بررسی مقایسه‌ای فراوانی پلی‌مورفیسم Gln/Arg192 آنزیم پاراکسوناز ۱ در افراد مبتلا به گرفتگی عروق کرونری و گروه کنترل

*اصغر قاسمیI

دکتر سودابه فلاحII

دکتر محسن فیروزرایIII

دکتر لادن حسینی گوهریIII

چکیده

زمینه و هدف: پاراکسوناز۱ (PON1) یک استراز مرتبط با HDL (High density lipoprotein) است که از اکسیداسیون LDL (Low density lipoprotein) جلوگیری می‌کند. پلی‌مورفیسم شایع قطعه کدکننده ژن پاراکسوناز که شامل جایگزینی Gln(Q) با Arg(R) در موقعیت ۱۹۲ می‌باشد (Gln/Arg192 یا Q/R192) بر روی فعالیت آنزیم تاثیر می‌گذارد. نشان داده شده است که آلوآنزیم R کارایی کمتری در محافظت LDL از اکسیداسیون دارد و این یافته می‌تواند توجیحی باشد بر اینکه چرا در برخی از مطالعات، ژنوتیپ RR با فراوانی بالائی در بیماران عروق کرونری یافت شده است. بنابراین جهت بررسی اهمیت این پلی‌مورفیسم در پاتوژنز بیماری عروق کرونری ما به مطالعه مقایسه‌ای فراوانی این پلی‌مورفیسم در دو گروه بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونری و کنترل پرداختیم.

روش بررسی: در این مطالعه که به روش مورد – شاهد (case - control) انجام گرفت ژنوتیپ‌های PON1 در ۱۷٤ نفر که تحت آنژیوگرافی قرار گرفتند تعیین شد. بیماری عروق کرونری (گرفتگی >۵۰٪) در ۹۹ نفر مشخص شد (بیماران) و ۷۵ نفر با گرفتگی عروق <۱۰٪ به عنوان کنترل عمل کردند. ژنوتیپهای PON1 به وسیله PCR و هضم آنزیم محدودگر AlwI تعیین شدند. درآنالیز آماری جهت مقایسه سن، BMI و پروفایل لیپیدی در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون t-student استفاد شد. فراوانیهای ژنوتیپی در دو گروه مورد مطالعه از طریق آزمون chi-square با هم مقایسه گردید. در نهایت برای تعین ارتباط نسبی ژنوتیپهای PON1 با شدت گرفتگی عروق کرونری از آزمون $\chi 2$ استفاد شد.

یافته‌ها: فراوانی‌های ژنوتیپ‌های QQ, QR, RR در گروه بیماران به ترتیب ۲۸/۳٪، ۵۰/۵٪ و ۲۱/۲٪ و در گروه کنترل به ترتیب ٤۵/۳٪، ٤۲/۷٪و ۱۲٪ مشخص شد($\chi 2$=٦۱/٤۰ و P=۰/٤٦). همچنین ارتباط این پلی‌مورفیسم با شدت گرفتگی عروق در دو گره مذکور مورد ارزیابی قرار گرفت که مطابق با نتایج توزیع ژنوتیپ‌های PON1 در مقایسه با شدت گرفتگی عروق کرونری از نظر آماری متفاوت نبود (p=۰/۲۷ و $\chi 2$=۲/٦۷).

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها پیشنهاد می‌کنند که ژنوتیپ Gln/Arg192 یک فاکتور خطرزا برای گرفتگی عروق کرونری است اما در شدت بیماری تاثیری ندارد.

کلیدواژه‌ها: ۱- بیماری عروق کرونری ۲- پاراکسوناز ۱(PON1) ۳- پلی‌مورفیسم

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱۴ ، **تاریخ پذیرش:** ۸۸/۱/۱۵

مقدمه

خانواده پاراکسوناز شامل سه ژن مرتبط با هم هستند که از نظر اسیدهای آمینه ٦۰ تا ٦۵٪ مشابه هم می‌باشند.[۱] محصولات هر سه این ژن‌ها از اکسیداسیون لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) جلوگیری می‌کنند.[۲] پاراکسوناز ۱و۳ (PON3,PON1) با لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) مرتبط هستند در حالیکه پاراکسوناز ۲(PON2) که به طور فراگیر بیان می‌شود به نظر نمی‌رسد که در ارتباط با HDL باشد.[۳]

PON1 یک استراز وابسته به کلسیم است که پس از ساخت در کبد، در پلاسما به HDL متصل می‌شود.[٤]

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه آقای اصغر قاسمی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر سودابه فلاح و مشاوره دکتر محسن فیروزرای و دکتر لادن حسینی گوهری، سال ۱۳۸۷.

I) کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسؤول)

II) استادیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

III) استاد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

این آنزیم به علت توانایی خود در سم‌زدایی حشره‌کش‌های ارگانوفسفاته و گازهای عصبی بیشتر در زمینه سم‌شناسی مورد مطالعه قرار گرفته است.[۵] نقش این آنزیم در پاتوژنز آتروسکلروزیس و بیماری‌های قلبی- عروقی دخیل گزارش شده است چرا که مشخص شده که این آنزیم از طریق هیدرولیز پراکسیدهای لیپیدی که مانع از تغییرات اکسیداتیو LDL می‌شود به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و آنتی‌آتروژنیک عمل می‌کند.[۶] علاوه بر این PON1 از طریق متابولیزه کردن لیپیدهای فعال LDL اکسیده از القای میان‌کنش‌های منوسیت/اندوتلیال دیواره عروق جلوگیری می‌کند.[۲] قابل توجه است که پراکسیداسیون LDL و پاسخ‌های التهابی ثانویه مراحل کلیدی در شروع آتروژنزیس می‌باشند. بنابراین به نظر می‌رسد که PON1 مسؤول حداقل بخشی از ویژگی‌های محافظتی HDL در بیماری‌های قلبی- عروقی باشد.[۷]

دو پلی‌مورفیسم شایع در منطقه کدکننده ژن PON1 که منجر به جایگزینی آرژینین (R) به جای گلوتامین (Q) در موقعیت ۱۹۲ (Gln/Arg192 یا Q/R192) و جایگزینی متیونین (M) به جای لوسین (L) در موقعیت ۵۵ Leu/Met (55 یا L/M 55) می‌شود به طور مستقل بر روی فعالیت آنزیمی اثرگذار بوده، به عنوان بخشی از اساس ملکولی تفاوت فعالیت آنزیم در افراد مختلف، شناخته شده‌اند.[۸و۹] فعالیت پلی‌مورفیسم Q/R192 وابسته به سوبسترا است. در حالیکه پاراکسون توسط آلوآنزیم R سریع‌تر از آلوآنزیم Q هیدرولیز می‌شود.[۱۰] اما مشخص شده است که آلوآنزیم PON1R به علت کاهش توانایی خود در هیدرولیز پراکسیدهای لیپیدی کارایی کمتری در محافظت از اکسیداسیون LDL دارد.[۱۱و۱۲] بنابراین اگرچه مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیکی ارتباط احتمالی بین پلی‌مورفیسم Q/R192 و استعدادپذیری به بیماری‌های قلبی- عروقی کاملاً شناخته نشده است، اما پیشنهاد شده که آلل R می‌تواند یک فاکتور خطرزای ژنتیکی برای توسعه این بیماری‌ها باشد و هدف از مطالعه حاضر که به صورت مورد - شاهد انجام گرفت بررسی مقایسه‌ای فراوانی پلی‌مورفیسم Gln/Arg192 (Q/R192)در افراد مبتلا به گرفتگی عروق کرونری و کنترل جهت مطالعه ارتباط این پلی‌مورفیسم با بیماری گرفتگی عروق کرونری می‌باشد.

روش بررسی

افراد مورد مطالعه

۱۷٤ نفر افراد ایرانی مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید رجائی تهران مورد مطالعه قرار گرفت. افراد مورد مطالعه شامل دو گروه کنترل و بیمار بودند. گروه کنترل ۷۵ نفری (٤۲ نفر مرد و ۳۳نفر زن، متوسط سن: ۹/٦٤±٥۳/٤٥) بخشی از جامعه مورد پژوهش را تشکیل دادند که عدم گرفتگی عروق کرونری آن‌ها توسط پزشک متخصص قلب تایید شده بود. افراد مبتلا به بیماری‌های دیابت، کبد، کلیه، افراد الکلی و با سابقه چربی و فشار خون بالا و همچنین افرادی که با حشره‌کش‌ها کار می‌کردند از این گروه حذف شدند. گروه بیمار ۹۹ نفری (۷٤ نفر مرد و ۲۵ نفر زن، متوسط سن: ۹/۳۵±۵۸/٦۱) بخشی دیگر از جامعه مورد پژوهش بودند که گرفتگی عروق کرونری آن‌ها توسط متخصص قلب مورد تایید قرار گرفته بود (stenosis>٪۵۰). این افراد به سه گروه تقسیم شدند بیماران با گرفتگی یکی از رگ‌های عروق کرونری (SVD)، بیماران با گرفتگی دو تا از رگ‌های عروق کرونری (2VD) و بیماران با گرفتگی سه تا از رگ‌های عروق کرونری (3VD).

اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی

نمونه‌های خون محیطی از تمامی افراد مورد مطالعه بعد از ناشتایی شبانه جمع‌آوری شد که نمونه سرمی جهت اندازه‌گیری پروفایل لیپیدی و نمونه خون کامل جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم Q/R192

DNA ژنومیک از لکوسیت‌های خون محیطی به روش

salting out استخراج گردید.[۱۳] قطعه هدف ۹۹ جفت بازی (99bp) با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و با بکارگیری پرایمرهای forward5'-TAT TGT TGC TGT GGG ACC TGA G-3' و revers 5'- CAC GCT AAA CCC AAA TAC ATC TC 3' تکثیر یافت. مخلوط واکنشیPCR (reaction mix) شامل ۳۰۰ng نمونه، ۰/٤ µmol/l هر پرایمر، ۲۰۰µmol/l هرdNTP، ٥µL بافر واکنشی (reaction buffer) ۱۰x و ۱/۲٥u از Taq DNA پلیمراز بود. بعد از دناتوراسیون DNA در ۹٤°C به مدت ۲ دقیقه مخلوط واکنشی به تعداد ۳٥ چرخه مورد تکثیر قرار گرفت که هر چرخه شامل ۹٤ درجه به مدت ٥۰ ثانیه، ٦٤ درجه به مدت ٤٥ ثانیه به عنوان دمای اتصال (annealing)، ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه به عنوان دمای توسعه (extension) بود. محصولات PCR با ۸U از آنزیم محدودگر A1w1 (England Biolabs) به صورت شبانه هضم شده از طریق الکتروفورز آگاروز ۳٪ و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید محصولات هضم شده جدا شدند. قطعه ۹۹ جفت بازی (99bp) مربوط به آلل Q192 به صورت هموزیگوت، قطعات ۳٥ و ٦٤ جفت بازی (35bp,64bp) مربوط به آلل R192 به صورت هموزیگوت و قطعات ۹۹، ۳٥، ٦٤ جفت بازی (99bp,35bp,64bp) مربوط به آلل R و Q192 به صورت هتروزیگوت بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

درآنالیز آماری جهت مقایسه سن، BMI و پروفایل لیپیدی در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون t-student استفاد شد. فراوانی‌های ژنوتیپی در دو گروه مورد مطالعه از طریق آزمون chi-square با هم مقایسه گردید. فراوانی‌های آللی با روش شمارش ژنی تعیین شده، تعادل هاردی- وینبرگ از طریق آزمون chi-square مورد ارزیابی قرار گرفته و در نهایت برای تعین ارتباط نسبی ژنوتیپ‌های PON1 با شدت گرفتگی عروق کرونری از آزمون χ^2 استفاد شد. مقدار P< ۰/۰٥ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمام اطلاعات کمی به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید و تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری از طریق نرم‌افزار SPPS v.14 انجام گرفتند.

یافته‌ها

ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه

در مورد پارامترهای سن و جنس و سطح LDL-C اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده می‌شود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. ویژگی‌های جمعتی مورد مطالعه

ویژگی	گروه کنترل	گروه بیمار	P-value
سن (سال)	٥۳/٤٥±۹/٦٤	٥۸/٦۱±۹/۳٥	۰/۰۰۱
جنس (مرد/زن)	(۲۹/۳۷)	(۲٥/۷٤)	۰/۰۱۸
BMI(kg/m)	۲۷/۸۸±٤/۰۹	۲٦/۱۱±٤/۳٦	۰/۱۸٦
SBP(mm hg)	۱۲/۳۳±۱/٤۳	۱۲/۳۲±۱/۳۷	۰/۹۸۳
DBP(mm hg)	۷/۸٦±۰/۹۹	۷/۸۳±۰/٤٤	۰/۸۸٤
کلسترول (mg/dl)	۱۷۹/۲۷±۳۹/۷۱	۱۷۱/۱۲±۳٥/۸۸	۰/۱۷۳
تری‌گلسیرید (mg/dl)	۱٥۷/۷٤±٦۷/٤۷	۱٤٦/٤۱±٦۳/۸۸	۰/۲۷۷
HDL (mg/dl)	۳۸/۲٥±۸/۸۳	۳۹/٥٤±۹/۰۹	۰/۳۷۰
LDL-C(mg/dl)	۱۰۰/۷۳±۲٥/٥۷	۹۳/۱۰±۲۲/۷۳	۰/۰٤۷
VLDL-C(mg/dl)	٤٤/۰۰±۲۳/٦۷	۳۹/۲۹±۲۰/۳۰	۰/۱۷٤

