

# Striatal oxidative stress and inflammation and lower expression of miRNA-149 in ischemic-reperfusion murine model of stroke

Samira Vahidi<sup>1</sup>, Mohammad-Reza Bigdeli<sup>1,2\*</sup>, Hosein Shahsavarani<sup>3</sup>, Salma Ahmadloo<sup>1</sup>, Mehrdad Roghani<sup>4</sup>

1. Department of Animal Science and Marine Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran
2. IranInstitute for Cognitive and Brain Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
4. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

\* Corresponding author e-mail: bigdelimohammadreza@yahoo.com

## Abstract

**Background and Objective:** Ischemic stroke is one of the main causes of death and disability in the world. Despite advancements, treatments have not achieved the desired results yet. Since microRNAs can be promising candidates for ischemic stroke diagnosis and treatment, this study investigated the impact of ischemic stroke on oxidative stress, inflammation, and miRNA149-5p expression in the striatum region in a rat model of ischemia-reperfusion brain injury.

**Materials and Methods:** In this research, 42 Male Wistar rats were divided into sham and ischemic groups. Using the middle cerebral artery occlusion (MCAO) model, cerebral ischemia was induced in the target group. After 24 hours, neurological deficits, cerebral edema, blood-brain barrier permeability, miRNA149-5p expression, and enzymes related to oxidative stress and inflammation were evaluated. Data were statistically analyzed using GraphPad Prism software and unpaired t test.

**Results:** The results of this study indicated that ischemic stroke leads to a decrease in neurological function, increased cerebral edema, and higher blood-brain barrier permeability. Furthermore, it resulted in elevated levels of oxidative and inflammatory factors and reduced levels of antioxidant factors in the striatum region. Additionally, ischemic stroke significantly caused downregulation of miRNA149-5p expression.

**Conclusion:** This study demonstrated that miRNA149-5p changes in rats subjected to ischemic stroke. This finding could contribute to a better understanding of therapeutic and diagnostic methods for stroke.

**Keywords:** Ischemic stroke, MiRNA149-5p, Neurological defects, Blood-brain barrier permeability, Cerebral edema

Received: Sep 13, 2022

Revised: Dec 13, 2023

Accepted: Dec 27, 2023

**How to cite this article:** Vahidi S, Bigdeli MR, Shahsavarani H, Ahmadloo S, Roghani R. Striatal oxidative stress and inflammation and lower expression of miRNA-149 in ischemic-reperfusion murine model of stroke. *Daneshvar Medicine* 2024; 31(5):62-75. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.18201.1398

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

## استرس اکسیداتیو و التهاب و کاهش بیان miRNA-149 در استریاتوم در مدل ایسکمیک-رپرفیوژن سکنه مغزی در موش صحرایی

سمیرا وحیدی<sup>۱</sup>، محمدرضا بیگدلی<sup>۲\*</sup>، حسین شاهسوارانی<sup>۳</sup>، سلما احمدلو<sup>۱</sup>، مهرداد روغنی<sup>۴</sup>

۱. گروه علوم جانوری و زیست دریا، دانشکده علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. موسسه علوم شناختی و مغز، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. گروه زیست شناسی سلولی-مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

Email: bigdelimohammadreza@yahoo.com

\*نویسنده مسئول: محمدرضا بیگدلی

### چکیده

**مقدمه و هدف:** سکنه مغزی ایسکمیک جزء علل اصلی مرگ و ناتوانی در جهان است. درمان‌ها با وجود پیشرفت‌ها هنوز هم به نتایج مطلوبی نرسیده است. از آنجاکه میکروRNAها می‌توانند به‌عنوان کاندیدهای مطلوبی برای تشخیص و یا درمان سکنه مغزی مورد بررسی قرار گیرند، در این تحقیق به بررسی تأثیر سکنه مغزی ایسکمیک بر استرس اکسیداتیو، التهاب و بیان miRNA149-5p در ناحیه استریاتوم در مدل آسیب ایسکمیک-رپرفیوژن مغز موش صحرایی پرداخته شده است.

**مواد و روش‌ها:** ۴۲ سر موش نر نژاد ویستار به دو گروه شم و ایسکمیک تقسیم شدند. سپس با استفاده از مدل انسداد شریان مرکزی مغز، ایسکمی مغزی در گروه مورد نظر ایجاد شد. پس از ۲۴ ساعت، نقایص عصبی، ادم مغزی، نفوذپذیری سد خونی-مغزی، بیان miRNA149-5p و آنزیم‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو و التهاب در ناحیه استریاتوم، مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism و تست آماری تی غیرمزدوج مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

**نتایج:** نتایج این مطالعه نشان داد که سکنه مغزی ایسکمیک باعث کاهش عملکرد عصبی و افزایش ادم مغزی و نفوذپذیری سد خونی-مغزی شد. از طرف دیگر منجر به افزایش سطح فاکتورهای اکسیدانی و التهابی و کاهش سطح فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در استریاتوم شد. همچنین مشاهده شد که سکنه مغزی ایسکمیک تأثیر معناداری بر کاهش بیان miRNA149-5p دارد.

**نتیجه‌گیری:** این تحقیق نشان داد miRNA149-5p در موش‌های تحت سکنه مغزی تغییر می‌کند. این یافته ممکن است به درک بهتر در روش‌های درمانی و تشخیص سکنه مغزی کمک کند.

**واژه‌های کلیدی:** سکنه مغزی ایسکمیک، miRNA149-5p، نقایص عصبی، نفوذپذیری سد خونی-مغزی، ادم مغزی

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۶/۲۲

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶

## مقدمه

یکی از بحران‌های جدی سلامت جهان، سکنه مغزی است که به‌عنوان یکی از علل اصلی مرگ‌ومیر و ناتوانی‌های دائمی در سراسر جهان شناخته می‌شود. سکنه مغزی معمولاً به دلیل اختلال در جریان خون به مغز ایجاد می‌شود و به دو دسته اصلی ایسکمیک و هموراژیک تقسیم می‌شود. سکنه مغزی ایسکمیک که ناشی از انسداد یا کاهش جریان خون به مغز است، بسیار شایع‌تر از نوع هموراژیک است و اثرات جبران‌ناپذیری روی عملکرد مغزی دارد (۱، ۲). از طرف دیگر تشخیص سکنه مغزی ایسکمیک قبل از وقوع یک مسئله چالش‌برانگیز است و به مطالعات دقیق و تحقیقات آزمایشگاهی نیاز دارد. این اقدامات می‌توانند به مداخله مؤثرتر در مواجهه با این بیماری کمک کنند و از عواقب جدی آن جلوگیری کنند.

