کومش- جلد ۱۲، شماره ۳ (پیاپی ۳۹)، بهار ۱۳۹۰

تعیین توزیع فنوتیپ‌های پاراکسوناز سرم به روش دو سوبسترایی در بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر

عبدالکریم مهروز [۱*](Ph.D)، محمد نوری [۲](Ph.D)، محمدرضا رشیدی [۳](Ph.D)، ناصر اصلان‌آبادی [۴](M.D)، دردی قوجق [۵](Ph.D)

۱- *دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی و ژنتیک*

۲- *دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی*

۳- *دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی*

۴- *دانشگاه علوم پزشکی تبریز، بیمارستان شهید مدنی، مرکز قلب و عروق*

۵- *دانشگاه بابل، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی و بیوفیزیک*

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به فراوانی افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر (Cornary artery disease, CAD) در ایران و نقش مفید و مهم پاراکسوناز سرم (Paraoxonase, PON1) در این بیماری، در مطالعه حاضر، توزیع فنوتیپ‌های PON1 در بیماران مبتلا به CAD تعیین گردید.

مواد و روش‌ها: ۶۱ بیمار با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد و ۶۳ بیمار با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد در این مطالعه وارد شدند. فعالیت‌های پاراکسونازی و آریل استرازی به ترتیب با سوبسترای پاراکسون و فنیل استات اندازه‌گیری گردیدند. فنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم Q/R192 آنزیم با روش دو سوبسترایی و محاسبه نسبت فعالیت پاراکسونازی تحریک شده با نمک به فعالیت آریل استرازی تعیین گردید.

یافته‌ها: بیماران با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد در نسبت‌های ۲/۱۴ و ۵/۹۹ و بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد در نسبت‌های ۲/۴۲ و ۵/۹۱ به سه فنوتیپ Q، QR و R تقسیم شدند. در بیماران با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد، فراوانی فنوتیپ‌های Q، QR و R به ترتیب ۴۱، ۴۶ و ۱۳ درصد بود. فراوانی این فنوتیپ‌ها در بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد، به ترتیب ۴۸، ۴۱ و ۱۱ درصد به دست آمد.

نتیجه‌گیری: از داده‌های مطالعه حاضر و مطالعات دیگری که در ایران انجام شده، شاید بتوان این نتیجه کلی را مطرح کرد که در جمعیت ایرانی توزیع فنوتیپ‌های PON1 برای پلی‌مورفیسم Q/R 192 در بیماران مبتلا به CAD (چه با گرفتگی عروقی زیاد چه با گرفتگی عروقی کم) و افراد سالم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

واژه‌های کلیدی: توزیع فنوتیپ، پاراکسوناز سرم، آریل استراز، گرفتگی عروق کرونر

مقدمه

آنزیم پاراکسوناز سرم انسانی (آریل دی آلکیل فسفاتاز؛ PON1, EC 3.1.8.1) یک استراز وابسته به کلسیم است که می‌تواند طیف وسیعی از سوبسترای‌های مختلف از جمله ارگانوفسفات‌هایی مانند پاراکسون و استرهایی نظیر فنیل‌استات راهیدرولیز کند [۲،۱]. نام این آنزیم از توانایی‌اش در هیدرولیز پاراکسون (یک سوبسترای سنتتیک) گرفته شده است [۳]. پاراکسون که به طور معمول برای ارزیابی فعالیت PON1 مورد استفاده قرار می‌گیرد یک ارگانوفسفات است که به طور متابولیک از حشره‌کش پاراتیون تولید می‌شود

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۵۱-۳۵۴۳۰۸۱ نمابر: ۰۱۵۱-۳۵۴۳۰۸۷

Email: kmahrooz@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۲۸۹/۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۶/۱۸

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

[۴].PON1 آنزیمی است که در کبد ساخته شده و در سرم روی لیپوپروتئین پرچگال (High density lipoprotein, HDL) قرار دارد [۵]. PON1 یکی از آنزیم‌های اصلی HDL است که می‌تواند نقش بسیار مهمی در خواص آنتی‌اکسیدانی این لیپوپروتئین ایفا کند [۶-۸].

