

# مطالعه فنوتیپ‌ها و فعالیت آنزیم پاراکسوناز در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونر

## چکیده

آنژیم پاراکسوناز می‌تواند استرهاي آلى فسفات‌دار را هیدرولیز نماید. مهم‌ترین سوبسترانی این آنزیم در مطالعات آزمایشگاهی پاراکسون است. در سرم انسان این آنزیم همراه با HDL در خون جریان دارد. به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت پاراکسوناز در انسان ممکن است خطر ابتلاء به گرفتگی عروق کرونر را افزایش دهد. تغییرات ژنتیکی در دو آل متوزومی پاراکسوناز می‌تواند باعث کاهش فعالیت آن شود. تغییرات ژنتیکی در آلل‌های ۲ن پاراکسوناز ۳ نوع فنوتیپ ایجاد می‌کند که عبارتند از A و AB و B. فعالیت فنوتیپ B بیشتر از ۲ فنوتیپ دیگر A و AB می‌باشد. به جهت فراوانی گرفتگی عروق کرونر در جمعیت ایرانی و نیز موثر بودن آنزیم پاراکسوناز بر روند گرفتگی عروق کرونر، فعالیت و فنوتیپ‌های پاراکسوناز در سرم خون افراد پارامترهای لیپیدی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر فنوتیپ‌های آن با عوامل خطر گرفتگی عروق کرونر ایرانی تعیین گردید و ارتباط میان فعالیت پاراکسوناز و فنوتیپ‌های آن با عوامل خطر گرفتگی عروق کرونر موردن ارزیابی قرار گرفت. بیماران مورد مطالعه افرادی بودند با بیش از ۵۰٪ گرفتگی عروق کرونر که به مرکز قلب رجائی تهران مراجعه کرده بودند و گرفتگی عروق آن‌ها توسط آنژیوگرافی تأیید شده بود و نتایج با افراد سالم مقایسه گردید. فعالیت پاراکسوناز سرم افراد مورد مطالعه در حضور NaCl و بدون حضور آن و نیز فعالیت آریل استرازی آن اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین فنوتیپ‌ها از نسبت فعالیت پاراکسوناز به فعالیت آریل استرازی آن استفاده شد. فعالیت پاراکسوناز سرم در گروه بیمار چه در حضور NaCl و چه بدون حضور آن، به طور معنی‌داری پائین‌تر بود (به ترتیب  $P=0.01$  و  $P=0.00$ ). فعالیت آریل استرازی این آنزیم در ۲ گروه بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری نداشت. نسبت فعالیت پاراکسوناز و فعالیت آریل استرازی نیز در گروه بیمار کاهش نشان می‌داد ( $p=0.02$ ). توزیع فراوانی فنوتیپ‌های سه گانه آنزیم پاراکسوناز در دو گروه بیمار و سالم و نیز بر حسب جمعیت آن‌ها از تفاوت معنی‌داری برخوردار نبود. میزان تری‌گلیسرید، VLDL-C در بیماران بیشتر از افراد سالم بود ( $P=0.00$ ) اما از نظر میزان HDL-C و آپو AI کاهش (به ترتیب  $p=0.00$  و  $p=0.01$ ) نشان داد در حالی که از نظر میزان کلسترول تمام، LDL-C و آپو B تفاوت معنی‌داری بین گروه سالم و بیمار مشاهده نشد. با توجه به کاهش چشمگیر میزان فعالیت آنزیم و عدم تفاوت شاخص فراوانی فنوتیپ‌ها در دو گروه بیمار و سالم به نظر رسید که تعیین فعالیت پاراکسوناز در سرم در مقایسه با تعیین فنوتیپ‌های آنزیم مارکر بهتری برای تمایز بیماران از افراد سالم باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱- فعالیت پاراکسوناز ۲- فنوتیپ‌های پاراکسوناز  
۳- گرفتگی‌های عروق کرونر ۴- لیپیدها ۵- لیپوپروتئین‌ها

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۸۴/۲/۱۰

(I) دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران.

(II) دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران. (\*مؤلف مسئول)

(III) استادیار بیوشیمی بالینی، مرکز قلب شهید رجایی، تهران.

(IV) کارشناس علوم آزمایشگاهی، بیمارستان مفید.

