالی کامل از ژنوم موجود زنده برای روشن شدن عملکرد بیولوژیکی کافی نیست از این رو استفاده از پروتئومیکس تقریباً از سال 1970 یعنی زمانی که پژوهشگران شروع به ساخت بانک های اطلاعاتی از پروتئین ها کردند، آغاز شد. و از آن جائی که پروتئومیکس عملکرد ژن را در سطح پروتئین مورد مطالعه قرار می دهد در واقع نقش مکمل را برای مطالعات ژنومیکس فراهم کرده است. یکی از ابزار رایج در مطالعات پروتئومیکسی استفاده از ژل الکتروفورز 2 بعدی و طیف سنجی جرمی است که یک تصویر کلی از پروتئین های بیان شده در سطح سلول یا بافت را برای ما فراهم می سازد و اطلاعات باارزشی را برای توصیف پروسه های بیولوژیکی در اختیار ما قرار می دهد،(10-13). در سال 2010 cuadrado و همکاران برای اولین بار پروتئوم مغز 6 انسان را که در اثر ایسکمی مغزی دچار مرگ شده بودند را در 3 ناحیه بافتی از مغز این افراد با استفاده از ژل الکتروفورز 2 بعدی مورد مطالعه قرار دادند که این نواحی شامل بخش دچار انفارکتوس شده، ناحیه نیم سایه و بافت قسمت های نرمال مغز بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که 132 پروتئین در بافت در معرض ایسکمی دارای بیان متفاوتی در مقایسه با بافت نرمال داشت که از این تعداد، 42 پروتئین توسط طیف سنجی جرمی مورد بررسی قرار گرفت که چند عدد از این تعداد مربوط به ایزوفرم های یک پروتئین بودند که در نهایت 39 پروتئین شناسایی شد. داده های پروتئینی مورد بررسی نشان داد که آلبومین در ناحیه انفارکتوس بیشترین میزان افزایش در بیان و هم چنین اکتین بیشترین میزان کاهش در بیان را در مقایسه با بافت نرمال داشته است. مقایسه نتایج حاصل از ناحیه انفارکتوس و بخش نیم سایه نشان داد که GFAD در منطقه انفارکتوس در مقایسه با بخش نیم سایه دارای بیان بالایی است آن ها اظهار داشتند که تفاوت کمی در بیان پروتئین ها در دو ناحیه انفارکتوس و نیم سایه وجود دارد،(14). در این مطالعه نیز داده های پروتئوم مغز انسان بعد سکته ایسکمیک(39 پروتئین شناسایی شده) حاصل از مطالعه ذکر شده با استفاده از برنامه DAVID مورد آنالیز قرار می گیرد. برنامه DAVID از کارآمدترین برنامه های آنالیز ژنوم و پروتئوم است که توانایی جستجو و مطالعه ژن های مرتبط باهم را به صورت یک واحد در قالب شبکه های بیولوژیکی بزرگ تر نسبت به مطالعه ژن ها به صورت جداگانه برای محقق فراهم می نماید. اساس گروه بندی بر پایه عملکرد مشابه، کلاسترینگ ژن ها در گروه های مجزایی است که هر گروه دارای عملکردی یکسان هستند. این برنامه هم چنین دارای



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

پایگاه اطلاعاتی است که می توان ارتباط بیان ژن ها با بیماری ها، مسیرهای بیولوژیک، نوع سکانس، هومولوژی و بیان بافتی ژن ها را مورد بررسی قرار داد،(20-15). در این مطالعه نیز داده های پروتئوم سکته توسط برنامهDAVID مورد آنالیز قرار می‌گیرد تا علت بیولوژیک ایجاد بیماری در سطح مولکولی آشکار شود و مسیرهای بیولوژیکی اصلی دخیل در پاتولوژی سکته کشف شود.

## مواد و روش ها

*داده ها*

لیست ژن های مربوط به پروتئین های دارای بیان تغییر یافته از مقاله the proteome of human brain after ischemic stroke به دست آمد که در سال 2010 توسط cuadrado و همکاران انجام شده است. آن ها برای اولین بار پروتئوم مغز 6 انسان را که در اثر ایسکمی مغزی دچار مرگ شده بودند را در 3 ناحیه بافتی از مغز این افراد با استفاده از ژل الکتروفورز 2 بعدی مورد مطالعه قرار دادند که این نواحی شامل بخش دچار انفارکتوس شده، ناحیه نیم سایه و بافت قسمت های نرمال مغز بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که 132 پروتئین در بافت در معرض ایسکمی دارای بیان متفاوتی در مقایسه با بافت نرمال داشت که از این تعداد، 42 پروتئین توسط طیف سنجی جرمی مورد بررسی قرار گرفت که چند عدد از این تعداد مربوط به ایزوفرم های یک پروتئین بودند که در نهایت 39 پروتئین شناسایی شد،(14). در این مطالعه از 39 پروتئین برای انجام آنالیز پروتئوم استفاده می شود.