استریاتوم ناحیه‌ای از مغز است که نقش مهمی در کنترل حرکت، تصمیم‌گیری، پردازش پاداش و سایر عملکردهای شناختی دارد؛ از این رو این ناحیه، یکی از مناطق حساس و تحت تأثیر مستقیم ایسکمیک مغزی قرار دارد (۳). تحقیقات نشان داده است که ایسکمیک مغزی می‌تواند به‌طور مستقیم تأثیراتی بر فعالیت‌های استریاتوم و مشکلات حرکتی افراد داشته باشد (۴). به‌طور معمول آسیب ایسکمیک مغزی به افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب منجر می‌شود. این تغییرات مخرب ممکن است به تخریب سلول‌های عصبی، افزایش نفوذپذیری سد خونی-مغزی و افزایش عوارض پس از سکنه مغزی منجر شوند (۵).

در تلاش برای درک عمیق‌تر مکانیسم‌های بیماری و ایجاد راهکارهای جدید برای پیشگیری و درمان سکنه مغزی، تحقیقات بسیاری انجام شده است. یکی از موضوعات مهم در این زمینه، نقش عوامل مولکولی و سلولی در آسیب‌های مغزی در اثر ایسکمیک مغزی و فرایند رپرفیوژن (یا بازگرداندن جریان خون به منطقه آسیب) است (۶). از جمله این تحقیقات، مطالعه تأثیر سکنه مغزی ایسکمیک بر تغییرات در بیان ژن‌ها و مولکول‌های ریبونوکلیک اسید (*RNA*) است. از جمله مولکول‌های مهم در این زمینه، می‌توان به *miRNA*‌ها اشاره کرد که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها دارند (۷).

*miRNA* یا *MicroRNA*‌ها را می‌توان به‌عنوان مولکول‌های کوچکی در سلول‌ها در نظر گرفت که نقش‌های مهمی در تنظیم ژنتیکی دارند. این *RNA*‌های کوچک توانایی تأثیرگذاری بر بیان ژن‌ها را دارند و در فرایندهای مختلف سلولی و بیولوژیکی نقش دارند (۸). در زمینه تشخیص سکنه مغزی ایسکمیک، *miRNA*‌ها نیز نقش مهمی ایفا می‌کنند به‌عنوان مثال از برخی از *miRNA*‌ها به‌عنوان نشانگرهای بیولوژیکی برای تشخیص سکنه مغزی ایسکمیک استفاده شده است. تغییرات در بیان *miRNA*‌ها در خون می‌تواند نشان‌دهنده وقوع سکنه مغزی ایسکمیک باشد. این تغییرات معمولاً به علت تغییرات در جریان خون و تأثیرات ایسکمیک بر سلول‌ها به وجود می‌آیند (۹). از طرف دیگر *miRNA*‌ها با تأثیر بر بیان ژن‌ها و ترجمه پروتئین‌ها می‌توانند در مسیرهای مولکولی مرتبط با سکنه مغزی ایسکمیک تأثیر بگذارند. برای نمونه، *miRNA*‌هایی که بیان زیادی دارند و باعث کاهش بیان ژن‌های مهم در حفاظت از سلول‌های عصبی مغزی در مقابل ایسکمیک می‌شوند، ممکن است به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با سکنه مغزی ایسکمیک مورد استفاده قرار گیرند (۱۰). در نهایت *miRNA*‌ها می‌توانند به‌عنوان مقصد درمانی نیز مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به نقش آنها در مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با سکنه مغزی ایسکمیک، ممکن است *miRNA*‌ها به‌عنوان هدف‌های دارویی مورد استفاده قرار گیرند تا درمان‌های جدید و نوآورانه‌تری برای مدیریت این مشکلات توسعه داده شود (۱۱).

به‌طور کلی، *miRNA*‌ها نقش مهمی در تشخیص، درمان، و درک بهتر مکانیسم‌های سکنه مغزی ایسکمیک ایفا می‌کنند. تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌توانند به بهبود تشخیص و مدیریت این بیماری کمک کنند و با تشخیص عوامل خطر، منجر به پیش‌بینی و پیشگیری از وقوع سکنه مغزی ایسکمیک شوند.

*miRNA-149* در بیماری‌های مختلف از جمله سرطان (۱۲)، دیابت (۱۳) و بیماری‌های قلبی عروقی (۱۴) نقش شناخته‌شده‌ای ایفا می‌کند. *miRNA-149* با هدف قرار دادن مستقیم *mRNA*‌های اینترلوکین-۶ (*IL-6*) و

شم، موش‌ها تنها در معرض استرس ناشی از مراحل جراحی ایسکمیک MCAO قرار گرفتند، بدون اینکه فیلامنتی شریان مغزی میانی را مسدود کنند. اما در موش‌های گروه ایسکمیک، تحت جراحی ایسکمیک<sup>۱</sup> MCAO، فیلامنتی داخل شریان مغزی میانی آنها قرار گرفت.

#### روش ایجاد مدل سکنه مغزی ایسکمیک MCAO

رت‌ها بعد از توزین، با ترکیب دارویی کتامین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش) بیهوش شدند. جراحی مدل‌سازی MCAO مطابق دستورالعمل لونگا و همکارانش انجام شد (۱۷). به‌طور خلاصه، یک نخ بخیه نایلونی ۳-۰ سوپا از طریق تنه ECA<sup>۲</sup> وارد رگ شد و تا رسیدن به ACA<sup>۳</sup> از ICA<sup>۴</sup> پتریگوپالاتین بسته ادامه داده شد. در اثر تماس نخ بخیه و ACA جریان خون از هر طرف به MCA بسته می‌شود. این بسته‌شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰ میلی‌متر طول نخ از تنه ECA مشخص می‌شود. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت. دمای بدن از طریق رکتوم اندازه‌گیری شد و میزان دما در حوالی ۳۷ درجه حفظ شد.

#### بررسی نواقص نورولوژیک

معاینه‌های نورولوژیک ۲۴ ساعت پس از ایسکمی - جریان مجدد انجام شد. در طول ۲۴ ساعت بعد از شروع انسداد تا قربانی شدن حیوان مراقبت‌های ویژه انجام شد. یافته‌های نورولوژیک در ۵ مقیاس دسته‌بندی می‌شوند: شماره صفر، هیچ‌گونه عارضه نورولوژیک نشان نمی‌دهد. شماره یک، نارسایی کامل در انتهای پنجه‌های جلویی (که یک نقص نورولوژیک کانونی خفیف در نظر گرفته می‌شود). شماره دو، به چپ چرخیدن حیوان (نقص نورولوژیک کانونی متوسط). شماره ۳، افتادن به سمت چپ (نقص کانونی شدید). رت‌های شماره ۴، به‌طور خودبه‌خودی نمی‌توانند

فاکتور نکروزکننده تومورآلفا (*TNF-α*) نقش ضدالتهابی ایفا می‌کند و در نتیجه از افزایش آنها جلوگیری می‌کند (۱۵). این نتایج حاکی از آن است که *miRNA-149* ممکن است به‌عنوان یک نشانگر سکنه مغزی ایسکمیک عمل کند. از طرفی اگرچه *miR-149* اثرات متعددی بر روی ژن‌های درگیر در تکثیر یا آپوپتوز دارد (۱۶)، اما به‌طور کامل در مسیرهای مربوط به سکنه مغزی ایسکمیک مورد بررسی قرار نگرفته است.