لیپوپروتئین HDL در بیماری‌های قلبی عروقی نقش مهمی ایفا می‌کند و غلظت پایین آن در سرم یکی از مهم‌ترین ریسک فاکتورها برای این بیماری‌ها به حساب می‌آید [۶]. غلظت سرمی HDL با توسعه آترواسکلروز ارتباط معکوس دارد [۷]. مکانیسمی که از طریق آن HDL می‌تواند نقش حمایتی خود را در آترواسکلروز ایفا کند به خوبی شناخته نشده است [۷]. بسیاری از مطالعات اولیه انجام شده در زمینه نقش HDL در آترواسکلروز، به عمل‌کرد آن در انتقال معکوس کلسترول پرداخته‌اند [۷،۶]، اما در سال‌های اخیر حوزه تحقیقاتی دیگری نیز توجه محققان را به خود جلب کرده است. HDL می‌تواند لیپوپروتئین کم‌چگال (Low density lipoprotein, LDL) را در مقابل آسیب اکسیداتیو محافظت کرده و از ایجاد LDL اکسید شده جلوگیری کند [۸،۶]. آنزیم‌های HDL در این عمل آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی بازی می‌کنند و به احتمال زیاد PON1 نقش اصلی را در این زمینه به عهده دارد [۶،۳]. از نقش‌های دیگر PON1 می‌توان به هیدرولیز و غیرفعال کردن متابولیت سمی هوموسیستئین یعنی هوموسیستئین تیولاکتون اشاره کرد [۹]. هم‌چنین، این آنزیم در فعال کردن و غیرفعال کردن داروهای مختلف نیز دخالت دارد [۱۰]. به علاوه نقش PON1 در پاتوژنز بیماری‌های گوناگونی نظیر دیابت، نقص مزمن کلیوی، چاقی، سندرم متابولیک و سرطان در مطالعات مختلف تأیید شده است [۱۱،۹].

ژن PON1 روی بازوی بلند کروموزوم ۷ قرار داشته و دو پلی‌مورفیسم شایع در اسیدهای آمینه ۱۹۲ و ۵۵ دارد که عبارتند از: پلی‌مورفیسم Q/R192 و پلی‌مورفیسم M/L55 [۱۲،۳]. پلی‌مورفیسم Q/R192 وابسته به سوبسترا است به نحوی که پاراکسون توسط آلوزیم R سریع‌تر هیدرولیز می‌شود اما هیدرولیز فنیل‌استات توسط هر دو آلوزیم Q و R با سرعت یکسانی کاتالیز می‌گردد [۷]. بنابراین، پلی‌مورفیسم ۱۹۲ سبب ایجاد سه فنوتیپ می‌شود: فنوتیپ Q با فعالیت پاراکسونازی پایین، فنوتیپ QR با فعالیت پاراکسونازی متوسط و فنوتیپ R با فعالیت پاراکسونازی بالا [۱۳-۱۵]. آلوزیم‌های R و Q پاسخ‌های متفاوتی به تحریک با نمک نشان می‌دهند به گونه‌ای که آلوزیم R توسط NaCl بسیار بیش‌تر تحریک می‌شود. از این خاصیت می‌توان برای شناسایی فنوتیپ‌های PON1 استفاده کرد. با محاسبه نسبت فعالیت پاراکسونازی تحریک شده با نمک به فعالیت آریل استرازی می‌توان هر سه فنوتیپ آنزیم (ژنوتیپ‌های فردی) را تعیین کرد [۱۳-۱۵].

با توجه به فراوانی افراد مبتلا به بیماری عروق کرونر (Cornary artery disease, CAD) در ایران و نقش مفید و مهم PON1 در این بیماری، در مطالعه حاضر، توزیع فنوتیپ‌های Q/R192 آنزیم PON1 در بیماران مبتلا به CAD که در بیمارستان شهید مدنی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت آنژیوگرافی قرار گرفتند، با روش دو سوبسترایی تعیین گردید. میزان HDL-C ، LDL-C، کلسترول تام و تری‌گلیسریدهای سرم نیز اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها

افرادی که در این مطالعه مقطعی و توصیفی وارد شدند بیمارانی بودند که در مرکز قلب بیمارستان شهید مدنی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت آنژیوگرافی کرونری قرار گرفتند و میزان گرفتگی عروقی آنان توسط پزشکان متخصص کاردیولوژیست که از نتایج آزمایشگاهی بی‌اطلاع بودند، با تکنیک استاندارد Judkin تعیین و گزارش گردید. گرفتگی عروق کرونر بر حسب انسداد کم‌تر از ۵۰درصد و بیش‌تر از ۷۰درصد قطر حداقل یک شریان اصلی کرونر تعریف شد. بیماران مبتلا به دیابت و بیمارانی که اخیراً تحت آنژیوپلاستی کرونری یا جراحی بای پس کرونری قرار گرفته بودند، از مطالعه خارج شدند. در این تحقیق ۱۲۴ بیمار مورد مطالعه قرار گرفتند که به دو گروه تقسیم شدند: ۶۱ نفر با گرفتگی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

عروقی کم‌تر از ۵۰درصد و ۶۳ نفر با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰درصد. از بیماران قبل از آنژیوگرافی نمونه‌گیری انجام شد و سرم بیماران پس از جداسازی تا زمان انجام آزمایشات در ۷۰- °C نگهداری گردید.

