

تعیین توزیع فنوتیپ‌های پاراکسوناز سرم به روش دو سوبسترای 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)، دودی 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 (Coronary 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 پلی‌مورفیسیم Q/R192 آنزیم با روش دو سوبسترای 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 پلی‌مورفیسیم 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

فنیل استات راه‌دهنده‌ی کلسیم است [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

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 سوبستراهای مختلف از جمله ارگانوفسفات‌هایی مانند پاراکسون و استرهای نظیر

[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 [۶، ۷]، 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 [۶، ۸]. آنزیم‌های HDL در این عمل آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی بازی می‌کنند و به احتمال زیاد PON1 نقش اصلی را در این زمینه به عهده دارد [۳، ۶]. 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 [۹، ۱۱].

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 [۳، ۱۲]. 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 (Coronary 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 سوبسترای 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 ۵۰ درصد و بیش‌تر از ۷۰ درصد قطر حداقل یک شریان اصلی کرونر تعریف شد. بیماران مبتلا به دیابت و بیمارانی که اخیراً تحت آنژیوپلاستی کرونری یا جراحی بای‌پس 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

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 Student's t-test، Chi-square test و ANOVA استفاده شد. سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0.05$ 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 ۷۰ درصد نسبت به گروه بیمار با گرفتگی کم‌تر از ۵۰ درصد به طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($P < 0.03$).

در تعیین توزیع فنوتیپ‌های PON1 در بیماران مورد مطالعه با روش دو سوبسترای [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 (شکل ۱) و بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد در نسبت‌های ۲/۴۲ و ۵/۹۱ (شکل ۲) به سه فنوتیپ Q، QR و R تقسیم شدند. جدول ۲ فعالیت‌های پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم PON1 را به تفکیک جنس نشان

عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد و ۶۳ نفر با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد. از بیماران قبل از آنژیوگرافی نمونه‌گیری انجام شد و سرم بیماران پس از جداسازی تا زمان انجام آزمایشات در 70°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 CaCl_2 اضافه گردید. سرعت هیدرولیز پاراکسون از طریق آزاد شدن پارانیتروفنل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۴۱۲ nm با دستگاه UV-UV اسپکتروفوتومتر (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 فنیل استات (Fluka) به عنوان سوبسترا مورد سنجش قرار گرفت [۱۶]. مقدار ۱۰ میکرولیتر از سرم به مخلوط واکنش حاوی ۲ mmol فنیل استات و CaCl_2 ۲ mmol در بافر (Tris/HCL 100 mmol, pH 8.0) افزوده شد. سرعت هیدرولیز سوبسترا با روش اسپکتروفوتومتری 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 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml serum}$ گزارش شد [۱۶].

برای تعیین توزیع فنوتیپ‌های R/Q192 PON1 از روش دو سوبسترای استفاده شد [۱۳-۱۵]. در این روش برای هر فرد نسبت هیدرولیز پاراکسون در حضور 1M NaCl به هیدرولیز فنیل استات 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.

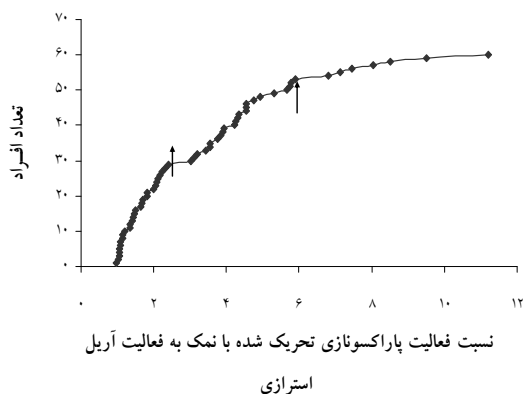
کلسترول تام، تری‌گلیسرید و HDL-C با کیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران) اندازه‌گیری شدند. LDL-C نیز از فرمول فریدوالد محاسبه گردید [۱۷].

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.

