

## بررسی اثر آنتی اکسیدان یوبیکینون بر روی بیان ژن MCL1 سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ متأثر از بازگشت مجدد جریان خون پس از ایسکمی

مریم شیروانی شاه عنایتی<sup>۱</sup>، ملیحه انتظاری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه بیوشیمی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** هدف این مطالعه بررسی اثر آنتی اکسیدان یوبیکینون بر روی بیان ژن MCL1 سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ متأثر از بازگشت مجدد جریان خون پس از ایسکمی بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به طور تصادفی انتخاب و به ۴ گروه کنترل (نگهداری در شرایط استاندارد آزمایشگاهی و جدا کردن هیپوکامپ از مغز موش)، ایسکمی (بستن شریان کاروتید به صورت دو طرفه و ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه و جدا کردن هیپوکامپ از مغز موش)، آزمایشی (دریافت دوز انتخابی کوآنزیم Q10 و ایسکمی و دوباره دریافت کوآنزیم Q10 و جدا کردن هیپوکامپ از مغز) و کنترل کوآنزیم Q10 (دریافت حلال کوآنزیم Q10 و ایسکمی و دوباره دریافت حلال کوآنزیم Q10 و جدا کردن هیپوکامپ)، تقسیم شدند. دریافت کوآنزیم از طریق گاوژ و تزریق‌ها به روش داخل صفاقی یا IP انجام شد. هیپوکامپ‌های جدا شده از مغز موش‌ها جهت تغییرات بیان ژن MCL1 بررسی شدند.

**یافته‌ها:** بیان ضد آپوپتوزی ژن MCL1 در گروه کنترل نسبت به گروه‌های آزمایشی کاهش یافت. بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل و در گروه کنترل نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. بیان ژن در گروه کوآنزیم Q10 و ایسکمی، نسبت به گروه ایسکمی، افزایش نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج مطالعه حاضر، کوآنزیم Q10 بیان ژن MCL1 را افزایش می‌دهد و در نتیجه از آپوپتوز جلوگیری می‌کند؛ به علاوه، شدت ضایعات هیپوکامپ متعاقب ایسکمی کاهش می‌یابد.

**واژگان کلیدی:** کوآنزیم Q10، ژن MCL1، ایسکمی، هیپوکامپ.

### مقدمه

خون به اندام، فقدان اکسیژن و مواد غذایی وضعیت خاصی را ایجاد می‌کند و بازگشت دوباره گردش خون می‌تواند منجر به ایجاد التهاب و ضایعات ناشی از استرس اکسیداتیو (Oxidative stress) گردد. گلبول‌های سفید خون در اثر بازگشت مجدد خون، باعث آزاد سازی فاکتورهای التهابی مانند اینترلوکین و گلبول‌های آزاد در بافت ضایعه دیده می‌شوند. جریان خون بازگشتی باعث بازگشت اکسیژن در سلول‌ها و آسیب‌های ناشی از آزاد شدن رادیکال‌های آزاد می‌شوند و این امر می‌تواند بر روی انتقال پیام تاثیر گذاشته و باعث مرگ برنامه ریزی شده سلولی (آپوپتوز [Apoptosis]) گردد. لکوسیت‌ها همچنین ممکن است عروق

سکته مغزی با شیوع ۱۲/۷ درصد در رتبه دوم شایع‌ترین بیماری‌ها در افراد بزرگسال و یکی از دلایل اصلی مرگ و میر و معلولیت در جهان است (۱). ضایعات ناشی از جریان خون بازگشتی به بافت متعاقب یک دوره ایسکمی (I/R) (ischemia/reperfusion) ایجاد می‌شوند. در هنگام قطع جریان

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه زیست‌شناسی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

ملیحه انتظاری (email: mentezari@iautmu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۱۱/۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۲/۲۶

میتوکندریایی آپوپتوز با رها سازی پروتئین‌های میتوکندریایی مانند سیتوکروم C، به وسیله اعضای پروتئینی خانواده Bcl-2 کنترل می‌شود. اعضای خانواده می‌توانند هر دو نقش ضد آپوپتوتیکی و پروآپوپتوتیکی را ایفا کنند. بیان بیش از حد mcl1 مانع آپوپتوزیس است و این پروتئین از آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری ممانعت می‌کند. با عنایت به حساسیت نورون‌های پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به ایسکمی مغزی و تحقیقات اندکی که در زمینه بیان ژن متعاقب اثر کوآنزیم Q10 در ناحیه هیپوکامپ انجام شده است، در این تحقیق به بررسی اثر کوآنزیم Q10 بر تغییر بیان ژن MCL1 مسیر میتوکندریایی آپوپتوز در ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی نژاد ویستار متعاقب ایسکمی/ برقراری مجدد جریان خون فراگیر پرداختیم.