*روش های تجزیه و تحلیل داده ها*

DAVID پایگاه داده ای برای حاشیه نویسی و تصویرسازی ادغام شده از منابع بیوانفورماتیک است و متشکل از یک پایگاه جامع دانش زیستی و مجموعه ای جامع از ابزار تحلیلی برای استخراج ویژگی های بیولوژیکی از لیست های بزرگ ژنی و پروتئینی به دست آمده از مطالعات ژنومیکی و پروتئومیکی است. از مزایای این برنامه استفاده از 22 نوع ID ژنی مختلف و بیش از 40 حاشیه نویسی عملکردی شناخته شده از ده ها پایگاه داده عمومی می باشد. از جمله داده پایگاه های مهم مورد استفاده در برنامه شامل LocusLink، PIR، GeneCards، KEGG، Ensembl، و Prot Swiss-هستند. هر کاربر بر حسب نوع مطالعه و هدف تحقیق می تواند یکی از این پایگاه داده ها را انتخاب نماید و برنامه DAVID نیز فقط در آن پایگاه داده به جستجوی هدف بپردازد. با پیشرفت مجموعه ای از الگوریتم های جدید مانند ابزار کلاس بندی عملکردی ژنی، ابزار کلاسترینگ حاشیه نویسی عملکردی، ابزار جستجوی خطی، جستجوگرDAVID را قادر ساخته است تا در پایگاه داده ای KEGG ، BioCarta و غیره ارتباط بیولوژیکی ژن ها را به صورت پویا تصویرسازی نماید.(19-14)

برنامه DAVID به صورت رایگان از طریق سایت http://david.abcc.ncifcrf.gov/ قابل دسترس است. از برنامه DAVID نتایج مختلفی را می توان به دست آورد که بر حسب معنی داری آماری(P و Benjamin) از آن ها جهت تفسیر ارتباط سکته مغزی و ست های ژنی استفاده نمود.

*ابزارهای مورد استفاده در این مطالعه شامل:*

1-وارد نمودن پروتئین ها تغییر یافته در سکته به برنامه DAVID و گرفتن لیست ژنی از ID ژن های موجود در بیماری است.

2-پایگاه داده KEGG در بین پایگاه داده های موجود در DAVID جهت کشف مسیرهای بیولوژیکی انتخاب نموده و نتیجه آن شناسایی تعداد چارت های مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با بیماری خواهد بود.

3-خوشه بندی بر اساس فرآیندهای بیولوژیک، جایگاه های درون سلولی و عملکردهای مولکولی از داده پایگاه GO، خوشه های پروتئینی را نشان می دهد.

## یافته های پژوهش

در سال 2010 cuadrado و همکاران برای اولین بار پروتئوم مغز انسان را در شرایط حمله ایسکمی مغزی با استفاده از روش الکتروفورز 2 بعدی و طیف سنجی جرمی مورد مطالعه قرار دادند،(14). در این مطالعه داده های حاصل از پروتئین های شناسایی



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

شده ذکر شده در سکته ایسکمیک توسط برنامه DAVID مورد بررسی قرار گرفت. 39 پروتئین از پروتئین های شناسایی شده جهت کشف رابطه ژن و بیماری توسط برنامه DAVID مورد آنالیز قرار گرفت. جدول شماره 1 تعدادی از ژن های بیان شده در فرآیند ایسکمی مغزی را معرفی می‌کند.

مسیرهای بیولوژیک KEGG مجموعه ای از نقشه های دستی مسیرهای کشیده شده است که بیانگر دانش ما در بر هم کنش های مولکولی و شبکه های تعاملی برای انواع هدف های مطالعات ژنومی، پروتئومی و متابولومی، پردازش اطلاعات ژنتیکی، پردازش اطلاعات زیست محیطی، فرآیندهای سلولی و بیماری های انسان می باشد. با انتخاب پایگاه داده KEGG در بین پایگاه داده های موجود در DAVID جهت کشف مسیرهای بیولوژیکی، تعداد چارت های مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با سکته ایسکمیک شناسایی شد که نتایج آن در جدول شماره 2 آمده است. در مجموع 4 چارت به دست آمد که در همراهی با بیماری های سیستم عصبی مرکزی هستند. خوشه بندی بر اساس فرآیندهای بیولوژیک از داده پایگاه GO 8 کلاستر پروتئینی را در جدول شماره 3 نشان می دهد.