گرفتگی عروقی		متغیر
کمتر از ۵۰ درصد	بیشتر از ۷۰ درصد	
۶۳	۶۱	تعداد
۵۶/۱ ± ۹/۸	۵۳/۴ ± ۱۱/۴	سن (سال) *
(۲۳/۴۰)	(۳۱/۳۰)	جنس (مرد/زن) †
۲۷/۲ ± ۴/۲	۲۷/۱ ± ۴/۳	شاخص توده بدنی (kg/m ²) *
۱۴۷/۲ ± ۳۰/۲	۱۴۶/۹ ± ۲۷/۸	فشار خون سیستولی (mmHg) *
۷۶/۴ ± ۱۱/۴	۷۴/۵ ± ۱۳	فشار خون دیاستولی (mmHg) *
۱۸۳/۱ ± ۵۲/۳	۱۹۲/۹ ± ۳۴/۱	کلسترول تام (mg/dl) *
۲۰۰ ± ۱۱۷/۱	۱۹۵/۲ ± ۷۳/۳	تری گلیسرید (mg/dl) *
۳۷/۴ ± ۱۰/۳	۴۲/۴ ± ۱۲/۱	HDL-C (mg/dl) ‡
۹۸/۸ ± ۳۸/۷	۱۰۷/۸ ± ۲۶/۳	LDL-C (mg/dl) *
۱۴۷/۲ ± ۷۸/۲	۱۷۹/۸ ± ۹۰/۵	فعالیت پاراکسونازی (nmol/min/ml) §
۱۰۱/۲ ± ۴۰/۸	۱۱۶/۵ ± ۴۲/۶	فعالیت آریل استرازی (μmol/min/ml) §

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

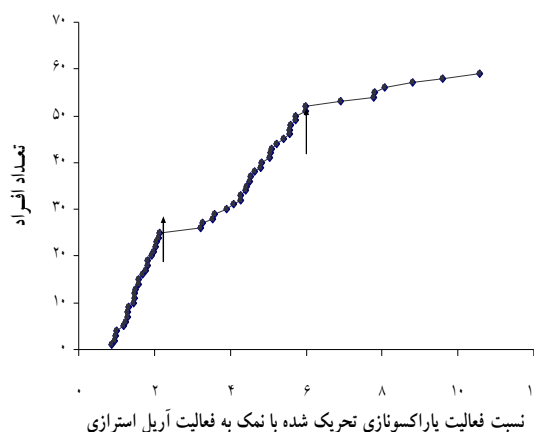
* اختلاف در دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نیست (مقادیر P با آزمون student's t-test محاسبه شدند). † اختلاف در دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نیست (مقدار P با آزمون χ^2 محاسبه شد). ‡ اختلاف در دو گروه از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.03$) که با آزمون student's t-test محاسبه گردید. § اختلاف در دو گروه از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$) که با آزمون student's t-test محاسبه گردید.



شکل ۲. 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. (پیکان‌ها نقاط تفکیک را نشان می‌دهند)

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 ($P < 0.05$). 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 ($P < 0.05$). 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).

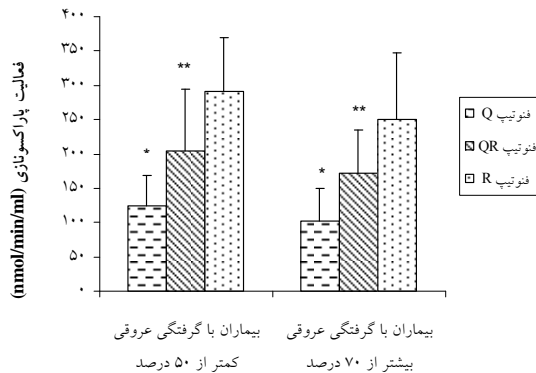
توزیع فنوتیپی بیماران مورد مطالعه در جدول ۳ آمده است. همان‌طور که در این جدول نشان داده شده، هم در گروه بیمار با گرفتگی عروقی کم‌تر از ۵۰ درصد و هم در گروه بیمار با



شکل ۱. 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. (پیکان‌ها نقاط تفکیک را نشان می‌دهند)

جدول ۴. توزیع فنوتیپ‌های PON1 (تعداد) در بیماران با گرفتگی عروقی بیشتر از ۷۰ درصد برحسب تعداد عروق درگیر شده.