فعالیت پاراکسونازی PON1 با سوبسترای پاراکسون (Sigma Chemical Co.) اندازه‌گیری شد [۱۶،۴]. مقدار ۲۰ میکرولیتر از سرم به بافر (Tris/HCL 100 mmol, pH 8.0) حاوی ۲ mmol پاراکسون و ۲ mmol CaCl2 اضافه گردید. سرعت هیدرولیز پاراکسون از طریق آزاد شدن پارانیتروفنل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۴۱۲ nm با دستگاه UV- اسپکتروفتومتر (UV 1250, Shimadzu, Japan) سنجیده شد. فعالیت پاراکسونازی آنزیم با ضریب خاموشی ۱۸۲۹۰ مول در لیتر محاسبه گردید. واحد فعالیت آنزیم به صورت nmol/min/ml serum بیان گردید. فعالیت آریل استرازی با فنیل‌استات (Fluka) به عنوان سوبسترا مورد سنجش قرار گرفت [۱۶]. مقدار ۱۰ میکرولیتر از سرم به مخلوط واکنش حاوی ۲ mmol فنیل استات و CaCl2 ۲mmol در بافر (Tris/HCL 100 mmol , pH 8.0) افزوده شد. سرعت هیدرولیز سوبسترا با روش اسپکتروفتومتری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۲۷۰ nm تعیین گردید. فعالیت آریل استرازی آنزیم با ضریب خاموشی ۱۳۱۰ مول در لیتر محاسبه گردید. نتایج به صورت µmol/min/ml serum گزارش شد [۱۶].

برای تعیین توزیع فنوتیپ‌های R/Q192 PON1 از روش دو سوبسترایی استفاده شد [۱۳-۱۵]. در این روش برای هر فرد نسبت هیدرولیز پاراکسون در حضور NaCl 1M به هیدرولیز فنیل‌استات محاسبه می‌شود. سپس با رسم منحنی تعداد افراد در برابر نسبت‌های به دست آمده، سه mode مجزا حاصل می‌گردد که هر mode نشان‌دهنده یک فنوتیپ خواهد بود.

کلسترول تام، تری‌گلیسرید و HDL-C با کیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران) اندازه‌گیری شدند. LDL-C نیز از فرمول فریدوالد محاسبه گردید [۱۷].

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵،۰ و به صورت میانگین، انحراف معیار، تعداد و درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌ها دارای توزیع نرمال بودند. برای آنالیز داده‌ها از آزمون‌های t-test Student's، Chi-square test و ANOVA استفاده شد. سطح معنی‌دار از نظر آماری P<۰/۰۵ تعریف گردید.

نتایج

از کل ۱۲۴ بیمار مورد مطالعه، ۶۱ نفر بیمار با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد و ۶۳ نفر بیمار با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد بودند. اطلاعات مربوط به مشخصات عمومی و مقدار لیپیدهای سرم در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌طور که در این جدول نشان داده شده، دو گروه مورد مطالعه از لحاظ پارامترهای سن، جنس، شاخص توده بدنی (BMI) و فشار خون سیستولی و دیاستولی با یک‌دیگر جور شدند به نحوی که مقادیر این پارامترها در دو گروه مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار نیست. هم‌چنین، همان‌طور که در این جدول آمده، پارامترهای LDL-C، کلسترول تام و تری‌گلیسرید در دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری ندارند، اما میزان HDL-C در بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰درصد نسبت به گروه بیمار با گرفتگی کم‌تر از ۵۰درصد به طور معنی‌داری کاهش یافته بود (P<۰/۰۳).