خوشه بندی بر اساس جایگاه درون سلولی از داده پایگاه GO 6 کلاستر پروتئینی را در جدول شماره 4 نشان می دهد. خوشه بندی بر اساس عملکرد مولکولی از داده پایگاه GO 4 کلاستر پروتئینی را در جدول شماره 5 نشان می دهد.

**جدول شماره 1 . لیست تعدادی از ژن های مربوط به پروتئین های شناسایی‌شده در سکته ایسکمیک**

| UNIPROT-ACCESSION | GENE NAME |
|---|---|
| Q6IAV5 | 3-oxoacid CoA transferase 1 |
| P06576 | ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide |
| P31150 | GDP dissociation inhibitor 1 |
| Q14847 | LIM and SH3 protein 1 |
| P46459 | N-ethylmaleimide-sensitive factor |
| P28331 | NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 1, 75kDa (NADH-coenzyme Q reductase) |
| P52565 | Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) alpha |
| O15144 | actin related protein 2/3 complex, subunit 2, 34kDa |
| P63261 | actin, gamma 1 |
| P02768 | albumin |
| P05091 | aldehyde dehydrogenase 2 family (mitochondrial) |
| P30038 | aldehyde dehydrogenase 4 family, member A1 |

**جدول شماره 2. تعداد چارت های مسیر های بیولوژیکی(موجود در پایگاه داده KEGG) مرتبط با سکته مغزی**

| Annotation Cluster | Enrichment Score 1.16 | Count | P | Benjamini |
|---|---|---|---|---|
| KEGG_PATHWAY | Parkinson's disease | 4 | 2.1E-2 | 3.2E-1 |
| KEGG_PATHWAY | Alzheimer's disease | 4 | 4.0E-2 | 4.2E-1 |
| KEGG_PATHWAY | Oxidative phosphorylation | 3 | 1.2E-1 | 7.0E-1 |
| KEGG_PATHWAY | Huntington's disease | 3 | 2.1E-1 | 8.3E-1 |

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

**جدول شماره 3. خوشه بندی بر اساس فرآیندهای بیولوژیک از داده پایگاه GO**

| Annotation Cluster 1 | Enrichment Score:2.65 | Count | P | Benjamin |
|---|---|---|---|---|
| GOTERM_BP_FAT | energy derivation by oxidation of organic compounds | 5 | 4.5E-4 | 1.3E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | oxidation reduction | 8 | 8.9E-4 | 1.7E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | cellular respiration | 4 | 1.8E-3 | 2.0E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | electron transport chain | 3 | 3.3E-2 | 5.8E-1 |
| Annotation Cluster 2 | Enrichment Score: 2.47 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | generation of precursor metabolites and energy | 9 | 8.1E-7 | 5.0E-4 |
| GOTERM_BP_FAT | cellular carbohydrate catabolic process | 4 | 1.2E-3 | 1.8E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | carbohydrate catabolic process | 4 | 2.5E-3 | 2.3E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | glycolysis | 3 | 6.2E-3 | 3.2E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | glucose metabolic process | 4 | 6.6E-3 | 3.1E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | glucose catabolic process | 3 | 9.3E-3 | 3.6E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | hexose metabolic process | 4 | 1.2E-2 | 4.2E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | hexose catabolic process | 3 | 1.3E-2 | 4.2E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | monosaccharide catabolic process | 3 | 1.4E-2 | 4.1E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | alcohol catabolic process | 3 | 1.8E-2 | 4.6E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | monosaccharide metabolic process | 4 | 1.8E-2 | 4.5E-1 |
| Annotation Cluster 3 | Enrichment Score: 2.1 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | response to metal ion | 4 | 4.1E-3 | 2.7E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to calcium ion | 3 | 8.4E-3 | 3.5E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to inorganic substance | 4 | 1.5E-2 | 4.2E-1 |
| Annotation Cluster 4 | Enrichment Score: 1.63 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | response to organic cyclic substance | 4 | 3.4E-3 | 2.6E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to oxygen levels | 4 | 5.2E-3 | 3.0E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to organic substance | 6 | 3.3E-2 | 5.9E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to hypoxia | 3 | 4.4E-2 | 6.6E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to endogenous stimulus | 3 | 2.7E-1 | 9.9E-1 |
| Annotation Cluster 5 | Enrichment Score: 1.05 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | chemical homeostasis | 5 | 3.8E-2 | 6.2E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | cellular ion homeostasis | 4 | 6.7E-2 | 8.0E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | cellular chemical homeostasis | 4 | 6.9E-2 | 8.0E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | ion homeostasis | 4 | 8.2E-2 | 8.3E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | cellular homeostasis | 4 | 1.1E-1 | 9.0E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | homeostatic process | 5 | 1.2E-1 | 9.1E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | cellular cation homeostasis | 3 | 1.3E-1 | 9.2E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | cation homeostasis | 3 | 1.6E-1 | 9.4E-1 |
| Annotation Cluster 6 | Enrichment Score: 0.96 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | acute inflammatory response | 3 | 2.5E-2 | 5.3E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | response to wounding | 4 | 1.5E-1 | 9.3E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | inflammatory response | 3 | 2.0E-1 | 9.7E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | defense response | 4 | 2.0E-1 | 9.7E-1 |
| Annotation Cluster 7 | Enrichment Score: 0.53 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | oxidative phosphorylation | 3 | 2.5E-2 | 5.3E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | phosphorylation | 3 | 6.1E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_BP_FAT | phosphorus metabolic process | 3 | 7.1E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_BP_FAT | phosphate metabolic process | 3 | 7.1E-1 | 1.0E0 |
| Annotation Cluster 8 | Enrichment Score: 0.52 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_BP_FAT | macromolecular complex assembly | 4 | 2.3E-1 | 9.8E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | macromolecular complex subunit organization | 4 | 2.6E-1 | 9.9E-1 |
| GOTERM_BP_FAT | protein complex biogenesis | 3 | 3.6E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_BP_FAT | protein complex assembly | 3 | 3.6E-1 | 1.0E0 |