## مواد و روشها

### گروه‌های حیوانات

در این مطالعه تجربی، رت‌ها به وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل: رت‌ها در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری شده و در پایان مدت مورد نظر (۹ روز) کشته شدند و هیپوکامپ آنها مورد بررسی قرار گرفت.

۲. گروه ایسکمی: گروهی که در روز پنجم، پس از بیهوشی و جراحی، شریان کاروتید آن‌ها به صورت دو طرفه بسته شد و ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه و برقراری مجدد جریان خون متعاقب آن القا شد و بعد از مدت ۴ روز، رت‌ها کشته شدند و هیپوکامپ آنها مورد بررسی قرار گرفت.

۳. گروه حامل (vehicle): گروهی از رت‌ها که به مدت ۵ روز، فقط روغن سویا (حلال کوآنزیم Q10) را دریافت کرده، سپس آن‌ها را بیهوش کرده و با عمل جراحی، شریان کاروتید آن‌ها به صورت دو طرفه بسته شد و ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه و برقراری مجدد جریان خون متعاقب آن، القا شد و به مدت ۳ روز دوباره روغن سویا را دریافت کردند و در روز چهارم بعد از ایسکمی (روز نهم) کشته شدند و هیپوکامپ آنها بررسی شد.

۴. گروه آزمایشی: گروه تحت درمان با یوبیکینون دوزهای ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۵ روز کوآنزیم Q10 را دریافت کردند و پس از بیهوشی و جراحی، شریان کاروتید آنها به صورت دو طرفه بسته شد و ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه و برقراری مجدد جریان خون متعاقب آن القا شد و به مدت ۳ روز، دوباره کوآنزیم Q10 را با دوزهای ذکر شده دریافت کردند

خونی کوچک را مسدود کنند، در نتیجه باعث ایسکمی بیشتری شوند (۷-۲). جریان خون بازگشتی نقش مهمی در مراحل ایسکمی مغزی دارد که بیشتر در انواع سکتها و تروماهای مغزی شاهد آن بوده‌ایم (۸). نواحی مشخصی از مغز و انواع خاصی از نورون‌ها مانند نورون‌های پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ (Hippocampus) و اجسام مخطط (Striatum) نسبت به ایسکمی مغزی حساس تر هستند (۹-۱۲). در این نواحی، آسیب اختصاصی سلول‌های گلایال نیز فعال می‌شود که منجر به تشدید آسیب نورون‌ها می‌شود (۱۵-۱۳).

کوآنزیم Q10 (Ubiquinone) با فرمول مولکولی، C59H90O4 و به عنوان یک آنتی اکسیدان لیپوفیل ویژه و در نقش یک محافظ عصبی، مورد توجه قرار گرفته است (۲۱-۱۶). کوآنزیم Q10 یکی از اجزای ضروری زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری است (۲۲) که به عنوان یک scavenger قوی رادیکال‌های آزاد، در غشاهای لیپیدی و میتوکندریایی مطرح است (۲۳). کوآنزیم Q10 همچنین در تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) نقش دارد و با بهبود عملکردهای cognitive در ارتباط است (۲۲). از آن جایی که به دنبال ایسکمی مغزی، آزادسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن اتفاق می‌افتد و تشکیل یا توزیع این رادیکال‌ها باید به منظور ترمیم پیامدهای نامرغوب نورولوژیکی و جلوگیری از آسیب نورونی کاهش یابد (۱۹) استفاده از کوآنزیم Q10 که مقاومت در برابر اکسیداتیو استرس را باعث می‌شود و انرژی زیستی مغز را در زمان برقراری مجدد جریان خون بعد از آسیب مغزی ایسکمیک بهبود می‌دهد، راهی منطقی به نظر می‌رسد (۲۰). از آن جا که کوآنزیم Q10، رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی اکسیداسیون فسفریلاسیون در غشای داخلی میتوکندری را در مدل‌های حیوانی آزمایشگاهی کاهش می‌دهد، پیشنهاد شده است که می‌تواند در برابر آسیب‌های نورونی ایجاد شده در اثر ایسکمی، آترواسکلروزیس و toxic injury مؤثر باشد (۲۴). Meredith Spindle و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۹ در بررسی اثرات کوآنزیم Q10 در بیماری‌های نورودژنراتیو دریافتند که کوآنزیم Q10 با ایجاد مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و بهبود انرژی زیستی مغز می‌تواند به عنوان یک مکمل، روی بیماری‌های نورودژنراتیو نظیر پارکینسون، هانگتینتون، آلزایمر و ... اثرات محافظتی داشته باشد (۲۵).