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



شکل ۳. اثر پلی مورفیسم ۱۹۲ روی فعالیت پاراکسونازی PON1. * اختلاف از نظر آماری معنی دار نسبت به فنوتیپ QR ($P < 0.01$) و نسبت به فنوتیپ R ($P < 0.001$). ** اختلاف از نظر آماری معنی دار نسبت به فنوتیپ R ($P < 0.01$).

بحث و نتیجه‌گیری

پلی مورفیسم Q/R192 یکی از پلی مورفیسم‌های رایج آنزیم PON1 است [۷]. بر اساس این پلی مورفیسم هر فرد می‌تواند یکی از فنوتیپ‌های Q، QR و R را داشته باشد [۱۵، ۱۳]. از آن‌جا که پلی مورفیسم Q/R192 وابسته به سویسترا بوده و آلوزیم R سویسترای 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

گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد فعالیت پاراکسونازی فنوتیپ Q نسبت به این فعالیت آنزیم در فنوتیپ‌های QR ($P < 0.01$) و R ($P < 0.001$) به طور معنی‌داری پایین‌تر است. هم‌چنین افراد دارای فنوتیپ QR نسبت به فنوتیپ‌های R به طور معنی‌داری فعالیت پاراکسونازی پایین‌تر دارند ($P < 0.01$). داده‌های ارائه شده در جدول ۴ نشان می‌دهند که توزیع فنوتیپ‌های PON1 (تعداد) در بیماران با گرفتگی عروقی بیش‌تر از ۷۰ درصد برحسب تعداد عروق درگیر شده، به چه صورت است. اثری که پلی مورفیسم ۱۹۲ روی فعالیت پاراکسونازی آنزیم می‌گذارد نیز در شکل ۳ نشان داده شده است.

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

نوع فعالیت	جنس	بیماران با گرفتگی عروقی	
		بیشتر از ۷۰ درصد	کمتر از ۵۰ درصد
پاراکسونازی	مرد + زن	$147/2 \pm 78/2 (n=63)^*$	$179/8 \pm 90/5 (n=61)$
	مرد	$142/1 \pm 73/3 (n=40)^*$	$185/3 \pm 93/1 (n=30)$
	زن	$156/1 \pm 87 (n=23)$	$174/5 \pm 89/2 (n=31)$
آریل استرازای	مرد + زن	$101/2 \pm 40/8 (n=63)^*$	$116/5 \pm 42/6 (n=61)$
	مرد	$99/9 \pm 42/7 (n=40)$	$108/3 \pm 43/9 (n=30)$
	زن	$103/6 \pm 38/1 (n=23)$	$124/4 \pm 40/3 (n=31)$

* اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) 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 از ۵۰ درصد و بیش‌تر از ۷۰ درصد

فنوتیپ	بیماران با گرفتگی عروقی					
	بیشتر از ۷۰ درصد			کمتر از ۵۰ درصد		
	n	%	فعالیت پاراکسونازی	n	%	فعالیت پاراکسونازی
Q	۲۵	۴۱	$123/5 \pm 45/8^*$	۳۰	۴۸	$101/8 \pm 48/8^*$
QR	۲۸	۴۶	$204/6 \pm 89/5^\dagger$	۲۶	۴۱	$172/1 \pm 63/6^\dagger$
R	۸	۱۳	$291/3 \pm 78/7$	۷	۱۱	$249/7 \pm 98$

* اختلاف از نظر آماری معنی دار با فنوتیپ QR ($P < 0.01$) و فنوتیپ R ($P < 0.001$).
 † اختلاف از نظر آماری معنی دار با فنوتیپ R ($P < 0.01$).

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.

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 دوسوبسترای 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

- [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).
- [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.

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