در این مقاله تلاش شده است تا به بررسی تأثیر سکنه مغزی ایسکمیک بر استرس اکسیداتیو و التهاب در ناحیه استریاتوم مغز و بررسی تغییرات در بیان *miRNA-149* در یک مدل آسیب ایسکمیک-پرفیوژن مغز موش صحرائی است. تحلیل تغییرات در بیان این *miRNA* ممکن است به ما کمک کند تا مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با سکنه مغزی را بهتر درک کنیم و احتمالاً به توسعه رویکردهای جدید در درمان این بیماری بپردازیم

#### مواد و روش‌ها

##### حیوانات و شرایط نگهداری

به‌منظور اجرای آزمایش، تعداد ۴۲ سر موش بالغ نر از نژاد ویستار با وزن متوسط بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مؤسسه انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. موش‌ها در شرایط استاندارد نگهداری شدند، به این معنا که در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته (با آغاز روشنایی در ساعت ۸ صبح) قرار گرفتند. همچنین حیوانات در طول آزمایش به آزادی دسترسی به آب و غذا داشتند. در این مطالعه تلاش شده است تا از حداقل تعداد موش‌های صحرائی استفاده شود. تمامی مراحل آزمایش همچنین بر اساس پروتکل تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی انجام شد (شماره مجوز: IR.SBU.REC.1400.100).

##### گروه‌های آزمایشی

موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به دو گروه اصلی تقسیم شدند: گروه شم و گروه ایسکمیک. هر یک از این گروه‌ها به‌صورت جداگانه برای انجام ارزیابی‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. در گروه

<sup>1</sup> Middle Cerebral Artery Occlusion

<sup>2</sup> External Carotid Artery

<sup>3</sup> Anterior Cerebral Artery

<sup>4</sup> Internal Carotid Artery

### استحکام سد خونی-مغزی

استحکام سد خونی- مغزی توسط اندازه‌گیری میزان خروج اوانس بلو ارزیابی می‌شود. محلول اوانس بلو ۲ درصد سیگما آلدریچ به مقدار ۴ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن ۳۰ دقیقه بعد از ایسکمی از طریق ورید دم به حیوان تزریق شد. ۲۴ ساعت پس از جریان خون مجدد، قفسه سینه حیوان تحت بیهوشی باز شده و با ۲۵۰ میلی‌لیتر سالین از طریق بطن چپ از وجود اوانس بلو داخل رگ پاک می‌شود تا زمانی که مایع پرفیوژن بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شود. برای اندازه‌گیری میزان خروج رنگ، بافت مغز در بافر فسفات هموزن شده و برای رسوب پروتئین به آن اسید تری‌کلرواستیک ۶۰ درصد اضافه شد. پس از هم‌زدن با ورتکس به مدت ۳ دقیقه و خنک‌شدن در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. نهایتاً جذب نوری اوانس بلو در قسمت بالا توسط دستگاه الیزا در جذب ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری و مطابق منحنی استاندارد غلظت آن محاسبه شد.

### بررسی بیان miRNA149-5p

نیمکره‌های مغز از هم جدا شده و ناحیه استریاتوم نیمکره راست روی یخ جدا شد. RNA توتال طبق دستورالعمل کیت پارس توس (ایران)، از بافت مغز استخراج شد و سپس با کیت سنتز cDNA، به cDNA تبدیل شد. واکنش Real Time PCR توسط کیت SYBR Green X پارس توس به صورت دو تکراری از طریق دستگاه Applied Biosystems StepOnePlus انجام شد. در جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش ارائه شده است. برای محاسبه نتایج از روش  $2^{-\Delta Ct}$  استفاده شد.

راه بروند و سطح هوشیاری پایینی دارند. همچنین، رت‌هایی که طی ۲۴ ساعت بعد از جراحی می‌میرند؛ در صورتی که بعد از رنگ‌آمیزی بخش وسیعی از مغزشان آسیب‌دیده باشند و مرگ منحصر به سکنه مغزی باشد، به آنها شماره ۵ داده می‌شود.

### آماده‌سازی بافت مغز و رنگ‌آمیزی به روش نیسل

موش‌ها ۲۴ ساعت پس از جراحی و خون‌رسانی مجدد و پس از انجام تست‌های رفتاری، بیهوش شدند و سپس مغز موش‌ها به وسیله شستشو با سالین و سپس محلول پارافرمالدهید ۱۰ درصد به صورت ترانس کاردیال پرفیوژن شدند. سپس مغزها در محلول پارافرمالدهید یک شب ثابت شدند. از مغزها مقاطعی با ضخامت ۵۰ میکرومتر گرفته شد و برای رنگ‌آمیزی نیسل آماده شد. برش‌ها در گزلیول و الکل سریالی آب‌گیری شدند و در آب مقطر شستشو داده شدند و سپس ۱۰ دقیقه در کریستال ویوله غوطه‌ور شدند. در مرحله بعد مقاطع در الکل سریالی و گزلیول دوباره آب‌گیری شدند و در نهایت با چسب و لامل ثابت شدند. سپس بخش‌ها با میکروسکوپ نوری عکس‌برداری شدند و تعداد سلول‌های عصبی در ناحیه استریاتوم مورد شمارش واقع شدند.

### روش سنجش محتوای آب مغزی

بعد از جداکردن سر حیوان مغز خارج شده و منخچه، پل مغزی و پیازهای بویایی جدا شد و وزن خالص نیمکره‌های مغز (WW) اندازه‌گیری شده و سپس وزن خشک (DW) بعد از قرارگرفتن ۲۴ ساعت در آون (زیست‌فناوران، ایران) با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. در نهایت محتوای آب مغز بر اساس فرمول زیر اندازه‌گیری شد.

$$W = (WW - DW) / WW \times 100$$

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Real Time PCR

توالی پرایمرها	ژن
5'-AGTCTGGCTCCGTGTCTTCA-3' :پیشرو	miR-149-5p
5'-CGATCTCTGGTCAGCCTGTG-3' :معکوس	
5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3' :پیشرو	U6
5'-ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC-3' :معکوس	

### بررسی بیان miRNA149-5p

آنتی‌بادی‌های جذب پوشانده شدند و بعد از انکوبه شدن، نمونه‌ها اضافه شدند، به دنبال آن آنتی‌بادی‌های تشخیص و انکوباسیون بعدی انجام شد. چگالی نوری در ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۸).