تمام اطلاعات به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. P< ۰/۰٥ از نظرآماری معنی دار محسوب می‌گردد.
BMI: Body mass index, SBP: systolic blood pressure
DBP: Diastole blood pressure, HDL-C: High density lipoprotein - cholesterol, VLDL-C: Very low density lipoprotein- cholesterol
LDL-C: Low density lipoprotein- cholesterol

توزیع ژنوتیپی و آللی

فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه ۹۹ نفری بیمار به ترتیب ۲۸/۳٪ =QQ، ٥۰/٥٪=QR و ۲۱/۲٪=RR و در گروه ۷٥ نفری کنترل به ترتیب ٤٥/۳٪= QQ، ٤۲/۷٪=QR و ۱۲٪=RR مشخص گردید. تعادل‌های هاردی وینبرگ (Hadry-weinberg) در توزیع ژنوتیپی برقرار بود

(p=۰/۹۸ و χ^2=۰/۰۲). فراوانی آللی در گروه بیمار به ترتیب Q=۰/٥٤ و R=۰/٤٦ و در گروه کنترل به ترتیب Q=۰/٦٧ و R=۰/۳۳ بود (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- توزیع ژنوتیپی وآللی در دو گروه بیمار و کنترل

گروه	ژنوتیپ‌ها	فراوانی ژنوتیپی	فراوانی آللی
بیمار	QQ	۲۸/۹۹=٪۲۸/۳	Q=۰/٥٤ R=۰/٤٦
	QR	٥۰/۹۹=٪٥۰/٥۰	
	RR	۲۱/۹۹=٪۲۱/۲	
کنترل	QQ	۳٤/۷٥=٪٤٥/۳	Q=۰/٦٧ R=۰/۳۳
	QR	۳۲/۷٥=٪٤۲/۷	
	RR	۹/۷٥=٪۱۲	

QQ ژنوتیپ هموزیگوت با فعالیت بالا، QR: ژنوتیپ هتروزیگوت با فعالیت بالا، RR: ژنوتیپ هموزیگوت با فعالیت پایین (χ^2=٦۱/٤۰ و P=۰/٤٦)

ارتباط ژنوتیپ‌های Q/R192 با شدت گرفتگی عروق کرونری

اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های Q/R192 با شدت گرفتگی عروق کرونری مشاهده نمی‌گردد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- ارتباط ژنوتیپ‌های Q/R192 با شدت گرفتگی عروق کرونری

ژنوتیپ	شدت گرفتگی عروق کرونری		
	SVD	2VD	3VD
QQ+QR	۳۰	۲۰	۲۸
RR	۹	۲	۱۰
جمع	۳۹	۲۲	۳۸

(P=۰/۲۷ و χ^2=٥/۹۷)