در تعیین توزیع فنوتیپ‌های PON1 در بیماران مورد مطالعه با روش دو سوبسترایی [۱۳-۱۵] از نسبت فعالیت پاراکسونازی تحریک شده با نمک به فعالیت آریل استرازی استفاده می‌شود. نسبت‌های به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که توزیع فراوانی PON1 در جمعیت مورد مطالعه به صورت trimodal است. بر اساس داده‌های حاصل، بیماران با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد در نسبت‌های ۲/۱۴ و ۵/۹۹ (شکل۱) و بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد در نسبت‌های ۲/۴۲ و ۵/۹۱ (شکل۲) به سه فنوتیپ Q، QR و R تقسیم شدند. جدول ۲ فعالیت‌های پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم PON1 را به تفکیک جنس نشان

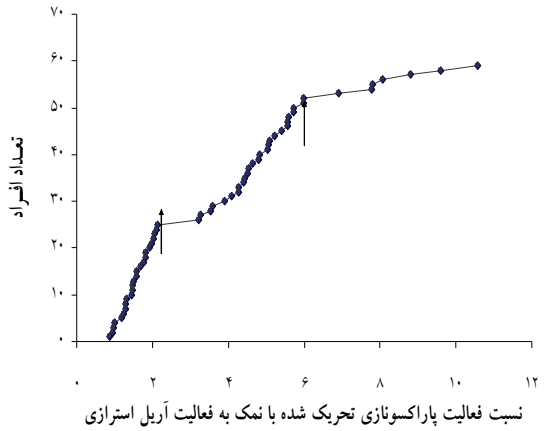
[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

جدول ۱. مقایسه مشخصات عمومی، مقادیر لیپیدهای سرم و فعالیت‌های پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم PON1 بین بیماران با گرفتگی عروقی کمتر از ۵۰ درصد و بیشتر از ۷۰ درصد.

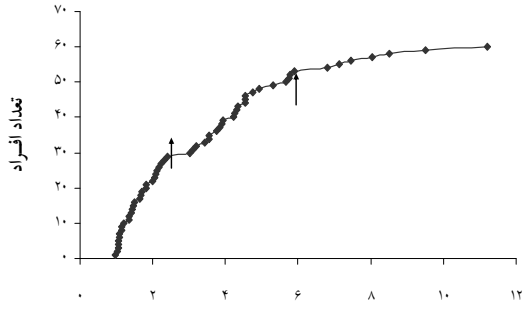
متغیر	گرفتگی عروقی	
	کمتر از ۵۰ درصد	بیشتر از ۷۰ درصد
تعداد	۶۱	۶۳
سن (سال) *	۵۳/۴ ± ۱۱/۴	۵۶/۱ ± ۹/۸
جنس (مرد/زن) †	(۳۱/۳۰)	(۲۳/۴۰)
شاخص توده بدنی (kg/m2) *	۲۷/۱ ± ۴/۳	۲۷/۲ ± ۴/۲
فشار خون سیستولی (mmHg) *	۱۴۶/۹ ± ۲۷/۸	۱۴۷/۲ ± ۳۰/۲
فشار خون دیاستولی(mmHg) *	۷۴/۵ ± ۱۳	۷۶/۴ ± ۱۱/۴
کلسترول تام (mg/dl) *	۱۹۲/۹ ± ۳۴/۱	۱۸۳/۱ ± ۵۲/۳
تری گلیسرید (mg/dl) *	۱۹۵/۲ ± ۷۳/۳	۲۰۰ ± ۱۱۷/۱
HDL-C (mg/dl) ‡	۴۲/۴ ± ۱۲/۱	۳۷/۴ ± ۱۰/۳
LDL-C (mg/dl) ❋	۱۰۷/۸ ± ۲۶/۳	۹۸/۸ ± ۳۸/۷
فعالیت پاراکسونازی § (nmol/min/ml)	۱۷۹/۸ ± ۹۰/۵	۱۴۷/۲ ± ۷۸/۲
فعالیت آریل استرازی § (µmol/min/ml)	۱۱۶/۵ ± ۴۲/۶	۱۰۱/۲ ± ۴۰/۸

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند.

* اختلاف در دو گروه از نظر آماری معنی دار نیست (مقادیر P با آزمون student's t-test محاسبه شدند). † اختلاف در دو گروه از نظر آماری معنی دار نیست (مقدار P با آزمون $\chi 2$ محاسبه شد). ‡ اختلاف در دو گروه از نظرآماری معنی دار است (P<۰/۰۳ که باآزمون student's t-test محاسبه گردید). § اختلاف در دو گروه از نظر آمار معنی دار است (P<۰/۰۵ که با آزمون student's t-test محاسبه گردید).