آپوپتوز مرگ فیزیولوژیک سلولی است که در شرایط طبیعی سبب حذف سلول‌های پیر، آسیب دیده، اضافی و مضر از دو مسیر داخلی (میتوکندری) و خارجی (گیرنده‌های مرگ) می‌شود و برای تکامل و هموستاز بافتی ضروری است. فعال شدن مسیر

جدول ۲. توالی پرایمر طراحی شده MCL1 و GAPDH

ژن	طول دمای توالی پرایمر	درصد CG	
		ذوب bp	ژن
MCL1 F CGTAACAAACTGGG GCAGG	۵۸/۷	۱۹	۵۷
MCL1 R GAAGAACTCCACAA ACCCATCC	۵۹/۱	۲۲	۵۰
GAPDH F AAGTTCAACGGCAC AGTCAAGG	۵۷/۸	۲۲	۵۰
GAPDH R CATACTCAGCACCA GCATCACC	۵۶/۷	۲۲	۵۴/۶

برنامه زمانی و دمایی واکنش PCR در دستگاه RT-PCR مدل ABI step one plus Real Time PCR در مراحل راه اندازی و انجام پروسه مطابق جدول های ۳ و ۴ انجام گرفت.

جدول ۳. برنامه زمانی و دمایی PCR

دما	زمان	چرخه
۹۵°	۱۵"	۱
۹۵°	۱۵"	۴۰ تا ۲
۶۴°	۶۰"	

در مرحله دوم منحنی ذوب تشکیل شد. مراحل فوق برای عدم آلودگی و سنجش عملکرد صحیح پرایمرها انجام شد و پس از اطمینان از مواد مذکور، هر کدام از نمونه ها به صورت جداگانه با پرایمر جهت بررسی بیان ژن در چاهک ها در دستگاه قرار گرفتند. از NTC (Negative Test control [کنترل منفی]) برای تأیید عدم آلودگی در حین انجام آزمایش استفاده شد. کنترل منفی فاقد cDNA بود.

برای سنجش پرایمرها هر کدام از آنها با یک نمونه کنترل بررسی شدند و پس از اتمام واکنش Real Time PCR برای اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها و نمایش طول قطعات تکثیر شده، نمونه ها به ژل پلی آکریل آمید منتقل شدند.

جدول ۴. برنامه زمانی و دمایی PCR در مرحله دوم

دما	زمان (ثانیه)
۹۵	۱۵
۶۰	۶۰
۹۵	۱۵

### تحلیل آماری داده ها

تحلیل داده ها توسط نرم افزار آماری rest جهت مقایسه بیان و نسبت ها انجام شد.

و در روز چهارم بعد از ایسکمی (روز نهم)، کشته شدند و هیپوکامپ آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

### استخراج RNA و سنتز cDNA

پس از برداشت بافت مورد نظر از هیپوکامپ رت و نگهداری در ۷۰- درجه سانتی گراد، ابتدا RVA و دیگر اجزای سلولی از محاصره غشایی خارج شدند و سپس به روش ترايزول RNA استخراج و برای صحت استخراج RNA از طریق اسپکتروسکوپی کمیت RNA مورد ارزیابی قرار گرفته شد. غلظت RNA توسط دستگاه Nanodrop در طول موج ۲۶۰، ۲۸۰ و ۲۳۰ نانومتر اندازه گیری شد. طیف جذبی A 260/280 خلوص (عدم آلودگی با پروتئین) و A 260/230 خلوص (عدم آلودگی با فنل و کلروفرم) نمونه هایی که A 260/280 نمونه هایی که  $1/8 \geq 260/280$  بود برای سنتز cDNA انتخاب به فریزر ۸۰- انتقال داده شدند.