بحث

در مطالعه حاضر ما به بررسی مقایسه‌ای فراوانی پلی‌مورفیسم Q/R192 در افراد مبتلا به گرفتگی عروق کرونری وکنترل پرداختیم و این پلی مورفیسم را به عنوان یک فاکتور خطرزا برای این بیماری یافتیم. در تفسیر این یافته باید گفت که فعالیت PON1 بین افراد مختلف به میزان ٤۰-۱۰ مرتبه متغیر است و جایگزینی Gln (Q) با Arg (R) در موقعیت ۱۹۲ این آنزیم که به طور مستقل بر روی فعالیت آنزیم تاثیر می‌گذارد به عنوان بخشی از اساس مولکولی تغییر فعالیت این آنزیم شناخته شده است.[۸] مشاهده شده است که آلوآنزیم R در ممانعت از اکسیداسیون LDL نسبت به آلوآنزیم Q کارایی کمتری دارد.[۱۱و۱۲] همین یافته می‌تواند دلیل احتمالی فراوانی بالای ژنوتیپ RR در گروه بیماران مطالعه حاضر باشد. این یافته با برخی از مطالعات که بر روی جمعیت‌ها و بیماری‌های مختلف قلبی- عروقی انجام گرفتند همخوانی داشته است. به طوری که از مقایسه ۸۱ بیمار دچار سکته قلبی با ۲٥٥۳ کنترل مشخص شد کهPON1R یک فاکتور مستقل برای سکته قلبی است.[۱٤] به طور مشابه از مقایسه ۱۳۹ بیمار مبتلا به CAD با ۱۱۹ کنترل، ژنوتیپ RR نه تنها به عنوان یک فاکتورخطرزا برای CAD معرفی گردید بلکه با شدت گرفتگی عروق کرونری هم مرتبط دانسته شد.[۱٥] در این دو مطالعه همانند مطالعه حاضر بالاترین درصد فراوانی ژنوتیپ‌های PON1در گروه کنترل و بیماران به ترتیب Q/Q و Q/R بود. به هر حال در مطالعه Pasdar A و همکارانش که در آن ۳۹۷ بیمار دچار سکته قلبی با ٤۰۰ نفر کنترل مقایسه گردید، تفاوت معنی‌داری در ژنوتیپ‌های PON1 مشاهده نشده و پلی‌مورفیسم Q/R192 به عنوان یک فاکتورخطرزا برای CAD رد گردید.[۱٦] در نهایت در مطالعه‌ای که اخیراً توسط M Flekac و همکارانش به منظور بررسی مقایسه‌ای فراوانی پلی‌مورفیسم Q/R192 در دو گروه بیماران مبتلا به دیابت (تعدادی از آنها دچار عوارض عروقی بوده اند) و کنترل انجام گرفته است، تفاوت معنی‌داری در فراوانی پلی‌مورفیسم مربوطه مشاهده گردیده است.[۱۷] اما برخلاف مطالعه ما که ژنوتیپ RR فراوانی بالایی در گروه بیماران داشت در این مطالعه فراوانی بالای ژنوتیپ RR در گروه کنترل گزارش گردیده است.

در بحث نتایج ضد و نقیض در بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های PON1 با بیماری عروق کرونری، اولین نکته‌ای که به نظر می‌رسد تفاوت در شرایط انتخاب جمعیتها و طراحی مطالعات مورد - شاهد است. در مطالعه Pasdar A وهمکارانش نسبت «مرد: زن» در گروه بیماران «۱:۱» بود که تفاوت قابل ملاحظه‌ای با مطالعه ما که در آن این نسبت «۲/۹: ۱» می‌باشد، دارد. با توجه به اینکه سطح لیپیدها بسته به جنس، متغیر است و زنان بالغ در مقایسه با مردان بالغ دارای سطوح بالای HDL-C هستند، بنابراین ممکن است که این مسئله بر روی فعالیت PON1 و پلی‌مورفیسم آن موثر باشد.[۱۸] در مطالعه M Flekac و همکارانش تمامی افراد گروه، بیماران مبتلا به دیابت بوده‌اند و همانگونه که در این مطالعه و مطالعات دیگر مشخص شده است فعالیت PON1 در بیماران مبتلا به دیابت کاهش دارد.[۱۹] چون این کاهش فعالیت مستقل از ژنوتیپ است بنابراین پیشگویی تاثیر پلی‌مورفیسم بر روی فعالیت آنزیم وارتباط آن با بیماری عروق کرونری در این مطالعه با مطالعه ما متفاوت خواهد بود. از طرف دیگر میانگین سنی افراد گروه کنترل در این مطالعه و مطالعه حاضر به ترتیب ٤١ و ٥٣ سال می‌باشد. اگر کاهش فعالیت PON1 به همراه افزایش سن را به علت پیشرفت شرایط استرس اکسیداتیو بپذیریم؛[۲۰] باید در گروه کنترل مطالعه اخیر احتمالاً کسانی باشند که پس از کسب میانگین سنی گروه کنترل مطالعه ما مبتلا به بیماری عروق کرونری می‌شوند و همین تفاوت در معیارهای انتخاب گروه‌های مورد مطالعه می‌تواند یکی از دلایل احتمالی نتایج متفاوت در مطالعات مختلف باشد.