شکل۱. تشکیل سه mode مجزای (نشان دهنده سه فنوتیپ مجزای Q، QR و R) حاصل از نسبت فعالیت پاراکسونازی تحریک شده با نمک به فعالیت آریل استرازی در بیماران با گرفتگی عروقی کمتر از ۵۰ درصد. (پیکان ها نقاط تفکیک را نشان می دهند)



شکل۲. تشکیل سه mode مجزای (نشان دهنده سه فنوتیپ مجزای Q، QR و R) حاصل از نسبت فعالیت پاراکسونازی تحریک شده با نمک به فعالیت آریل استرازی در بیماران با گرفتگی عروقی بیشتر از ۷۰ درصد. (پیکان ها نقاط تفکیک را نشان می دهند)

می‌دهد. داده‌های این جدول درباره مقایسه دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد که هم فعالیت پاراکسونازی و هم فعالیت آریل استرازی (مجموع فعالیت در زنان و مردان) در گروه بیمار با گرفتگی بیش‌تر از ۷۰ درصد نسبت به بیماران با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد به طور معنی‌داری پایین‌تر است (P<۰/۰۵). هم‌چنین گروه بیمار مرد با گرفتگی بیش‌تر از ۷۰ درصد نسبت به بیماران مرد با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد فعالیت پاراکسونازی پایین‌تری دارند و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۵). بررسی نتایج جدول ۲ برای هر گروه مورد مطالعه به طور جداگانه نشان می‌دهد که هم در گروه بیمار با گرفتگی کم‌تر از ۵۰ درصد و هم در بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد فعالیت آریل استرازی آنزیم PON1 در زنان از مردان بیش‌تر است. البته این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نیست. فعالیت پاراکسونازی این آنزیم نیز در بیماران زن با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد از مردان بیش‌تر است (بدون ارتباط معنی‌دار)؛ اما این فعالیت آنزیم در گروه بیمار با گرفتگی کم‌تر از ۵۰ درصد در مردان بیش‌تر از زنان است (بدون ارتباط معنی‌دار).

توزیع فنوتیپی بیماران مورد مطالعه در جدول ۳ آمده است. همان‌طور که در این جدول نشان داده شده، هم در گروه بیمار با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد و هم در گروه بیمار با

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد فعالیت پاراکسونازی فنوتیپ Q نسبت به این فعالیت آنزیم در فنوتیپ‌های QR (P<۰/۰۱) و R (P<۰/۰۰۱) به طور معنی‌داری پایین‌تر است. هم‌چنین افراد دارای فنوتیپ QR نسبت به فنوتیپ‌های R به طور معنی‌داری فعالیت پاراکسونازی پایین‌تر دارند (P<۰/۰۱). داده‌های ارائه شده در جدول۴ نشان می‌دهند که توزیع فنوتیپ‌های PON1 (تعداد) در بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد برحسب تعداد عروق درگیرشده، به چه صورت است. اثری که پلی‌مورفیسم ۱۹۲ روی فعالیت پاراکسونازی آنزیم می‌گذارد نیز در شکل ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲. فعالیت‌های پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم PON1 در افراد مورد مطالعه به تفکیک جنس

نوع فعالیت	جنس	بیماران با گرفتگی عروقی	
		کمتر از ۵۰ درصد	بیشتر از ۷۰ درصد
پاراکسونازی	مرد + زن	۱۷۹/۸ ± ۹۰/۵(n=۶۱)	*۱۴۷/۲ ± ۷۸/۲(n=۶۳)
	مرد	۱۸۵/۳ ± ۹۳/۱(n=۳۰)	*۱۴۲/۱ ± ۷۳/۳(n=۴۰)
	زن	۱۷۴/۵ ± ۸۹/۲(n=۳۱)	۱۵۶/۱ ± ۸۷(n=۲۳)
آریل استرازی	مرد + زن	۱۱۶/۵ ± ۴۲/۶(n=۶۱)	*۱۰۱/۲ ± ۴۰/۸(n=۶۳)
	مرد	۱۰۸/۳ ± ۴۳/۹(n=۳۰)	۹۹/۹ ± ۴۲/۷(n=۴۰)
	زن	۱۲۴/۴ ± ۴۰/۳(n=۳۱)	۱۰۳/۶ ± ۳۸/۱(n=۲۳)

* اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) نسبت به گروه بیمار با گرفتگی عروقی کمتر از ۵۰ درصد