برای ساخت مستر جهت سنتز cDNA طبق دستور کیت از مواد با غلظت های ذکر شده در جدول ۱ استفاده شد:

جدول ۱. مواد و حجم لازم جهت سنتز cDNA (سیناکلون)

حجم	مواد
۲	Buffer
۵	DePC
۰/۵	RT(m-mu Lv)
۰/۵	Rnase Inhibitor
۲	dNTP
۱	Oligo dt
۱۱	جمع کل

پرایمرها به کمک نرم افزار Primer 3 و Generunner طراحی شدند و در Ncbi, BLAST شد و از نظر اختصاصی بودن چک شدند (جدول ۲).

### RT-PCR

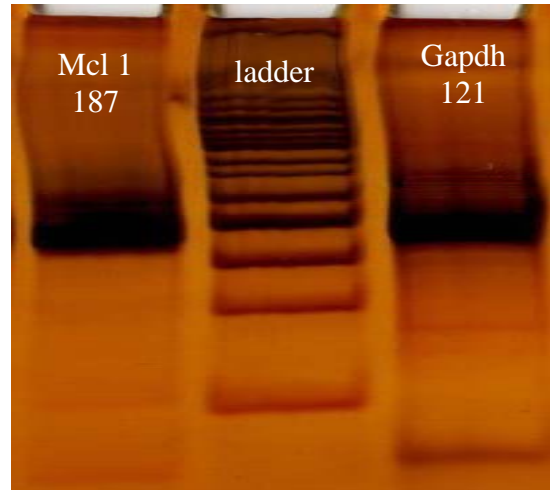
#### (Reverse transcription polymerase chain reaction)

ابتدا cDNA با نسبت ۱/۵ با DDW به غلظت ۰/۲ Pmol/μL رقیق شد. Master mix به cDNA و پرایمر مطابق جدول ۲ اضافه شد. پلیت مورد نظر را در دستگاه step one plus Real Time قرار داده شد. عملکرد و اختصاصیت پرایمرها چک شدند. ژن MCL1 به عنوان ژن هدف و GAPDH به عنوان ژن مرجع انتخاب شدند. واکنش RT-PCR برای ژن هدف و مرجع در نمونه های کنترل و تست به صورت سه تایی در پلیت ۹۶ خانه ای انجام شد.

## یافته‌ها

## تایید صحت پرایمر

شکل ۱ نشان دهنده طول صحیح و تک بانددون قطعات تکثیرشده با پرایمرهاست (طول قطعه ژن MCL1 ۱۸۷ و طول قطعه Gapdh ۱۲۱).

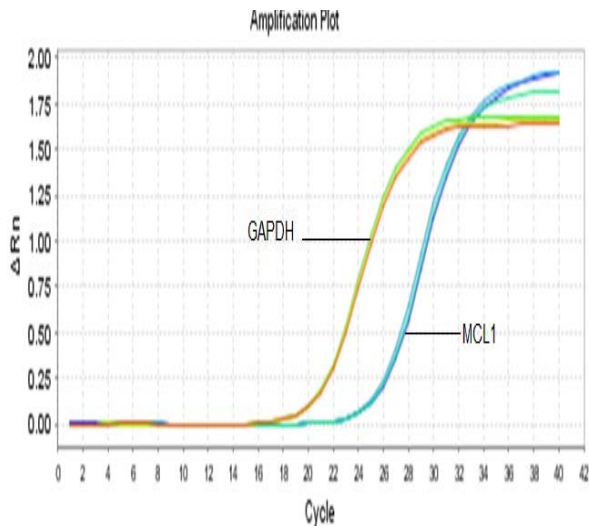


شکل ۱. نتیجه PAGE برای تکثیر نمونه کنترل با پرایمر. پس از تکثیر ژن‌ها باند ۱۸۷ bp برای ژن mcl1 و باند ۱۲۱ bp برای ژن Gapdh مشاهده شد.

قطعات غیر اختصاصی برای هر ژن با استفاده از منحنی ذوب (تفکیک) تعیین شد. نمودار ۱ ذوب مربوط به ژن MCL1 را به ترتیب در مقایسه با ژن مرجع GAPDH نشان می‌دهد.

## منحنی‌های تکثیر

نمودار ۲ نمونه‌ای از منحنی تکثیر ژن MCL1 را به همراه ژن رفرنس به صورت سه بار تکرار نشان می‌دهد.