علاوه بر تفاوت شرایط انتخاب گروه‌های مورد مطالعه، تفاوت‌های نژادی زیادی در توزیع ژنوتیپ‌های PON1 مشاهده شده است که ممکن است یکی دیگر از دلایل تفاوت نتایج در مطالعات مختلف باشد.[۲۱]

در نهایت باید گفت که در حالت کلی ژنوتیپ R/R نسبت به ژنوتیپ Q/Q فعالیت پاراکسونازی بیشتری دارد.[۱۰] اما در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی همیشه همسان با فعالیت آنزیمی و ژنوتیپ‌های مختلف این آنزیم نیست. با اینکه قبلاً مشخص شده بود که ژنوتیپ R/R توانایی کمتری در هیدرولیز پراکسیدهای لیپیدی LDL دارد؛[۱۱و۱۲] در مطالعه حاضر و برخی دیگر از مطالعات دلیل فراوانی بالای ژنوتیپ R/R در گروه بیماران همین مسئله عنوان می‌شود.[۱۵و۲۲] ولی اخیراً در یکی از مطالعات مشخص شده است که چون آنزیم PON1 Q192 نسبت به آلوآنزیم R به میزان سه برابر تمایل کمتری در اتصال به HDL دارد، در نتیجه از پایداری و فعالیت لاکتونازی کمتری برخوردار است.[۲۳] با توجه به اینکه قبلاً در یکی از مطالعات آزمایشگاهی مشخص شده بود که نقص فعالیت لاکتونازی PON1 توانائی این آنزیم را در محافظت از اکسیداسیون LDL کاهش می‌دهد، یکی از مطالعات اخیر، یافته خود را که در آن ژنوتیپ R/R فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشت، تکمیل‌کننده این مطالعات معرفی می‌کند.[۲٤و۲٥] مرور این مطالعات یک نکته اساسی را مطرح می‌کند و آن اینکه برخلاف مطالعات نسبتاً گسترده، مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدانی وبه ویژه اینکه کدامیک از ژنوتیپ‌ها فعالیت آنتی‌کسیدانی بالایی دارد هنوز کاملاً مشخص نشده است و همین مسئله می‌تواند یکی دیگر از دلایل وجود فراوانی‌های مختلف ژنوتیپ‌های PON1 در مطالعات مختلف باشد.

در این مطالعه همچنین مشخص شد که پلی‌مورفیسم Q/R192 بدون در نظر گرفتن سایر فاکتورهای خطرزا با شدت گرفتگی عروق کرونری مرتبط نیست. این یافته در نگاه اول کمی عجیب به نظر می‌رسد چرا که فراوانی ژنوتیپ RR به طور معنی‌دار در گروه بیمار بیشتر بوده است و پیشتر نیز اشاره گردید که این ژنوتیپ توانایی کمتری در هیدرولیز پراکسیدهای لیپیدی LDL دارد و چون OX-LDL فاکتور مرکزی در بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد؛[۲٦] بنابراین به نظر می‌رسد که این

ژنوتیپ با شدت بیماری نیزمرتبط باشد. اما باید این نکته مد نظر قرار گیرد که پلی‌مورفیسم‌ها تنها بخشی از تغییر فعالیت آنزیم PON1 را تشکیل می‌دهند و فعالیت آنزیم علاوه بر فاکتورهای ژنتیکی تحت تاثیر فاکتورهای اکتسابی و محیطی مثل تغذیه، سبک زندگی (مصرف سیگار و الکل و...)، مواد شیمیایی محیطی، سن و جنس و فاکتورهای متعدد دیگر قرار می‌گیرد.[۲۷] بطوریکه در مطالعه‌ای با وجود عدم اختلاف معنی‌دار ژنوتیپ‌های PON1 بین دو گروه بیمار و کنترل، کاهش فعالیت PON1 در گروه بیمار گزارش شده و غلظت و سطح فعالیت آنزیم نسبت به پلی‌مورفیسم فاکتور مهم‌تری در پیش‌بینی بروز CVD مطرح می‌شود.[۲۸] علاوه بر این آتروسکلروزیس یک بیماری با علل و عوامل مختلف ژنتیکی و اکتسابی است که به صورت بسیار پیچیده تحت تاثیر این عوامل بروز می‌نماید.[۲۹] در این بررسی یک عامل به صورت یکی از پلی‌مورفیسم‌های ژن دخیل در بروز این بیماری مورد مطالعه قرار گرفت که فقط یک فاکتور از بین ده‌ها فاکتور دخیل در این بیماری می‌باشد. بنابراین با توجه به اینکه علل و عوامل مختلفی در بروز و شدت این بیماری وجود دارد احتمال می‌رود که علی‌رغم اینکه ژنوتیپ PON1RR در مطالعه ما به عنوان یک فاکتور خطرزا برای بروز بیماری گرفتگی عروق کرونری می‌باشد اما در شدت بیماری احتمالاً علل و عواملی مهم‌تر از این پلی‌مورفیسم دخالت دارند.