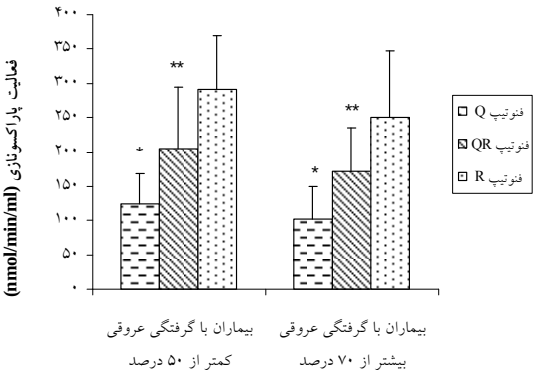
جدول ۳. توزیع فنوتیپ‌های آنزیم PON1 و فعالیت پاراکسونازی این فنوتیپ‌ها در بیماران با گرفتگی عروقی کمتر از۵۰ درصد و بیشتر از ۷۰ درصد

فنوتیپ	بیماران با گرفتگی عروقی					
	کمتر از ۵۰ درصد			بیشتر از ۷۰ درصد		
	n	٪	فعالیت پاراکسونازی	n	٪	فعالیت پاراکسونازی
Q	۲۵	۴۱	*۱۲۳/۵ ± ۴۵/۸	۳۰	۴۸	*۱۰۱/۸ ± ۴۸/۸
QR	۲۸	۴۶	†۲۰۴/۶ ± ۸۹/۵	۲۶	۴۱	†۱۷۲/۱ ± ۶۳/۶
R	۸	۱۳	۲۹۱/۳ ± ۷۸/۷	۷	۱۱	۲۴۹/۷ ± ۹۸

* اختلاف از نظر آماری معنی دار با فنوتیپ QR(P<۰/۰۱)و فنوتیپ R (P<۰/۰۰۱). † اختلاف از نظر آماری معنی دار با فنوتیپ R (P<۰/۰۱).

جدول ۴. توزیع فنوتیپ های PON1 (تعداد) در بیماران با گرفتگی عروقی بیشتر از ۷۰ درصد برحسب تعداد عروق درگیرشده.

فنوتیپ	تعداد رگ مسدود شد		
	یک (n=۲۴)	دو (n=۲۱)	سه (n=۱۸)
Q	۸	۱۳	۹
QR	۱۴	۷	۶
R	۲	۱	۳



شکل۳. اثر پلی مورفیسم ۱۹۲ روی فعالیت پاراکسونازی PON1.
* اختلاف از نظر آماری معنی دار نسبت به فنوتیپ QR (P<۰/۰۱) و نسبت به فنوتیپ R (P<۰/۰۰۱). ** اختلاف از نظر آماری معنی دار نسبت به فنوتیپ R (P<۰/۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

پلی‌مورفیسم Q/R192 یکی از پلی‌مورفیسم‌های رایج آنزیم PON1 است [۷]. بر اساس این پلی‌مورفیسم هر فرد می‌تواند یکی از فنوتیپ‌های Q، QR و R را داشته باشد [۱۵،۱۳]. از آن‌جا که پلی‌مورفیسم Q/R192 وابسته به سوبسترا بوده و آلوزیم R سوبسترای پاراکسون را سریع‌تر از آلوزیم Q هیدرولیز می‌کند [۱۳،۷]، افراد دارای فنوتیپ R از افراد دارای فنوتیپ‌های QR و Q فعالیت پاراکسونازی بیش‌تری خواهند داشت. هم‌چنین، این فعالیت آنزیم در فنوتیپ‌های QR از فنوتیپ‌های Q بیش‌تر خواهد بود. یافته‌های ما در مطالعه حاضر نشان داد که آلوزیم R می‌تواند پاراکسون را سریع‌تر از آلوزیم Q هیدرولیز کند. فعالیت پاراکسونازی آنزیم در افراد دارای فنوتیپ R از افراد دارای دو فنوتیپ دیگر بالاتر بود، اشخاص دارای فنوتیپ QR فعالیت