نمودار ۲. تکثیر ژن MCL1 و GAPDH در نمونه ایسکمی

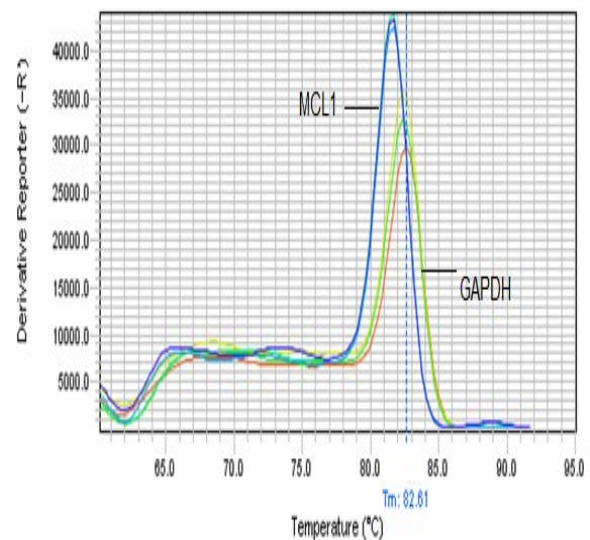
## بیان ژن MCL1 و آنالیزهای آماری

جدول ۴ و نمودار ۳ نتیجه بیان ژن‌های MCL1 در گروه‌های مختلف نسبت به کنترل و ارزش P (p-value) آن را نشان می‌دهد.

## جدول ۴. نسبت بیان ژن MCL1 در گروه‌های مختلف آزمایشی

نام ژن	نسبت بیان ژن بین دو گروه	ارزش P
نسبت بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل	۰/۴۸	$p > 0.05$
نسبت بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی/ دارو نسبت به گروه کنترل	۱/۳۱	$p < 0.05$
نسبت بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی/ دارو نسبت به گروه ایسکمی	۱/۵۱	$p < 0.05$
نسبت بیان ژن MCL1 در گروه حلال کوآنزیم نسبت به گروه کنترل	۰/۳۷	$p > 0.05$
نسبت بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی کوآنزیم Q10 با دوز ۱۰۰ میلی گرم نسبت به گروه ایسکمی کوآنزیم Q10 با دوز ۱۰ میلی گرم	۰/۴۷	$p > 0.05$

## Melt Curve



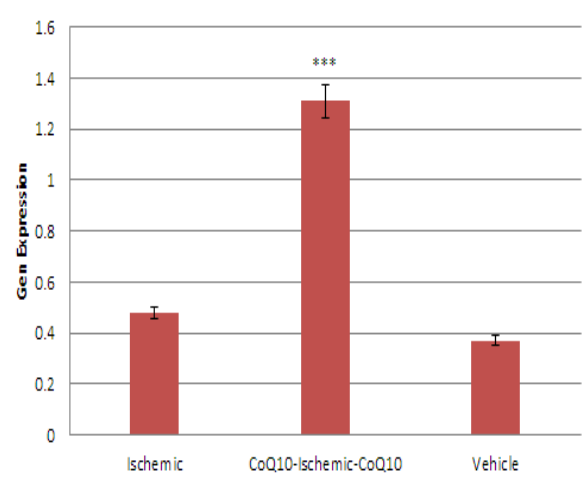
نمودار ۱. منحنی ذوب قطعه تکثیرشده ژن MCL1 و GAPDH

## آنالیز منحنی ذوب (تفکیک)

منحنی ذوب بیانگر محصولاتی است که طی واکنش PCR تکثیر می‌شوند. به دلیل تک قله‌ای بودن تکثیر اختصاصی قطعات ژنی مورد نظر، عدم جفت شدن پرایمرها و عدم تکثیر