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

**جدول شماره 4 . خوشه بندی بر اساس جایگاه درون سلولی از داده پایگاه GO**

| Annotation Cluster 1 | Enrichment Score: 2.7 | Count | P | Benjamin |
|---|---|---|---|---|
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial part | 10 | 2.3E-5 | 3.3E-3 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrion | 12 | 9.9E-5 | 7.1E-3 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial matrix | 6 | 3.6E-4 | 1.7E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial lumen | 6 | 3.6E-4 | 1.7E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | membrane-enclosed lumen | 11 | 2.4E-2 | 1.6E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | organelle lumen | 10 | 5.2E-2 | 2.5E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | intracellular organelle lumen | 7 | 3.6E-1 | 8.1E-1 |
| Annotation Cluster 2 | Enrichment Score: 2.42 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial part | 10 | 2.3E-5 | 3.3E-3 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrion | 12 | 9.9E-5 | 7.1E-3 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial inner membrane | 6 | 1.4E-3 | 2.8E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | organelle inner membrane | 6 | 1.9E-3 | 2.4E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial membrane | 6 | 4.1E-3 | 4.5E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial envelope | 6 | 5.3E-3 | 5.3E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | organelle envelope | 6 | 2.6E-2 | 1.6E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | envelope | 6 | 2.6E-2 | 1.6E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | mitochondrial membrane part | 3 | 4.6E-2 | 2.3E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | organelle membrane | 6 | 1.8E-1 | 5.8E-1 |
| Annotation Cluster 3 | Enrichment Score: 2.35 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_CC_FAT | cytoplasmic membrane-bounded vesicle | 8 | 6.2E-4 | 2.2E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | membrane-bounded vesicle | 8 | 7.5E-4 | 1.8E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | secretory granule | 5 | 1.4E-3 | 2.5E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | cytoplasmic vesicle | 8 | 1.5E-3 | 2.2E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | vesicle | 8 | 2.0E-3 | 2.3E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | extracellular space | 7 | 9.9E-3 | 7.7E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | extracellular region part | 7 | 4.4E-2 | 2.3E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | extracellular region | 9 | 1.7E-1 | 5.9E-1 |
| Annotation Cluster 4 | Enrichment Score: 1.98 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_CC_FAT | secretory granule | 5 | 1.4E-3 | 2.5E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | platelet alpha granule lumen | 3 | 5.6E-3 | 5.2E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | cytoplasmic membrane-bounded vesicle lumen | 3 | 6.4E-3 | 5.6E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | vesicle lumen | 3 | 7.0E-3 | 5.8E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | extracellular space | 7 | 9.9E-3 | 7.7E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | platelet alpha granule | 3 | 1.0E-2 | 7.5E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | extracellular region part | 7 | 4.4E-2 | 2.3E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | cytoplasmic vesicle part | 3 | 9.3E-2 | 3.9E-1 |
| Annotation Cluster 5 | Enrichment Score: 1.53 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_CC_FAT | cell cortex | 5 | 6.5E-4 | 1.9E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | cell cortex part | 4 | 1.5E-3 | 2.4E-2 |
| GOTERM_CC_FAT | cytoskeleton | 9 | 3.0E-2 | 1.7E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | actin cytoskeleton | 4 | 3.7E-2 | 2.0E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | cytoskeletal part | 5 | 2.6E-1 | 7.1E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | intracellular non-membrane-bounded organelle | 10 | 2.7E-1 | 7.2E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | non-membrane-bounded organelle | 10 | 2.7E-1 | 7.2E-1 |
| Annotation Cluster 6 | Enrichment Score: 0.27 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_CC_FAT | cell fraction | 5 | 3.4E-1 | 8.0E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | membrane fraction | 3 | 6.6E-1 | 9.8E-1 |
| GOTERM_CC_FAT | insoluble fraction | 3 | 6.8E-1 | 9.8E-1 |