نیمکره‌های مغز از هم جدا شده و ناحیه استریاتوم نیمکره راست روی یخ جدا شد. RNA توتال طبق دستورالعمل کیت پارس توس (ایران)، از بافت مغز استخراج شد و سپس با کیت سنتز cDNA، به cDNA تبدیل شد. واکنش Real Time PCR توسط کیت X SYBR Green پارس توس به صورت دو تکراری از طریق دستگاه Applied Biosystems StepOnePlus انجام شد. در جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش ارائه شده است. برای محاسبه نتایج از روش  $2^{-\Delta Ct}$  استفاده شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism (v9.5.1) استفاده شد. داده‌های حاصل از نقایص نورولوژیک، نفوذپذیری سد خونی-مغزی، ادم و داده‌های مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی با استفاده از آزمون تی غیرمزدوج مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج به صورت Mean±SEM بیان و  $P < 0.05$  از لحاظ آماری معنادار در نظر گرفته شد.

### تعیین سطح مالون دی‌آلدهید (MDA)

مالون دی‌آلدهید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است و به‌عنوان یک پارامتر نشان‌دهنده استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این پژوهش از کیت سنجش کبازیسیت (ایران) برای تعیین مقدار سطح MDA در طول موج ۵۳۲ نانومتر استفاده شد.

### نتایج

#### اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر نقایص عصبی و آسیب بافتی

برای بررسی مکانیسم پاتولوژیک سکنه مغزی ایسکمیک، یک مدل MCAO در موش‌های صحرایی ایجاد شد و آسیب مغزی ناشی از آن مورد ارزیابی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل (۱ الف) نشان داده شده است، در مقایسه با گروه شم، سکنه مغزی ایسکمیک و به دنبال آن خون‌رسانی مجدد باعث افزایش قابل توجهی در نمره نقص عصبی شد. همچنین نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نیسل نشان داد که اجسام نیسل در معرض آسیب شدید قرار گرفته‌اند، که نشان‌دهنده عدم بیوستت سلولی است (شکل ۱ ب و ج) مطابق با نتایج رنگ‌آمیزی نیسل، ادم و انقباض سلولی در بافت‌های مغزی گروه اسکمیک مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که سکنه مغزی باعث نقص عصبی و مرگ سلول‌های عصبی شده است.

### تعیین سطوح گلوتاتیون (GSH) و گلوتاتیون ردوکتاز (GSR)

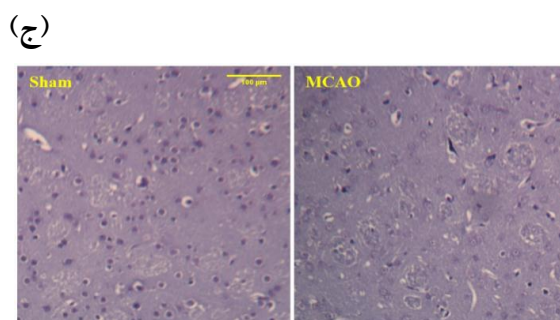
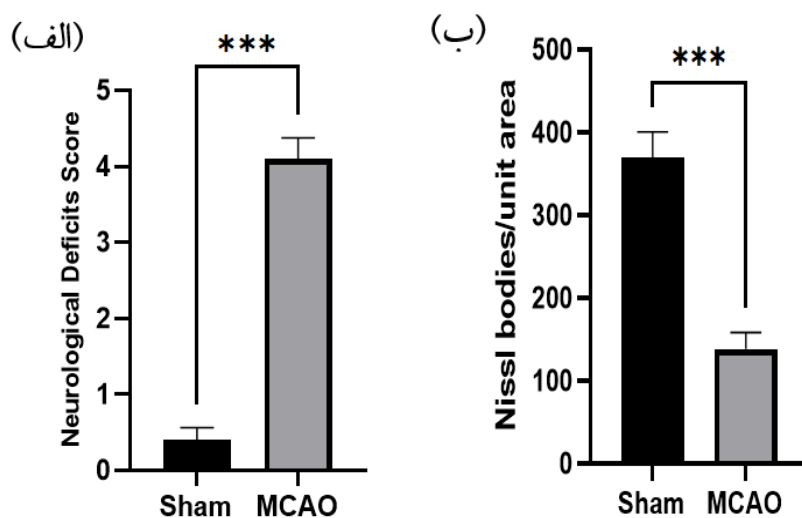
سطوح گلوتاتیون و گلوتاتیون ردوکتاز از طریق کیت تجاری موجود (کبازیسیت، ایران) با پیروی از دستورالعمل‌های تعیین‌شده توسط سازنده و در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج این سنجش وضعیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های آزمایش‌شده را منعکس می‌کند.

### تعیین سطح گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)

برای ارزیابی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) از کیت کبازیسیت با واکنشی شامل گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH به‌عنوان کوآنزیم استفاده شد. جذب در ۳۴۰ نانومتر در حالت کینتیک به صورت اندازه‌گیری در هر دقیقه به مدت ۵ دقیقه ثبت شد.

### تعیین سطح اینترلوکین-۱۷ (IL-17)

سطح IL-17 در بافت مغز با استفاده از ساندویچ الایزا اندازه‌گیری شد. در این مطالعه از آنتی‌بادی‌های شرکت سانتا کروز و سیگما آلدریج استفاده شد. میکروپلیت‌ها با

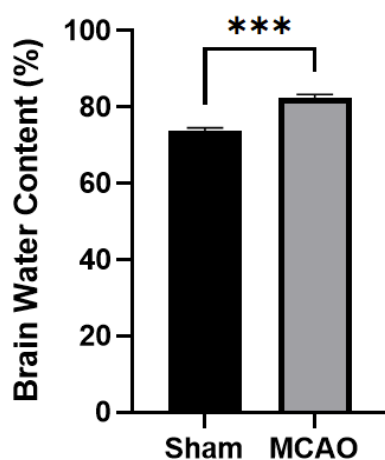


شکل ۱. اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر نقایص عصبی و آسیب بافتی: الف) امتیاز حاصل از بررسی نقایص عصبی (تعداد نمونه=۱۰)، ب) و ج) تعداد نورون‌ها در واحد سطح در ناحیه استریاتوم پشتی (تعداد نمونه=۵)، در گروه‌های شم و ایسکمی. هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار است ( $p < 0.001$ ).

به‌طور قابل توجهی، در گروه ایسکمیک در مقایسه با گروه شم افزایش یافت (شکل ۲).

#### اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر ادم مغزی

ایسکمی مغزی ناشی از روش MCAO منجر به افزایش محتوای آب مغزی در نیمکره آسیب‌دیده شد.

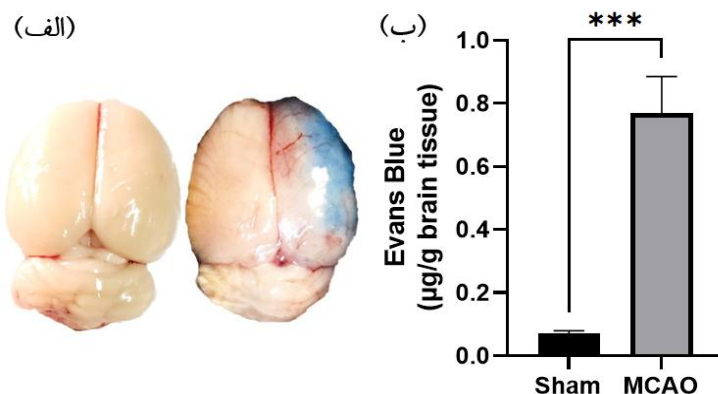


شکل ۲. اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر ادم مغزی بعد از ۲۴ ساعت. درصد آب مغزی در نیمکره راست در گروه‌های شم و ایسکمی (تعداد نمونه=۵). هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار است ( $p < 0.001$ ).

به‌طور قابل توجهی غلظت اوانس بلو را در نیمکره آسیب‌دیده در مقایسه با گروه شم افزایش داد، که نشان‌دهنده از بین رفتن یکپارچگی سد خونی-مغزی در این گروه است (شکل ۳).

### اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر نفوذپذیری سد خونی-مغزی

نفوذپذیری سد خونی-مغزی با استفاده از غلظت اوانس بلو به‌عنوان یک شاخص ارزیابی شد. افزایش غلظت اوانس بلو نشان‌دهنده آسیب سد خونی-مغزی است. تجزیه و تحلیل یافته‌ها نشان داد که سکنه مغزی ایسکمیک

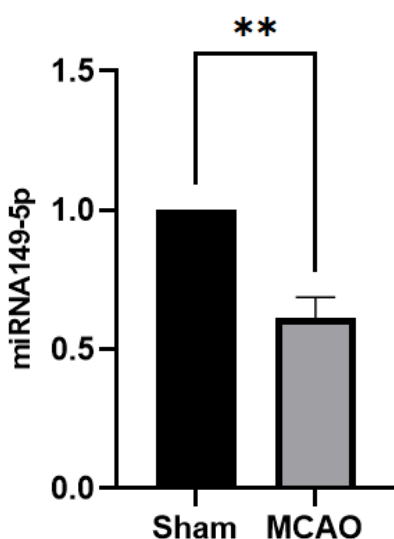


شکل ۳. اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر نفوذپذیری سد خونی-مغزی بعد از ۲۴ ساعت: (الف) تصویر مناطق نفوذ رنگ به داخل بافت مغز و (ب) غلظت اوانس بلو در نیمکره راست در گروه‌های شم و ایسکمیک (تعداد نمونه = ۵). هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار است ( $p < 0.001$ ).

موش‌های MCAO کاهش معناداری در سطح miR-149-5p در ناحیه استریاتوم ( $p < 0.01$ ) نشان دادند.

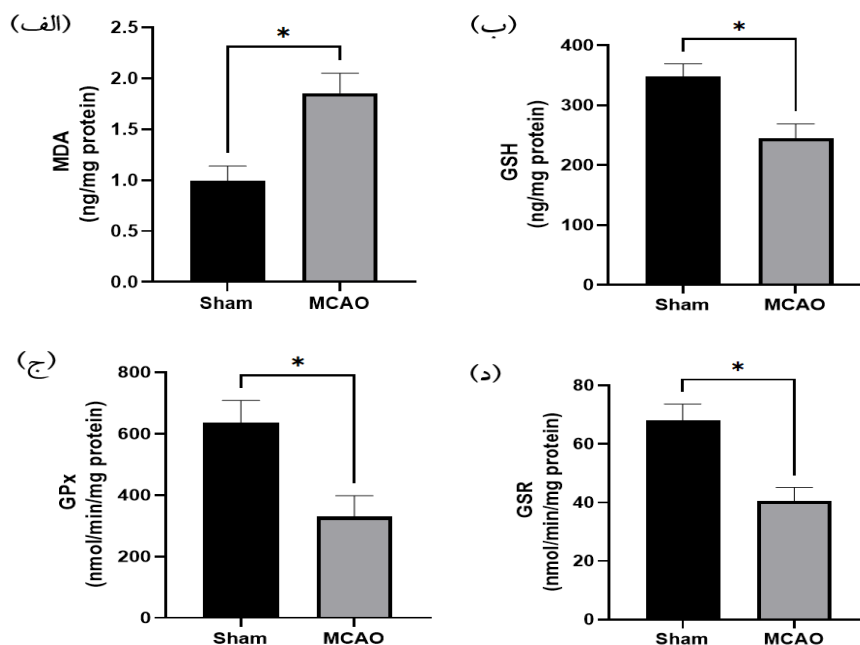
### اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر بیان miRNA149-5p

سطح بیان miRNA149-5p در ناحیه استریاتوم در مقایسه با گروه شم مورد ارزیابی واقع شد. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، در مقایسه با موش‌های شم،



شکل ۴. اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر بیان miRNA149-5p در ناحیه استریاتوم در گروه‌های شم و ایسکمیک (تعداد نمونه = ۳). هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار است ( $p < 0.01$ ).

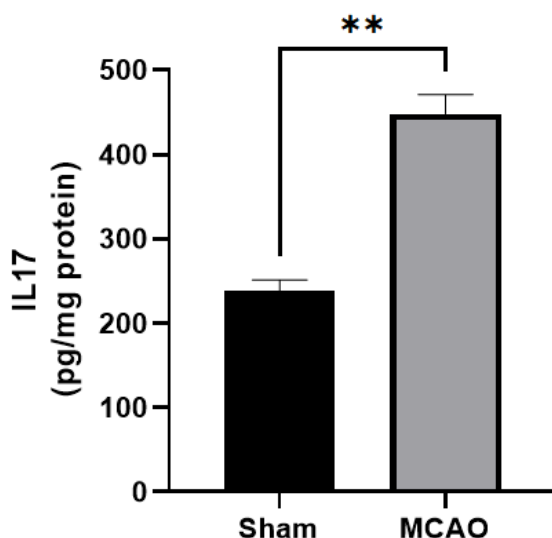




شکل ۵. اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر پارامترهای اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی: (الف) مالون دی‌آلدهید (MDA)، (ب) گلووتاتیون (GSH)، (ج) گلووتاتیون پراکسیداز (GPx) و (د) گلووتاتیون ردوکتاز (GSR) در ناحیه استریاتوم در گروه‌های شم و ایسکمیک (تعداد نمونه=۳). هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار است (\* $p < 0.05$ ).

**اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر فاکتور التهابی IL-17**  
در این مطالعه اثرات التهابی با اندازه‌گیری سطح IL-17 به‌عنوان فاکتور پیش‌التهابی مورد ارزیابی قرار گرفت. گروه MCAO افزایش قابل توجهی در سطح IL-17 شکل ۶ در ناحیه استریاتوم در مقایسه با گروه شم نشان داد.

**اثر سکنه مغزی ایسکمیک بر پارامترهای اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی**  
در این تحقیق پارامترهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در ناحیه استریاتوم بررسی شد. همان‌طور که در شکل ۵ (الف) نشان داده شده است در گروه MCAO افزایش قابل توجهی در سطح MDA در مقایسه با گروه شم مشاهده شد. از طرف دیگر کاهش معناداری در سطوح GSH (شکل ۵ ب)، GPx (شکل ۵ ج) و GSR (شکل ۵ د) در گروه MCAO در مقایسه با گروه شم مشاهده شد.



شکل ۶. اثر سخته مغزی ایسکمیک بر فاکتور التهابی اینترلوکین-۱۷ (IL-17) در ناحیه استریاتوم در گروه‌های شم و ایسکمی (تعداد نمونه=۳). هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار است (\* $p < 0.01$ ).

## بحث

می‌شود (۱۹). کمبود اکسیژن و گلوکز باعث شکست انرژی سلولی و سمیت تحریکی شده، که منجر به آسیب عصبی می‌شود (۲۰). علاوه بر این، برهم خوردن تعادل یونی باعث ادم سیتوتوکسیک می‌شود، درحالی‌که شکسته شدن سد خونی مغزی به مولکول‌ها و سلول‌های التهابی اجازه می‌دهد تا به مغز نفوذ کنند و منجر به آسیب بیشتر شوند. این رویدادهای پاتوفیزیولوژیک، از جمله التهاب، کمبود انرژی، آسیب سد خونی-مغزی و استرس اکسیداتیو، به گسترش ناحیه انفارکتوس کمک می‌کنند (۱). ترومبوز ناشی از باریک شدن عروق به دلیل تجمع پلاکت، و سکنه آمبولیک، که شامل کاهش جریان خون به دلیل لخته خون است، مقصر اصلی سخته مغزی ایسکمیک هستند که منجر به مرگ سلولی می‌شود (۲۱). در این مطالعه ناحیه استریاتوم به عنوان ناحیه مورد نظر برای بررسی اثر سخته مغزی ایسکمیک انتخاب شده است. این ناحیه در ارتباط با سیستم عقده‌های قاعده‌ای مغز نقش مهمی در تنظیم اعمال حرکتی بدن دارد (۲۲). از سوی دیگر در کنترل تصمیم‌گیری، پردازش پاداش و سایر فعالیت‌های شناختی اهمیت دارد و به عنوان یک ناحیه حساس در پاسخ به ایسکمی مغزی معرفی می‌شود (۳). تحقیقات اخیر نیز نشان داده است که سخته مغزی ایسکمیک می‌تواند

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سخته مغزی ایسکمیک بر استرس اکسیداتیو، التهاب و بیان miRNA-149 در ناحیه استریاتوم موش صحرایی انجام شد. با استفاده از مدل MCAO، یک ابزار ارزشمند برای تقلید ایسکمی مغزی کانونی در تحقیقات، ما شاهد افزایش قابل توجهی در نمرات نقص عصبی و نفوذپذیری سد خونی-مغزی، و همچنین کاهش سلول‌های عصبی در ناحیه استریاتوم بودیم. در این مطالعه مشاهده شد که القای مدل MCAO منجر به کاهش فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی و همچنین سطح miRNA-149-5p در ناحیه مورد بررسی در مقایسه با گروه شم می‌شود. از طرف دیگر مشاهده شد که فاکتورهای مؤثر در ایجاد استرس اکسیداتیو و التهاب در این ناحیه افزایش می‌یابند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که miRNA149-5p ممکن است به عنوان یک هدف برای پیشگیری یا حتی درمان عواقب ناشی از سخته ایسکمیک نویدبخش باشد.

سخته مغزی ایسکمیک به عنوان یک رویداد مخرب عروق مغزی، زمانی اتفاق می‌افتد که یک شریان مغزی توسط یک ترومبوز یا آمبولی مسدود می‌شود، که منجر به کاهش یا توقف ناگهانی جریان خون به یک منطقه خاص مغز

SOD را افزایش داده، در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کرده و با تنظیم پروتئین‌های کلیدی آپوپتوز را مهار می‌کند (۲۶). سایر miRNAها مانند miR-9، miR-133b، miR-219، و miR-124 به التهاب عصبی و آسیب مغزی کمک می‌کنند (۲۷-۲۹)، درحالی‌که سطوح افزایش‌یافته miR-424، miR-23a-3p، و miR-99a با کاهش استرس اکسیداتیو از مغز محافظت می‌کنند. در مدل‌های حیوانی، تجویز آنتاگومیر miR-424 پس از سکنه مغزی، حجم انفارکتوس را کاهش می‌دهد و بیان NRF-2 را افزایش می‌دهد که دارای اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و محافظ عصبی است (۳۰-۱۹).

در نهایت این توضیح لازم است که ایسکمی مغزی دو مسیر آپوپتوز اولیه را آغاز می‌کند: مسیر درونی، که توسط میتوکندری‌های آسیب‌دیده منجر به آزادسازی سیتوکروم C، فعال‌شدن کاسپاز-۳ و آبشارهای بعدی می‌شود که در نهایت باعث تخریب سلول می‌شوند؛ و مسیر بیرونی، که توسط گیرنده‌های مرگ در سطح سلولی در سلول‌ها فعال می‌شود. این مسیر در یک آبشار منتهی به نفوذپذیری غشای میتوکندری، برش DNA و آپوپتوز عصبی به اوج خود می‌رسد. در مسیر درونی، کاسپاز-۳ پروتئین‌های سوبسترا را می‌شکافد، باعث آسیب DNA و مرگ سلولی آپوپتوتیک می‌شود (۳۱-۳۲)؛ بنابراین، هدف قراردادادن گیرنده‌های کاسپاز-۳ یا مرگ از نظر ژنتیکی یا دارویی، حجم انفارکتوس مغزی را به دنبال MCAO کاهش می‌دهد. از همین رو نشان داده شده است که miR-211، miR-29a و miR-7-5p آسیب عصبی، اندازه انفارکتوس و آپوپتوز را در مدل‌های ایسکمیک از طریق مکانیسم‌های مختلف کاهش می‌دهند (۲۵). در مورد اثر miR-149-5p بر آپوپتوز بسته به بافت خاص، نقش پیچیده‌ای در مطالعات قبلی مشاهده شده است؛ به‌صورتی‌که در برخی موارد، آپوپتوز را سرکوب می‌کند، درحالی‌که در برخی دیگر، آن را افزایش می‌دهد. تیان و همکارانش نشان دادند که در سلول‌های لوسمی میلوئید

تأثیرات مستقیمی بر عملکرد استریاتوم و مشکلات حرکتی افراد داشته باشد (۴).