را در مدل های حیوانی آزمایشگاهی کاهش می دهد، پیشنهاد شده است که می تواند در برابر آسیب های نورونی ایجاد شده در اثر ایسکمی، آترواسکلروزیس و toxic injury مؤثر باشد (۲۴). در بررسی اثرات کوآنزیم Q10 در بیماری های نورودژنراتیو مشخص شده است که کوآنزیم Q10 با ایجاد مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و بهبود انرژی زیستی مغز، می تواند به عنوان یک مکمل، روی بیماری های نورودژنراتیو نظیر پارکینسون، هانگتینتون، آلزایمر و ... اثرات محافظتی داشته باشد (۲۵). تخریب نورونی هیپوکامپ بعد از ایسکمی گذرا، به فعالیت کاسپازها به خصوص کاسپاز ۳ مرتبط می شود. مشخص شده است که Q10 می تواند تخریب سلولی را به خصوص در غشای سلولی و DNA کاهش دهد و شرایط و زمان کافی برای ترمیم را در اختیار سلول قرار دهد (۲۹). طی مطالعه ای مشخص شد روغن ماهی که منبعی از کوآنزیم Q10 است نیز اثرات نوروپروتکتیو و آنتی اکسیدانی مؤثری در هیپوکامپ مغز دارد. احتمالاً این اثر به علت وجود آنتی اکسیدان های موجود در آن است. با توجه به سایر اثرات این روغن استفاده از آن در رژیم غذایی می تواند در سلامت جامعه نقشی اساسی را ایفا کند (۳۰). طبق مطالعه دیگری مشخص شد کوآنزیم Q10 نقش آنتی اکسیدانی خود را علاوه بر کاهش رادیکال های آزاد به صورت غیر مستقیم نیز ایفا می کند. در واقع مشاهده شد که کوآنزیم Q10 قادر است سطح ویتامین E یا  $\alpha$ -توکوفرول را با احیای رادیکال توکوفرولکسیل افزایش دهد و همچنین قادر است ویتامین E را دوباره بسازد؛ به علاوه سطح اسکوربیک اسید را نیز افزایش می دهد (۳۱). در سال ۲۰۱۰ تجویز ویتامین E، کوآنزیم Q10 و روتین به موش های صحرایی irradiated قبل از ایسکمی/ برقراری مجدد جریان خون (I/R)، استرس اکسیداتیو را کاهش داد و به کاهش فعالیت سیتوزولی LDH و سطح  $Ca^{2+}$  منجر شد. در این مطالعه، تجویز کوآنزیم Q10 با دوز ۱۰ mg/kg و به صورت تزریق داخل صفاقی صورت گرفت. حساسیت فوق العاده بالاتر نورون های ناحیه CA1 در برابر هایپوکسی نسبت به سایر نورون های موجود به اثبات رسید و مشخص شد که تجمع رادیکال های آزاد در اطراف این نورون ها به سرعت روندهای نکروز و آپوپتوز سلولی را به دنبال دارد (۲۴). در سال ۲۰۱۲ زمانی و همکارانش در تحقیقی بر روی بیان ژن bcl2 سلول های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ متأثر از بازگشت مجدد جریان خون پس از ایسکمی افزایش بیان ژن آنتی آپوپتوتیک را پس از استفاده CoQ10 قبل از القای ایسکمی و بعد از القای ایسکمی در موش صحرایی مشخص

با عنایت به نتایج آماری فوق تفاوت معنی داری در نسبت بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی/ دارو نسبت به گروه کنترل دیده شد.



**نمودار ۳.** نسبت بیان ژن MCL1 در گروه های مختلف نسبت به کنترل

با استفاده از کوآنزیم کیوتن تفاوت معنی داری در افزایش بیان ژن mcl1 نسبت به گروه ایسکمی دیده شد.

## بحث

دو نوع اصلی سکنه مغزی وجود دارد: ایسکمی (ترومبوتیک و آمبولیک) با فراوانی بیشتر و هموراژیک (خونریزی داخل مغزی و تحت عنکبوتیه) با فراوانی کمتر (۲). در نوع ایسکمی، کاهش خون در بخشی از بدن روی می دهد که معمولاً ناشی از تنگی عملکردی یا انسداد واقعی یک رگ خونی است. مسدود ماندن شریان خون برای بیش از چند ساعت باعث آسیب رسانی به مغز می شود. سکنه های مغزی هموراژیک وقتی رخ می دهند که عروق خونی مغز نشستی داده و یا پاره شوند که باعث خونریزی در مغز یا اطراف آن می شود. این امر می تواند باعث افزایش فشار درون سر، تورم و آسیب به مغز شود. همچنین پارگی آنوریسم های مغزی و یا اختلالات مادرزادی وریدی/ شریانی در مغز، افزایش فشار خون، افزایش استروژن و مصرف مواد می توانند از دیگر فاکتورهای خطر خونریزی باشند (۲۷). در ICH (خونریزی داخل جمجمه ای)، خونریزی درون مغز رخ می دهد. این امر همچنان که خون جمع می شود و فشار روی بافت اطراف می آورد، باعث آسیب به مغز می شود (۲۸).