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

**جدول شماره 5. خوشه بندی بر اساس عملکرد ملکولی از داده پایگاه GO**

| Annotation Cluste 1 | Enrichment Score: 1.88 | Count | P | Benjamin |
|---|---|---|---|---|
| GOTERM_MF_FAT | cofactor binding | 5 | 5.3E-3 | 3.8E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | vitamin B6 binding | 3 | 1.0E-2 | 4.6E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | pyridoxal phosphate binding | 3 | 1.0E-2 | 4.6E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | vitamin binding | 3 | 5.3E-2 | 8.5E-1 |
| Annotation Cluste 2 | Enrichment Score: 1.01 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_MF_FAT | serine-type endopeptidase activity | 3 | 7.1E-2 | 8.9E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | peptidase activity | 5 | 7.9E-2 | 8.8E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | endopeptidase activity | 4 | 9.0E-2 | 8.8E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | serine-type peptidase activity | 3 | 9.1E-2 | 8.5E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | serine hydrolase activity | 3 | 9.3E-2 | 8.2E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | peptidase activity, acting on L-amino acid peptides | 4 | 2.0E-1 | 9.3E-1 |
| Annotation Cluste 3 | Enrichment Score: 0.35 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_MF_FAT | ATPase activity, coupled | 3 | 1.8E-1 | 9.2E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | ATPase activity | 3 | 2.5E-1 | 9.5E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | nucleotide binding | 9 | 3.0E-1 | 9.7E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | purine ribonucleotide binding | 7 | 4.3E-1 | 9.9E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | ribonucleotide binding | 7 | 4.3E-1 | 9.9E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | purine nucleotide binding | 7 | 4.7E-1 | 9.9E-1 |
| GOTERM_MF_FAT | ATP binding | 5 | 6.2E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | adenyl ribonucleotide binding | 5 | 6.3E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | adenyl nucleotide binding | 5 | 6.7E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | purine nucleoside binding | 5 | 6.9E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | nucleoside binding | 5 | 6.9E-1 | 1.0E0 |
| Annotation Cluste 4 | Enrichment Score: 0.09 | Count | P | Benjamin |
| GOTERM_MF_FAT | metal ion binding | 11 | 7.9E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | cation binding | 11 | 8.0E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | ion binding | 11 | 8.2E-1 | 1.0E0 |
| GOTERM_MF_FAT | transition metal ion binding | 7 | 8.4E-1 | 1.0E0 |

## بحث و نتیجه گیری

با وجود پیشرفت های بسیاری که در جهت فهم مکانیسم سکته ایسکمیک صورت گرفته است، رویکردهای درمانی در این زمینه هم چنان محدود باقی مانده است شناخت بیشتر مکانیسم های ملکولی سکته کمک می کند تا در تشخیص زود هنگام و کاهش عوارض ناشی از سکته و حتی درمان آن پیشرفت هایی صورت گیرد. در سال 2010 cuadrado و همکاران برای اولین بار پروتئوم مغز 6 انسان را که در اثر ایسکمی مغزی دچار مرگ شده بودند را در 3 ناحیه بافتی از مغز این افراد با استفاده از ژل الکتروفورز 2 بعدی مورد مطالعه قرار دادند که این نواحی شامل بخش دچار انفارکتوس شده، ناحیه نیم سایه و بافت قسمت های نرمال مغز بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که 132 پروتئین در بافت در معرض ایسکمی دارای بیان متفاوتی در مقایسه با بافت نرمال داشت که از این تعداد، 39 پروتئین توسط طیف سنجی جرمی مورد شناسایی قرار گرفت و در بین پروتئین هایی که میزان بیان آن ها به طور معنی داری تغییر یافته بود 10 پروتئین با استفاده از روش وسترن بلات مورد تایید قرار گرفت داده های پروتئینی مورد بررسی نشان داد که آلبومین در ناحیه انفارکتوس بیشترین میزان افزایش در بیان و هم چنین اکتین بیشترین میزان کاهش در بیان را در مقایسه با بافت نرمال داشته است. مقایسه نتایج حاصل از ناحیه انفارکتوس و بخش نیم سایه نشان داد که GFAD دارای بیان بالایی در منطقه انفارکتوس در مقایسه با بخش نیم سایه است. آن ها اظهار داشتند که تفاوت کمی در بیان پروتئین ها در دو ناحیه انفارکتوس و