از سوی دیگر تحقیقات روی پاتوفیزیولوژی سکنه مغزی ایسکمیک اهمیت miRNAهای مختلف و ژن‌های هدف خاص آنها را برجسته کرده است (۷). چندین miRNA از جمله miR-149، miR-539، miR-122، miR-29b، miR-126-5p، miR-98، let-7g، miR-132، let-7f، 3p/5p، miR-92b و miR-376b-5p بیان را در طول ایسکمی مغزی نشان می‌دهند. بازگرداندن بیان آنها از طریق miR mimic یا آگومیرها به‌طور قابل توجهی نفوذپذیری سد خونی مغزی را با افزایش بیان پروتئین اتصال محکم و پوشش پریستی کاهش می‌دهد. این امر منجر به کاهش سیتوکین‌های پیش‌التهابی، ماتریکس متالوپروتیناز (MMPs) و مرگ سلولی و در نهایت کاهش انفارکتوس مغزی، ادم مغزی و بهبود پیامدهای عصبی پس از سکنه مغزی ایسکمیک می‌شود (۲۳). به‌عنوان مثال پان و همکارانش نشان دادند که بیان بیش از حد miR-126-3p و miR-126-5p در مغز موش ایسکمیک، کاهش پروتئین‌های اتصال محکم ZO-1 و اکلودین و نشأت IgG را به بافت مغز، سه روز پس از سکنه کاهش داد. علاوه‌براین، بیان بیش از حد miR-126-3p و p5- سیتوکین‌های التهابی IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$  را به همراه مولکول‌های چسبندگی سلولی VCAM-1 و E-selectin کاهش داد که منجر به کاهش انفارکتوس مغزی، کاهش حجم ادم و بهبود نتایج رفتاری شد (۲۴).

از سوی دیگر استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی سکنه دارد که منجر به آسیب سلولی و تشدید آسیب مغزی می‌شود. MicroRNAها نقش مهمی در تنظیم ژن پس از رونویسی و به‌ویژه در تنظیم تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدان پس از سکنه مغزی ایسکمیک دارند (۲۵). مطالعات نشان داده‌اند که کاهش بیان miR-98-5p با استرس اکسیداتیو در مدل انسداد شریان مغزی میانی مرتبط است. برعکس، تنظیم مثبت miR-98-5p فعالیت

راهکارهای درمانی جدید برای کاهش عوارض سکنه مغزی ایسکمیک، از ترکیبات دارویی یا درمان‌های نوین با استفاده از افزایش بیان miRNA-149-5p می‌توان استفاده کرد و تأثیر آنها را روی بیماران ارزیابی کرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سکنه مغزی ایسکمیک باعث افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب و همچنین کاهش miRNA-149-5p در ناحیه استریاتوم می‌شود. این یافته‌ها بیانگر آن است که miRNA-149-5p ممکن است به‌عنوان یک هدف بالقوه برای پیشگیری و یا حتی درمان عواقب ناشی از سکنه مغزی ایسکمیک نویدبخش باشد.

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل‌های مربوط به این پژوهش مطابق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات، تأیید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است (شماره مجوز: IR.SBU.REC.1400.100).

### تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط صندوق حمایت از پژوهشگران ایران (INSF) (با شماره ۹۹۰۲۵۳۹۸) پشتیبانی مالی شده است.

### تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

حاد، miRNA-149-5p با هدف قراردادن لیگاند Fas آ پوپتوز را مهار می‌کند. این عمل از فعال شدن کاسپازهای ۲، ۳ و ۸، که اجزای کلیدی مسیر آپوپتوز هستند جلوگیری می‌کند (۳۳). برعکس در مطالعات فوجی و همکارانش مشخص شد که در انواع خاصی از سرطان مانند سرطان معده انسان، miRNA-149-5p با مهار تکثیر و پیشرفت چرخه سلولی، نقش سرکوب‌کننده تومور را ایفا می‌کند (۳۴). علاوه بر این، miRNA-149-5p در سرطان کبد و گلیوبلاستوما مولتی‌فرم با هدف قراردادن AKT1، تکثیر سلولی را سرکوب می‌کند و به‌عنوان یک سرکوبگر تومور عمل می‌کند (۱۶). با این حال، نقش miRNA-149-5p در آپوپتوز بسته به نوع بیماری و مسیرهای مولکولی خاص درگیر می‌تواند متفاوت باشد. با توجه به یافته‌های این مطالعه و تحقیقات قبلی ممکن است یکی از مسیرهایی که در آن سکنه مغزی ایسکمیک منجر به افزایش آپوپتوز شده باشد، از طریق کاهش miRNA-149-5p باشد.

محدودیت‌ها در این تحقیق شامل محدودیت استفاده از مدل MCAO در موش‌های صحرایی بوده است که تفاوت‌هایی با شرایط ایسکمی مغزی انسان دارد. از طرف دیگر در این مطالعه مکانیسم‌های دقیق تأثیر miRNA-149-5p در سکنه مغزی ایسکمیک بررسی نشده‌اند. از این رو پیشنهاد می‌شود تا مطالعات بیشتری با استفاده از مدل‌های حیوانی متنوع‌تر یا مطالعات بالینی در بیماران انسانی، اعتبار و کاربرد عملی نتایج را افزایش داد. همچنین برای بهترین درک از مکانیسم‌های مولکولی و ژن‌های هدف miRNA-149-5p، تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود. از طرف دیگر برای توسعه

### منابع

1. Kuriakose D, Xiao Z. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(20):7609.
2. Wajngarten M, Silva GS. Hypertension and Stroke: Update on Treatment. *European Cardiology Review*. 2019;14(2):111-5.
3. Bamford IJ, Bamford NS. The Striatum's Role in Executing Rational and Irrational Behaviors. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*. 2019;25(5):475-90.
4. Lima RR, Santana LNS, Fernandes RM, Nascimento EM, Oliveira ACA, Fernandes LMP, et al.