از آن جا که کوآنزیم Q10، رادیکال های آزاد تولید شده در طی اکسیداسیون فسفریلاسیون در غشای داخلی میتوکندری

همچنین کاهش در سطح Bcl2 و Bcl xl را داخل نورون‌های ایسکمیک نشان داده‌اند. با این وجود سطح Bcl2 و Bcl-xl و سایر اعضای آنتی آپوپتوتیک خانواده مثل bcl w شاید افزایش یابد. با توجه به مطالعات انجام شده، در این تحقیق بررسی بیان ژن MCL1 در زمان ایسکمی انجام شد. نتایج نشان داد که بیان ژن MCL1 در گروه ایسکمی نسبت به کنترل تفاوت معنی دار ندارد.

استفاده از کوآنزیم Q10 با اثر بر افزایش بیان ژن‌های آنتی آپوپتوتیک و اثر خنثی بر ژن‌های پروآپوپتوتیک به عنوان یک ماده محافظتی می‌تواند باعث تغییر مکانیسم آپوپتوز و کاهش آسیب‌های ناشی از ایسکمی شود. این پژوهش نشان داد که ایسکمی تاثیری روی بیان ژن‌های آنتی آپوپتوتیک ندارد، ولی بیان ژن‌های پروآپوپتوتیک را افزایش می‌دهد و باعث بروز آپوپتوز و گذر از آسیب‌های ناشی از ایسکمی می‌شود.

کردند که با نتایج این تحقیق که حاکی از افزایش بیان ژن mcl1 آنتی آپوپتوتیک است همخوانی دارد و نشان دهنده اثر بهبود دهنده CoQ10 قبل و بعد از ایسکمی است (33,32). بر اساس مطالعات انجام شده مدارک زیادی مبنی بر توانایی ایسکمی مغزی در فعال کردن کاسپاز ۳ که در ارتباط مسیر داخلی آپوپتوز است وجود دارد. همچنین نقش اعضای خانواده Bcl2 در آسیب ایسکمیک مغز موش‌ها درباره تظاهر مقدار بالا و پایین ژن‌های مربوط نشان داده است که تظاهر مقدار بالای Bcl2 از آپوپتوز نورونی می‌کاهد یا افزایش تظاهر سایر اعضای آنتی آپوپتوزی خانواده Bcl2 مثل Bcl xl از اندازه ایشان کاستند (31). رهایی سیتوکروم C از میتوکندری پس از ایسکمی به علت فعالیت BaX و سایر اعضای پرو آپوپتوتیک خانواده Bcl2 به وجود می‌آید. افزایش سطح BaX به سرعت از سیتوزول به میتوکندری نقل مکان می‌کند. پاره‌ای از مطالعات

## REFERENCES

1. Bokura H, Robinson RG. Long-term cognitive impairment associated with caudate stroke. *Stroke* 1997; 28: 970-5
2. Braduik B, Sonesson B, Holtas S. Spatial impairment hallowing right hemisphere transient ischemic attacks in patients without carotid artery stenosis. *Acta Neural Scand* 1989; 80:411-18.
3. Godefroy O, Rousseaux M, Pruro JP, Cabara M, Leys D. Neuropsychological changes related to unilateral lenticostriate infarcts. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1994; 57: 480-85.
4. Clark G, Wayne M. "Reperfusion Injury in Stroke". eMedicine. WebMD. (January 5, 2005). Available from: <http://www.emedicine.com/neuro/topic602.htm> Retrieved on 2006-08-09.
5. Mustoe T. "Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy". *Am J Surg*. 2004;187: 65S-70S.
6. Hossman KA. Post-ischemic resucitation of the brain :selective vulnerability versus global resistance. *Prog Brain Res*. 1985;63:3-7.
7. Pulsinelli WA, Brieley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Strok*. 1979;10:268-72.
8. Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neur*. 1986;6: 2950-2967.
9. Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. *Neurology*. 1987;37: 1281-86.
10. Morioka T, Kolehua AN, Streit WJ. Progressive expression of immunomolecules on microglial cells in rat dorsal hippocampus following transient forbrain ischemia. *Acta Neuropathol*. 1992;83:149-57.
11. Collino M, Aragno M, Mastrocola R, Gallicio M, Rosa AC, Dianzani C, et al. Modulation of the oxidative stress and inflammatory response by PPAR-Y agonists in the hippocampus of rats exposed to cerebral ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol*. 2006;530:70-80.
12. Block F. Global ischemia and behavioral deficits. *Prog Neurobiol*. 1999;58:279-95.
13. Fisher M, ed. *Stroke therapy*. 2<sup>nd</sup> ed. Boston, USA: Butter Worth Heinemann; 2001. p:25-50.
14. Hachinski V:Relevance of stroke models of stroke. *Dis Model Mech*. 2012; 5: 718-25
15. Grotta J. The current status of neuronal protective therapy: Why have all neuronal protective drugs worked in animals but none so far in stroke patients ? *Cerebrovasc Dis* 1994;4:115-120.
16. Neuroprotection as initial therapy in acute stroke. Third Report of an Ad Hoc Consensus Group Meeting. The European Ad Hoc Consensus Group. *Cerebrovasc Dis*. 1998 Jan-Feb;8(1):59-72