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

نیم سایه وجود دارد. در این مطالعه داده های حاصل از آزمایش cuadrado و همکاران با استفاده از برنامه DAVID مورد آنالیز قرار می گیرد. آنالیز پروتئوم با این برنامه کمک می کند تا پروتئین های پروتئوم سکته را با هم و به صورت گروه های پروتئینی مورد مطالعه قرار دهیم. جدول شماره 1 لیست تعدادی از ژن های مرتبط با پروتئین های مورد مطالعه قرار گرفته در این مقاله را نشان می دهد که 39 ژن در ارتباط با این بیماری مورد شناسایی قرار گرفته است. بررسی مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با سکته ایسکمیک مطابق جدول شماره 2 چهار چارت را نشان می دهد که پروتئین های دخیل در سکته در همراهی با بیماری های سیستم عصبی مرکزی هستند.

پاتوفیزیولوژی پیچیده سکته مغزی دربرگیرنده مکانیزم های اکسیکوتوکسیکی، مسیرهای التهابی، خسارات اکسیداتیو و عدم تعادل یونی در سلول های عصبی مغز است. مکانیسم های متفاوتی که در صدمه به بافت مغز دخالت دارند در دو مرحله ایسکمی که به دلیل کاهش جریان خون در موضع مربوطه ایجاد می‌شود ، و در مرحله بعد رپرفیوژن نامیده می‌شود که در اثر بازگشت جریان خون به بافت بعد از مدت زمانی از ایسکمی ایجاد می شود. با ضربه ایسکمیک و محرومیت بافت مغز از اکسیژن و گلوکز سلول عصبی دچار کاهش ذخیره انرژی می شود و پروسه های وابسته به انرژی که برای بقاء سلول لازم است دچار اختلال می شود،(۳،۵)، و در پی آن اختلالاتی در سطح ساختار و عملکرد اجزای سلولی ایجاد می شود که از آن جمله می توان به موارد اختلال در عملکرد میتوکندری، اختلال در فعالیت پمپ های یونی در غشاء پلاسمایی و عدم تعادل یون ها و آسیب های ناشی از آن زیر اشاره کرد. علاوه بر این پرفیوژن مجدد نیز باعث ضایعات ساختمانی و عملکردی در بافت مغز می شود که مجموع این ضایعات به RI (Reperfusion injury) موسوم است،(2). این ضایعات به طور عمده توسط 2 مکانیسم افزایش واکنش های التهابی و ایجاد استرس اکسیداتیو ایجاد می شود. در واقع در بافت مغز بعد از ایسکمی-رپرفیوژن ترکیبی از نفوذپذیری عروق، افزایش سیگنالینگ سلولی و افزایش نفوذ لکوسیت های در حال گردش به بافت آسیب دیده اتفاق می افتد. تقریباً 3 دقیقه بعد از ایسکمی و رپرفیوژن لکوسیت ها سریع به محل ایسکمی می روند که باعث پاسخ التهابی می شوند این پاسخ التهابی هم در مدل های تجربی و هم در اطلاعات به دست آمده از نمونه های انسانی مشاهده شده است که عمدتاً در تخریب بافت و ارگان دخالت دارند،(۵،۶،۹). همه اتفاقات رخ داده شده به دنبال سکته در سطح ملکولی مورد توجه است که با توجه به آنالیز انجام شده، خوشه های ژنی دسته بندی شده در جدول شماره 3 بر اساس فرآیندهای بیولوژیک موجود در داده پایگاه GO 8 کلاستر پروتئینی را که بیانگر بیان ژنی در فرآیند ایجاد سکته است نشان می دهد. خوشه ها بیانگر پروتئین هایی هستند که در فرآیندهای انرژی سلول، پاسخ به یون های فلزی، تولید پیش سازه های متابولیکی، فسفریلاسیون اکسیداتیو و فرآیندهای پاسخ به التهاب و هموستازی شیمیایی دخالت دارند. پژوهش هایی که در رابطه با بررسی تغییرات بیان ژن ها در سکته ایسکمیک بر روی موش ها صورت گرفته است نیز نشان داده که در طی هفت روز پس از سکته ایسکمیک 12 گروه ژنی دارای بیشترین تغییرات در میزان بیان نسبت به شرایط کنترل داشته اند که شامل ژن های مربوط به گروه های عملکردی immediate early gene، رونویسی، پروتئین های شوک حرارتی، التهابی، آپوپتوزیس، اسکلت سلولی، متابولیسم، فاکتورهای رشد، مسیرهای انتقال پیام، کانال های یونی، گیرنده انتقال دهنده های عصبی و ژن پروتئین های سیناپسی بوده است.(21)