- Neurodegeneration and Glial Response after Acute Striatal Stroke: Histological Basis for Neuroprotective Studies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;3173564.
5. Wu L, Xiong X, Wu X, Ye Y, Jian Z, Zhi Z, et al. Targeting Oxidative Stress and Inflammation to Prevent Ischemia-Reperfusion Injury. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2020;13:28.
  6. Singh TP, Weinstein JR, Murphy SP. Stroke: Basic and Clinical. *Advances in Neurobiology*. 2017;15:281–93.
  7. Eyileten C, Wicik Z, De Rosa S, Mirowska-Guzel D, Soplinska A, Indolfi C, et al. MicroRNAs as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Ischemic Stroke—A Comprehensive Review and Bioinformatic Analysis. *Cells*. 2018;7(12):249.
  8. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(5):5451–65.
  9. Wang Y, Su X, Leung GHD, Ren B, Zhang Q, Xiong Z, et al. Circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for ischemic stroke: evidence from comprehensive analysis and real-world validation. *International Journal of Medical Sciences*. 2023;20(8):1009–23.
  10. Khoshnam SE, Winlow W, Farbood Y, Moghaddam HF, Farzaneh M. Emerging Roles of microRNAs in Ischemic Stroke: As Possible Therapeutic Agents. *Journal of Stroke*. 2017;19(2):166–87.
  11. Liu S, Fan M, Zheng Q, Hao S, Yang L, Xia Q, et al. MicroRNAs in Alzheimer's disease: Potential diagnostic markers and therapeutic targets. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;148:112681.
  12. Ren F jia, Yao Y, Cai X yu, Cai Y ting, Su Q, Fang G ying. MiR-149-5p: An Important miRNA Regulated by Competing Endogenous RNAs in Diverse Human Cancers. *Frontiers in Oncology*. 2021;11:743077.
  13. Ruan D, Liu Y, Wang X, Yang D, Sun Y. miR-149-5p protects against high glucose-induced pancreatic beta cell apoptosis via targeting the BH3-only protein BIM. *Experimental and Molecular Pathology*. 2019;110:104279.
  14. Khidr EG, Abulsoud AI, Doghish AA, El-Mahdy HA, Ismail A, Elballal MS, et al. The potential role of miRNAs in the pathogenesis of cardiovascular diseases - A focus on signaling pathways interplay. *Pathology, Research and Practice*. 2023;248:154624.
  15. Qin C, Lv Y, Zhao H, Yang B, Zhang P. MicroRNA-149 Suppresses Inflammation in Nucleus Pulposus Cells of Intervertebral Discs by Regulating MyD88. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2019;25:4892–900.
  16. He Y, Yu D, Zhu L, Zhong S, Zhao J, Tang J. miR-149 in Human Cancer: A Systemic Review. *Journal of Cancer*. 2018;9(2):375–88.
  17. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20(1):84–91.
  18. Albazal A, Delshad AA, Roghani M. Melatonin reverses cognitive deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes in the rat through attenuation of oxidative stress and inflammation. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2021;112:101902.
  19. Bulygin KV, Beeraka NM, Saitgareeva AR, Nikolenko VN, Gareev I, Beylerli O, et al. Can miRNAs Be Considered as Diagnostic and Therapeutic Molecules in Ischemic Stroke Pathogenesis?-Current Status. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(18):6728.
  20. Kamal FZ, Lefter R, Jaber H, Balmus IM, Ciobica A, Iordache AC. The Role of Potential Oxidative Biomarkers in the Prognosis of Acute Ischemic Stroke and the Exploration of Antioxidants as Possible Preventive and Treatment Options. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(7):6389.
  21. Lee RHC, Lee MHH, Wu CYC, Couto e Silva A, Possioit HE, Hsieh TH, et al. Cerebral ischemia and neuroregeneration. *Neural Regeneration Research*. 2018;13(3):373–85.
  22. Cataldi S, Stanley AT, Miniaci MC, Sulzer D. Interpreting the role of the striatum during multiple phases of motor learning. *The FEBS Journal*. 2022;289(8):2263–81.
  23. Sun P, Hamblin MH, Yin KJ. Non-coding RNAs in the regulation of blood-brain barrier functions in central nervous system disorders. *Fluids and Barriers of the CNS*. 2022;19:27.
  24. Pan J, Qu M, Li Y, Wang L, Zhang L, Wang Y, et al. MicroRNA-126-

- 3p/-5p Overexpression Attenuates Blood-Brain Barrier Disruption in a Mouse Model of Middle Cerebral Artery Occlusion. *Stroke*. 2020;51(2):619–27.
25. Neag MA, Mitre AO, Burlacu CC, Inceu AI, Miha C, Melincovici CS, et al. miRNA Involvement in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. *Frontiers in Neuroscience*. 2022;16:901360.
26. Yu S, Zhai J, Yu J, Yang Q, Yang J. miR-98-5p protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through anti-apoptosis and anti-oxidative stress in mice. *Journal of Biochemistry*. 2021;169(2):195–206.
27. Huang S, Ge X, Yu J, Han Z, Yin Z, Li Y, et al. Increased miR-124-3p in microglial exosomes following traumatic brain injury inhibits neuronal inflammation and contributes to neurite outgrowth via their transfer into neurons. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2018;32(1):512–28.
28. Liu Y, Zhang J, Han R, Liu H, Sun D, Liu X. Downregulation of serum brain specific microRNA is associated with inflammation and infarct volume in acute ischemic stroke. *Journal of Clinical Neuroscience: Official Journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2015;22(2):291–5.
29. Xin H, Li Y, Buller B, Katakowski M, Zhang Y, Wang X, et al. Exosome-Mediated Transfer of miR-133b from Multipotent Mesenchymal Stromal Cells to Neural Cells Contributes to Neurite Outgrowth. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*. 2012;30(7):1556–64.
30. Jurcau A, Ardelean AI. Oxidative Stress in Ischemia/Reperfusion Injuries following Acute Ischemic Stroke. *Biomedicines*. 2022;10(3):574.
31. Mao R, Zong N, Hu Y, Chen Y, Xu Y. Neuronal Death Mechanisms and Therapeutic Strategy in Ischemic Stroke. *Neuroscience Bulletin*. 2022;38(10):1229–47.
32. Uzdensky AB. Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins. *Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death*. 2019;24(9–10):687–702.
33. Tian P, Yan L. Inhibition of MicroRNA-149-5p Induces Apoptosis of Acute Myeloid Leukemia Cell Line THP-1 by Targeting Fas Ligand (FASLG). *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2016;22:5116–23.
34. Fujii T, Shimada K, Tatsumi Y, Fujimoto K, Konishi N. Syndecan-1 responsive microRNA-126 and 149 regulate cell proliferation in prostate cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015;456(1):183–9.