از محدویت‌های پژوهش می‌توان به تعداد نمونه‌های نسبتاً کم، جهت حصول نتایج قطعی‌تر و فقدان فعالیت آنزیمی به ویژه در پیشگویی ارتباط این پلی‌مورفیسم با شدت گرفتگی عروق کرونری اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص شد که با اینکه یک اختلاف معنی‌دار بین فراوانی پلی‌مورفیسم‌های Q/R192 بین دو گروه بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونری و افراد کنترل وجود دارد و فراوانی ژنوتیپ RR در گروه بیماران بیشتر می‌باشد، اما این ژنوتیپ با شدت بیماری مرتبط نمی‌باشد. بنابراین اگرچه می‌توانیم پلی‌مورفیسم Q/R192 را به عنوان یک فاکتور خطرزای ژنتیکی برای بیماری گرفتگی عروق کرونری مطرح کنیم اما در شدت بیماری احتمالاً علل و عوامل مهم‌تری از این پلی‌مورفیسم دخالت دارند.

تقدیر و تشکر

این طرح با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است و بدین وسیله نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را نسبت به آن معاونت اعلام می‌دارند.

فهرست منابع

1- Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multi gene family. Genomics. 1996; 33: 498 –507

2- Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. J Clin Invest. 1995; 96: 2882–2891

3- Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell mediated oxidative modification of low density lipoprotein. J Biol Chem. 2001; 276: 44–9

4- Tomas M, Latorre G, Senti M, Marrugat J. The antioxidant function of high density lipoproteins: A new paradigm in atherosclerosis. Rev Esp Cardiol. 2004; 57: 557-69

5- Li B, Sedlacek M, Manoharan I, Boopathy R, Duysen

EG, Masson P, Lockridge O: Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human
Plasma. Biochem Pharmacol. 2005; 70: 1673-84

6- Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. Atherosclerosis. 1993; 104: 129–35

7- Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions: A possible peroxidative role for praoxonase. J Clin Invest. 1998;101: 1581–90

8- Humbert R, Adler DA, Disteche CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. Nat Genet. 1993; 3: 73–6

9- Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, Ruiz J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme: a possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. J Clin Invest. 1997; 99: 62–6

10- Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. Nat Genet. 1996;14: 334-36

11- Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Durrington PN. The alloenzymes of paraoxonase determine the effectiveness of high-density lipoprotein in protecting low density lipoprotein against lipid-peroxidation. Lancet. 1997; 349: 851–52

12- Aviram M, Hardk E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, et al. Human serum paraoxonase (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid arteriosclerotic lesions. Circulation. 2000; 101: 2510-17

13- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acid Res. 1988; 16:12-15

14- Ranade K, Kirchgessner TG, Iakoubova OA, Devlin JJ, Delmonte T, Vishnupad P, et al. Evaluation of the paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism 1 gene is associated with increased risk of stroke. Strock. 2005; 36: 2346-50

15- Ozkok E, Aydin M, Babalik E, Ozbek Z, Ince N, Kara I. Combined impact of matrix metalloproteinase-3 and paraoxonase 1 55/192 gene variants on coronary artery disease in Turkish patients. Med Sci Monit. 2008; 14: 536-42

16- Pasdar A, Ross-Adams H, Cumming A, Cheung J, Whally L, Clair D, Macleod M.J. Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. BMC Medical Genetcs. 2006; 7: 28-34.