محققان دریافته اند ژن p53 که رایج ترین ژن جهش یافته در بروز سرطان است، نقش جدیدی نیز در بروز سکته مغزی ناشی از کم خونی مغز(ایسکمی) دارد. کروز شکل برگشت ناپذیر مرگ بافت است و این روند موجب بروز کم خونی مغز و فشار اکسیداتیو می شود. آسیب اکسیداتیو مرتبط با ایسکمی به نکروز برگشت ناپذیر منجر می شود که عامل اصلی از دست دادن بافت مغز و بروز معلولیت های جبران نشدنی است. توضیح ساز و کار سیگنال دهی از اهمیت به



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

سزایی برخوردار است. ژن p53 یک حسگر مرکزی فشار سلولی است که به رویدادهای چندگانه از جمله فشار اکسیداتیو پاسخ می دهد و هم چنین خودکشی سلولی را هماهنگ می کند. ژن p53 نقش مهم و غیر منتظره ای در فعال سازی نکروز دارد. در واکنش به فشار اکسیداتیو در سلول های سالم، این ژن در میتوکندری تجمع می یابد و موجب باز شدن یک سری منافذ در غشای داخلی میتوکندری می شود. این اقدام موجب فروپاشی شیب الکتروشیمیایی و در نتیجه نکروز سلولی می شود.(22)

همان طور که نتایج خوشه بندی های بالا نشان داد پروتئین های جایگاه های متفاوتی از سلول در فرآیند سکته دخالت دارند که 6 کلاستر پروتئینی بر اساس داده پایگاه GO در جدول شماره 4 نشان می دهد. مهم ترین بخش های سلولی درگیر در بیماری به ترتیب شامل میتوکندری، غشاء سلولی، گرانول های ترشحی و سطح سلولی است. قابل توجه است که پروتئین های میتوکندری نقش بسیار فعالی در فرآیند سکته داشته است. افت اکسیژن سبب افزایش ناگهانی مواد زائد متابولیک شده که باعث آسیب به غشای سلولی و هم چنین به میتوکندری می شود و بازگرداندن مجدد جریان خون به طور قابل توجهی به این آسیب ها می افزاید که یک مشکل جدی پزشکی در درمان بیماری های مهم ایسکمیک مانند حمله قلبی و سکته مغزی است. تزریق مجدد جریان خون سبب تولید رادیکال های آزاد و انواع اکسیژن واکنشی می شود که سبب حمله و آسیب به سلول ها، تشدید التهاب می شود بنا بر این مشاهده می شود یکی از اندامک هایی که پس از سکته میزان فعالیت آن تغییر می کند میتوکندری است که هم در نقش حفاظتی و هم پاسخ به آسیب های وارده عمل می کند.(۶،۷)

جدول شماره 5 خوشه های پروتئینی بر اساس عملکرد مولکولی را نشان می دهد که در فرآیند سکته دخالت دارند که مهم ترین عملکردهای مولکولی هر خوشه به ترتیب شامل cofactor binding، serine-type endopeptidase activity ، ATPase activity, coupled و metal ion binding است. افت اکسیژن، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز و نکروزی که به دنبال ایجاد سکته آغاز می شود باعث آسیب برگشت ناپذیری می گردد که شناسایی این خوشه های پروتئینی درگیر در فرآیند مرگ سلولی می توانند هدفی جهت کشف داروها و موادی باشد که باعث مهار این پروتئین ها و مهار نکروز و آپوپتوز سلول ها گردد که می تواند عوارض ناشی از سکته را کاهش دهد.

## سپاسگزاری

این مطالعه برگرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد رقیه امیدی است.از مرکز تحقیقات پروتئومیکس دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که در اجرای پروژه همکاری داشتند تشکر می گردد.

*References*

1-Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM. Stroke. Lancet 2008;371:1612-23.

2-Toole JF. Brain infarction: Pathophysiology, clinical feature and management cerebrovascular disorders. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.

3-Prabal D, Suash S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. Pathophysiol 2010;17:197-218.

4-Durai PJ. Re-canalization in acute ischemic stroke: The strategies. Neurol India 2009;57:20-7.

5-Douglas L, Tayseer C, Hamid R. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury. Transplant Rev (Orlando) 2009;23:1-10.