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

متوسطی را نشان دادند و این فعالیت آنزیم در افراد دارای فنوتیپ Q کم‌ترین مقدار را داشت (شکل ۳). این نتایج با داده‌های منتشر شده توسط مکنس و همکارانش هماهنگی داشتند [۷]. با توجه به این که آلوزیم‌های R و Q پاسخ‌های متفاوتی به تحریک با NaCl نشان می‌دهند، اکرسون و همکارانش [۱۳] توانستند با روش دوسوبسترایی و به دست آوردن نسبت فعالیت پاراکسونازی تحریک شده با NaCl به فعالیت آریل استرازی، سه فنوتیپ آنزیم را در افراد مورد مطالعه شناسایی کنند. یافته‌های ما در مطالعه حاضر با مطالعه اکرسون و همکارانش هماهنگی نزدیکی داشت به نحوی که گروه بیمار با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد در نسبت‌های ۲/۱۴ و ۵/۹۹ و گروه بیمار با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد در نسبت‌های ۲/۴۲ و ۵/۹۱ به سه فنوتیپ مجزا تقسیم شدند. با توجه به نسبت‌های به دست آمده در مطالعه حاضر، توزیع فراوانی فنوتیپ‌های PON1 هم در بیماران مبتلا به CAD با گرفتگی کم‌تر از ۵۰ درصد و هم در گروه بیمار با گرفتگی بیش‌تر از ۷۰ درصد به صورت trimodal بود که این با یافته‌های اکرسون و همکارانش [۱۳] و سپهوند و همکارانش [۱۸] هماهنگی خوبی داشت.

علی‌رغم این که سپهوند و همکارانش [۱۸] مطالعه خود را روی جمعیت ایرانی سالم انجام داده بودند اما نسبت‌های به دست آمده در مطالعه حاضر با یافته‌های آنان قابل مقایسه است. نسبت‌هایی که آنان جمعیت مورد مطالعه خود رابه سه فنوتیپ مجزا تقسیم کردند عبارت بودند از ۱/۵ و ۳/۶. فراوانی‌هایی هم که سپهوند و همکارانش [۱۸] برای سه فنوتیپ PON1 گزارش کردند هماهنگی نزدیکی با یافته‌های مطالعه حاضر دارد. مطالعه دیگری که توسط حسینی گوهری و همکارانش [۱۹] در جمعیت ایرانی انجام گرفت، نشان می‌دهد که توزیع فراوانی فنوتیپ‌های PON1 در بیماران مبتلا به CAD (با بیش از ۵۰ درصد گرفتگی) و افراد سالم تفاوت معنی‌داری ندارد. حسینی گوهری و همکارانش [۱۹] فقط بیماران مبتلا به CAD که گرفتگی عروقی آنان بیش از ۵۰ درصد بود را ارزیابی کرده بودند. در مطالعه حاضر، بیماران مبتلا به CAD به دو گروه بیمار با گرفتگی کاملاً مجزا تقسیم شدند یعنی بیماران با گرفتگی بالا (بیش از ۷۰ درصد) و گروه بیمار با گرفتگی پایین (کم‌تر از ۵۰ درصد). این نوع تقسیم‌بندی این امکان را می‌دهد که نتایج را بتوان به طور مشخص و واضح در بیماران با گرفتگی بالا و گروه بیمار با گرفتگی پایین تفسیر کرد. یافته‌های مطالعه حاضر پیرامون توزیع فراوانی فنوتیپ‌های PON1 نشان داد که توزیع این فراوانی در گروه بیمار با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد و بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد، بنابراین شاید از نتایج این مطالعه و گزارش‌های سپهوند و همکارانش [۱۸] و حسینی گوهری و همکارانش [۱۹] بتوان به این جمع‌بندی رسید که در جمعیت ایرانی توزیع فنوتیپ‌های PON1 برای پلی‌مورفیسم Q/R 192 در بیماران مبتلا به CAD (چه با گرفتگی عروقی زیاد چه با گرفتگی عروقی کم) و افراد سالم تفاوت معنی‌داری با یک‌دیگر ندارند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی و هم‌چنین حمایت و همکاری‌های بی‌دریغ آزمایشگاه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به انجام رسید. در ضمن از همکاری‌های مسئولین مرکز تحقیقات قلب و عروق بیمارستان شهید مدنی دانشگاه علوم پزشکی تبریز صمیمانه قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

[1] Kanamori-Kataoka M. and Seto Y. Paraoxonase activity against nerve gases measured by capillary electrophoresis and characterization of human serum paraoxonase (PON1) polymorphism in the coding region (Q192R). Anal Biochem 2009; 385: 94 -100.

[2] Soran H, Yousin NN, Charlton-Menys V. and Durrington P. Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. Curr Opin Lipidol 2009; 20: 265-274.

[3] Durrington PN, Mackness B. and Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21: 473-480.