17- Flekac M, Skraha J, Zidkova K, Lacinova Z, Hilgertova J. Paraoxonase 1 Gene Polymorphisms and Enzyme Activities in Diabetes Mellitus. Physiol. Res. 2008; 57: 717-26

18- Lawlor DA, Day I, Gaunt TR, Hinks LJ, Briggs PJ, Kiessling M and at al.The association of the PON1 Q192R polymorphism with coronary heart disease: findings from the British Women's Heart and Health cohort study and ameta-analysis. BMC Genetics. 2004; 5: 17-29

19- Karabina SA, Lehner AN, Frank E, Parthasa Rathy S, Santanam N: Oxidative inactivation of paraoxonase - implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. Biochim Biophys Acta.2005; 1725: 213-22

20- Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. Exp Gerontol 2004; 39: 59-66

21- Koda Y, Tachida H, Soejima M, Takenaka O, Kimura H. Population differences in DNA sequence variation and linkage disequilibrium at the PON1 gene. Ann Hum Genet. 2004; 68: 110-19

22- Irace C, Cortese C, Fiaschi E, Scavelli F, Liberatoscioli L, Federici G, et al. The influence of PON1 192 polymorphism on endothelial function in diabetic subjects with or without hypertension. Hypertens Res. 2008; 31: 507-13

23- Gaidukov L, Rosenblat M, Aviram M, Tawfik DS. The 192R/Q polymorphs of serum paraoxonase PON1differ in HDL binding, lipolactonase stimulation, and cholesterol efflux. Lipid Res. 2006; 47: 2492–2502

24- Khersonsky O, and Tawfik DS. The histidine 115-histidine134 dyad mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonases. Biol. Chem. 2006; 281: 7649–56

25- Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, et al. Relationship of Paraoxonase 1 (PON1) Gene Polymorphisms and Functional Activity With Systemic Oxidative Stress and Cardiovascular Risk. JAMA. 2008; 299: 1265-76

26- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB: Diabetes,

oxidative stress, and antioxidants: a review. J Biochem MolToxicol . 2003; 17: 24-38

27- Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. Biochemical pharmacology. 2005; 69: 541-50

28- Mackness B, Gershan K, Wajdi T, Evelyn L, David H, Elizabeth H, et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: Are activity and concentration more important than genotype? Arter.Throm.Vasc. Biol. 2001; 21: 1451-57

29- Lusis, AJ, Mar R, Pajukanta P. Genetics of atherosclerosis. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2004; 5: 189–218

Comparative Study of the Frequency of Paraoxonase1 Gln/Arg192 Polymorphism in Patients with Coronary Artery Stenosis and Control Subjects

***A.Ghasemi, MS[I] S.Fallah, PhD[II] M.Firoozrai, PhD[III] L.Hosseini Gohari, PhD[III]**

Abstract

Background & Aim: Serum paraoxonase (PON1) is an HDL (high density lipoprotein) associated esterase that prevents the oxidation of LDL (low density lipoprotein). A common polymorphism in coding region of the paraoxonase gene involving a Gln (Q) to Arg (R) interchange at position 192 has been demonstrated to affect PON1 activity. It has been shown that R alloenzyme is less efficient at preventing LDL from oxidation and this finding may explain why in some studies the paraoxonase RR genotype has been found at an increased frequency in coronary artery disease (CAD); therefore, to investigate the significance of this polymorphism in pathogenesis of CAD, we performed a comparative study of the frequency of this polymorphism in patients with stenosis and control subjects.

Patients and Method: In the present case-control study, PON1 genotypes were determined in 174 subjects who underwent coronary angiography. CAD (>50% stenosis) was detected in 99 subjects (patients) and 75 subjects with <10% stenosis served as controls. PON1 genotypes were determined by PCR and AlwI restriction enzyme digestion. Students' t-test was used to compare age, BMI, and lipid profile in control and patient groups. Genotype frequencies were compared by Chi-square test. The relationship between PON1 genotypes and the severity of disease in patient group was evaluated by Chi-square test.

Results: The frequencies of the QQ, QR and RR genotypes were found as 28.3%,50.5% and 21.2% in patient group and 45.3% , 42,7% and 12% in control subjects respectively ($\chi 2=6.12$; $p=0.046$). The association of this polymorphism with the severity of stenosis was also evaluated,but according to the results of the distribution of PON1 genotypes and compared with the severity of stenosis,it was not statistically significant ($\chi 2=2.67$; $p=0.27$).

Conclusion: These results suggest that Gln/Arg 192 genotype is a risk factor for stenosis but does not have any effects on the severity of this disease.

Key Words: 1) CAD (coronary artery disease) 2) PON1 (paraoxonase1) 3) Polymorphism

---

This article is an abstract of Mr.Ghasemi's thesis advised by Dr.Fallah and read by Dr.Firoozrai and Dr.Hosseini Gohari in partial fulfillment of an MS degree in clinical biochemistry.

I) MS in Clinical Biochemistry.Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.(Corresponding Author)*
II) Assistant Professor of Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.
III) Professor of Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services.Tehran,Iran.