17. Won R, Lee KH, Lee BH. Coenzyme Q10 protects neurons against neurotoxicity in hippocampal slice culture. *Neuro Report*. 2011; 22: 721-25.
18. Kalayci M, Unal MM, Gul S, Acikgoz S, Kandemir N, Hanci V, et al. Effect of coenzyme Q10 on ischemia and neuronal damage in an experimental traumatic brain-injury model in rats. *BMC Neurosci*. 2011;12:75.
19. Horecký J, Gvozdjaková A, Kucharská J, Obrenovich ME, Palacios HH, Li Y, et al. Effects of coenzyme Q and creatine supplementation on brain energy metabolism in rats exposed to chronic cerebral hypoperfusion. *Curr Alzheimer Res*. 2011;8:868-75.
20. Binukumar BK, Gupta N, Sunkaria A, Kandimalla R, Wani WY, Sharma DR, et al. Protective efficacy of coenzyme Q10 against DDVP-induced cognitive impairments and neurodegeneration in rats. *Neurotox Res*. 2012;21:345-57.
21. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behav Brain Res*. 2006;171:9-16.
22. Russell T, Matthews, Lichuan Yang, Susan Browne, Myong Baik, and M. Flint Beal. Coenzyme Q10 administration increases brain mitochondrial concentrations and exerts neuroprotective effects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95: 8892-8897.
23. Li H, Klein G, Sun P, Buchan AM. CoQ10 fails to protect brain against focal and global ischemia in rats. *Brain Res*. 2000;877:7-11.
24. Li G, Zou L, Jack CR Jr, Yang Y, Yang ES. Neuroprotective effect of Coenzyme Q10 on ischemic hemisphere in aged mice with mutations in the amyloid precursor protein. *Neurobiol Aging*. 2007;28:877-82.
25. Ostrowski RP. Effect of coenzyme Q10 on biochemical and morphological changes in experimental ischemia in the rat brain. *Brain Res Bull*. 2000;53:399-407.
26. El-Fattah AA, El-Sawalhi MM, Rashed ER, El-Ghazaly MA. Possible role of vitamin E, coenzyme Q10 and rutin in protection against cerebral ischemia/reperfusion injury in irradiated rats. *Int J Radiat Biol*. 2010;86:1070-8.
27. Piotrowski P, Wierzbicka K, Smialek M. Neuronal death in the rat hippocampus in experimental diabetes and cerebral ischaemia treated with antioxidants. *Folia neuropathologica/Association of Polish Neuropathologists and Medical Research Centre*. Polish Acad Sci 2001;39: 147-52.
28. Ostrowski R. Effect of coenzyme Q10 (CoQ10) on superoxide dismutase activity in ET-1 and ET-3 experimental models of cerebral ischemia in the rat. *Folia neuropathologica/Association of Polish Neuropathologists and Medical Research Centre*. Polish Acad Sci 1999;37: 247-51.
29. Spindler M, Beal MF, Henchcliffe C. Coenzyme Q10 effects in neurodegenerative disease. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2009;5:597-610.
30. Quinzii CM, Hirano M. Coenzyme Q and mitochondrial disease. *Dev Disabil Res Rev*. 2010;16:183-38.
31. Young AJ, Johnson S, Steffens DC, Doraiswamy PM. Coenzyme Q10: a review of its promise as a neuroprotectant. *CNS Spectr*. 2007;12:62-68.
32. Zamani M, Mehdizadeh M, Mohamadzadeh F, Soleimani M. Coenzyme Q10 protects hippocampal neurons against ischemia/reperfusion injury via modulation of BAX/Bcl-2 expression. *Basic Clin Neur*. 2012;3:5-10.
33. Khazaei Koohpar Z, Entezari M, Movafagh A, Hashemi M. Anticancer Activity of Curcumin on Human Breast Adenocarcinoma: Role of Mcl-1 Gene. *Iran J Cancer Prev*. 2015;8:1-4.