[4] Mackness MI, Mackness B. and Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. Atheroscler Suppl 2002; 3: 49-55.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

[5] Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J. and Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19: 330-335.

[6] Mackness MI, Mackness B. and Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. Atheroscler Suppl 2002; 3: 49-55.

[7] Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E. and et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: Are activity and concentration more important than genotype? Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21: 1451-1457.

[8] Superko HR. Cardiovascular event risk: high-density lipoprotein and paraoxonase. J Am Coll Cardiol 2009; 54: 1246-1248.

[9] Goswami B, Tayal D, Gupta N. and Mallika V. Paraoxonases: a multifaced biomolecule. Clin Chim Acta 2009; 410: 1-12.

[10] Richter RJ, Jarvik GP. and Furlong CE. Paraoxonase 1 (PON1) status and substrate hydrolysis. Toxicol Appl Pharmacol 2009; 235: 1-9.

[11] Camps J, Marsillach J. and Joven J. The paraoxonases: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. Crit Rev Clin Lab Sci 2009; 46: 83-106.

[12] Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M. and Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. Free Radic Biol Med 2005; 38: 153-163.

[13] Eckerson HW, Wyte CM. and La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. Am J Hum Genet 1983; 35: 1126-1138.

[14] Gençer N. and Arslan O. Purification human PON1Q192 and PON1R192 isoenzymes by hydrophobic interaction chromatography and investigation of the inhibition by metals. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2009; 877: 134-140.

[15] Billicke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, HSU C. and La Du BN. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. Drug Metab Dispos 2000; 28: 1335-1342.

[16] Kural BV, Orem C, Uydu HA, Alver A. and Orem A. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant-antioxidant system in patients with dyslipidemia. Coron Artery Dis 2004; 15: 277-283.

[17] Friedwald WT, Levy RI. and Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18: 499-502.

[18] Sepahvand F, Shafiei M, Ghaffari SM, Rahimi-Moghaddam P. and Mahmoudian M. Paraoxonase phenotype distribution in a healthy Iranian population. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2007; 101: 104-107.

[19] Hosseini-Gohari L, Firooz-Rai M, Zavarei A. and Nafisi N. Study of paraoxonase phenotypes and its activity in patients with coronary artery stenosis. J Iran Uni Med Sci 2005; 46: 286-275 (Persian).

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

Determination of serum paraoxonase phenotype distribution by double-substrate method in patients with coronary artery disease

Abdolkarim Mahrooz (Ph.D)[*1], Mohammad Nouri (Ph.D)[2], Mohammad-Reza Rashidi (Ph.D)[3], Naser Aslanabadi (M.D)[4], Durdi Qujeq (Ph.D)[5]

1- Dept. of Clinical Biochemistry and genetics, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran

2 - Dept. of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3 – Dept. of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

4 - Center of Cardiology, Shahid Madani Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

5 – Dept. of Clinical Biochemistry and Biophysics, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol Iran

(Received: 6 Jun 2010 Accepted: 5 Oct 2010)

Introduction: Considering the high incidence of patients with coronary artery disease (CAD) in the Iranian population and a preventive role of serum paraoxonase (PON1) in development of CAD, the present study was designed to determine the distribution of PON1 phenotypes in patients with CAD.

Materials and Methods: A total of 61 patients with coronary stenosis of <50% and 63 patients with coronary stenosis of >70% were included in this study. Paraoxonase and arylesterase activities were measured using paraoxon and phenylacetate as substrate, respectively. Phenotyping of the PON1 Q192R polymorphism was determined by calculating the ratio of salt-stimulated paraoxonase activity to arylesterase activity (double-substrate method).

Results: Patients with stenosis of <50 % were separated into three distinct phenotypes at ratios of 2.14 and 5.99 and the population with stenosis of >70% at ratios of 2.42 and 5.91. In patients with stenosis of <50%, PON1 phenotype frequencies were 41% (Q phenotype), 46% (QR phenotype) and 13% (R phenotype). Frequencies of Q, QR and R phenotypes in patients with stenosis of >70% were 48%, 41% and 11%, respectively.

Conclusions: Based on his study and other studies conducted in Iran, it can be concluded that in the Iranian population there is no statistically difference in phenotype distribution of PON1 between patients with CAD (with severe stenosis or mild stenosis) and healthy individuals.

Keywords: Phenotype distribution, Serum paraoxonase, Arylesterase, Coronary stenosis

* Corresponding author: Fax: +98 151 3543087 ; Tel: +98 151 3543081
kmahrooz@yahoo.com

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]