6-Hakim A. Physiology and pathology of cerebral ischemia. Rev Neurol (Paris) 1999; 155:631-7.

7-Tarkowski E, Rosengren L, Blomstrand C, Jensen C, Ekholm S, Tarkowski A. Intrathecal expression of proteins regulating apoptosis in acute stroke. Stroke 1999;30: 321-7.

8-Steven H, Robert W. Molecular pathophysiology of stroke. Neuropsychopharmacol 2009;5:132-9.

9-Air EL, Kissela BM. Diabetes, the metabolic syndrome, and ischemic stroke: epid-



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

emiology and possible mechanisms. Diabetes Care 2007;30:3131-40.
10-Aebersold R, Mann M. Mass spectrumetry-based proteomics. Nature 2003;422: 198-207.
11-Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. Nature 200;405:138-42.
12-Manabe T. Analysis of complex protein-polypeptide systems for proteomic studies. Chromatography 2003;787:29-41.
13-Colantonio D, Chan D. The clinical appllication of proteomics: Clinica Chimica Acta 2005;357:151-8.
14-Cuadrado E, Rosell A. The proteome of human brain after ischemic stroke. Neuropathol Exp Neurol 2010;69:11-8.
15-Da WH, Brad TS, Richard A L. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nature Protocols 2009;4:46-51.
16-Sherman BT. DAVID knowledgebase: a gene-centered database integrating heterogeneous gene annotation resources to facilitate high-throughput gene functional analysis. BMC Bioinform 2007;8:426-32.
17-Dennis G. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery. Genome Biol 2003;4:53-9.
18-Hosack DA. Identifying biological themes within lists of genes with EASE. Genome Biol 2003;4:R70.
19-Huang DW. DAVID bioinformatics resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists. Nucleic Acids Res 2007;35:W169-W75.
20-Huang DW. The DAVID gene functional classification tool: a novel biological module-centric algorithm to functionally analyze large gene lists. Genome Biol 2007b;8:R183.
21-Lu M, Williams A, Yao C, Berti R, Hartings J, Whipple R, Vahey M, et al. Microarray analysis of acute and delayed gene expression profile in rats after focal ischemic brain injury and reperfusion. Neurosci Res2004;77:843-57.
22-Leker RR, Aharonowiz M, Greig N-H, Ovadia H. The role of p53-induced apoptosis in cerebral ischemia: effects of the p53 inhibitor pifithrin alpha. Exp Neurol 2004;187:478-86.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]

# Investigation of Ischemic Stroke Mechanism by Analyzing Human Brain Proteome

*Omidi R[1], Zali H[2*], Rezaei Tavirani M[1], Modara F[3]*

**(Received: 4 Feb. 2013 Accepted: 9 Aprl. 2013)**

## Abstract

*Introduction:* Stroke is the third cause of death in the world. Ischemic stroke can be observed in the 85 to 90% of strokes. In the condition, cerebral blood flow due to the blockage of blood vessels is interrupted and a very complex process, literally called the cascade of ischemic, begins to occur at the cellular and tissue level, which eventually leads to tissue damage and the expression of ischemic stroke. Approaches in this area are weak and a further knowledge of the molecular mechanisms contributing to more effective diagnosis and treatment. Of the valuable tools for the understanding of molecular processes involved in ischemic stroke is proteomics method that provides us a snapshot of the proteins expressed at the cellular or tissue level, and can give us valuable information for the characterization of its biological processes.

*Materials & Methods:* In this study, the data from human brain proteome changes in ischemic stroke using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry were analyzed by DAVID program. The lists of genes with altered protein expression were obtained from the article “the proteome of human brain after ischemic stroke”. Findings were analyzed by the DAVID bioinformatics software. The association between ischemic stroke genes and other diseases, stroke clustering of proteins based on biological processes and intra cellular sites and molecular functions of the genes was performed via "GO" database.

*Findings:* Of 39 genes involved in ischemic stroke, totally four biological pathways chart were obtained which were associated with central nervous system diseases such as Parkinson, Alzheimer and Huntington. Most of the proteins were located in mitochondria and more significantly involved in the response to oxidative stress, apoptosis and necrosis processes.

*Discussion & Conclusion:* The data from two-dimensional gel electrophoresis-based proteomics experiments are important for understanding of the processes that occur during ischemic stroke. Proteins identification may be used as treatment targets or as biological markers for diagnostic and prognostic purposes in the management of stroke.

*Keywords:* Two-dimensional ectrophoresis, Ischemicstroke, DAVID program, Proteome

*1. Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*2. Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*3. Dept of Neurology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran*
** (corresponding author)*



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08 ]