## مقدمه

نمی‌گردد، از این رو با این روش می‌توان فنوتیپ A را از B تشخیص داد.<sup>(۲)</sup>

تشخیص فنوتیپ A از B را می‌توان از روی نسبت فعالیت آنزیم در حضور پاراکسون و یک مولار NaCl به فعالیت آریل استرازی آنزیم در حضور فنیل استات (سوبسترات) دیگر آنزیم نیز انجام داد. در سرم انسان، پاراکسوناز همراه با HDL در خون جریان دارد و در واقع HDL حامل پاراکسوناز است.<sup>(۱)</sup> از این رو در بیماری‌هایی که میزان HDL خون کاهش می‌یابد فعالیت پاراکسوناز نیز کمتر است.

نشان داده شده است که کاهش غلظت HDL-C به مقدار ۰.۹٪ به کاهش آپولیپوپروتئین-I A-II نیز می‌انجامد، سبب کاهش فعالیت پاراکسوناز به میزان ۸۹٪ می‌گردد.<sup>(۱)</sup> مطالعات نشان داده‌اند که در بیماران مبتلا به بیماری عروق قلبی (CHD) فعالیت پاراکسوناز با کاهش HDL و آپولیپوپروتئین‌های I A-II همراه است.<sup>(۱)</sup> در بیماران مبتلا به IDDM و هیپرلیپیدمی فامیلی (FH) نیز فعالیت پاراکسوناز به طور چشمگیری کاهش نشان می‌دهد.<sup>(۱)</sup> یکی از خصوصیات HDL مهار اکسیداسیون LDL به طور است، نشان داده شده است که آنزیم پاراکسوناز موجود در HDL با ممانعت از اکسیداسیون LDL از تولید لیپیدهای پراکسید شده جلوگیری می‌کند<sup>(۴)</sup>، از این رو به نظر می‌رسد که فعالیت کمتر پاراکسوناز می‌تواند گرفتگی عروق کرونر را سرعت بخشد. آنزیم فنوتیپ B فعالیت هیدرولیز کنندگی پاراکسون بیشتری دارد و در حضور یک مولار NaCl تحريك می‌شود و پاراکسون را بسیار بیشتر از آنزیم فنوتیپ A هیدرولیز می‌نماید.<sup>(۲)</sup>

در مطالعه حاضر به جهت فراوانی بالای بیماری‌های قلبی، به‌ویژه گرفتگی عروق کرونر در جامعه ایرانی و نیز موثر بودن میزان فعالیت آنزیم پاراکسوناز بر بروز بیماری‌های قلبی، ضمن تعیین نوع فنوتیپ‌های سرمی آنزیم پاراکسوناز در افراد ایرانی رابطه فعالیت این آنزیم با بروز گرفتگی عروق کرونر مورد بررسی قرار گرفته است.

پاراکسوناز(EC 3.1.8.1, aryldialkyl phosphatase) یک آنزیم A-استراز است که می‌تواند استرهای آلی فسفات‌دار را هیدرولیز نماید. در واقع سوم آفات نباتی و حشره‌کش‌ها و نیز گازهای عصبی از این نوع استرها هستند.

مهم‌ترین سوبسترات این آنزیم که جهت مطالعات آزمایشگاهی از آن استفاده می‌شود ترکیبی به نام پاراکسون (Paraoxone) متابولیتی سمی که برای ساخت حشره‌کش‌های مانند پاراتیون O,O-diethyl-O-nitrophenyl phosphate به کار می‌رود) است. کبد و خون مقدار زیادتری پاراکسوناز دارند. فعالیت این آنزیم در حشرات، پرندگان و ماهی بسیار ناچیز است.<sup>(۵)</sup> ژن‌های مربوط به این آنزیم از دو ال آتوزومی تشکیل شده‌اند.<sup>(۱)</sup>

تغییرات ژنتیکی در این آلل‌ها می‌تواند باعث کاهش فعالیت پاراکسوناز شود. از این رو پاراکسوناز در برخی افراد، فعالیت بیشتری دارد و در افراد دیگر فعالیت آن کمتر است. این تغییرات ژنتیکی در میان اقوام مختلف بسیار متنوع است، به طوری که در ۵۳٪ از اروپائیان میزان فعالیت پاراکسوناز پائین است. فعالیت پاراکسوناز در سرخپوستان آمریکای جنوبی بالاتر است.<sup>(۱)</sup>

تغییرات ژنتیکی پاراکسوناز در دو آل آن سبب تولید پاراکسوناز با فعالیت بالا و پائین می‌گردد.<sup>(۲)</sup> شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد این تغییرات ژنتیکی در موقعیت ۱۹۱ ساختمان پروتئینی پاراکسوناز سبب جابه‌جایی آمینواسیدهای آرژنین(فنوتیپ B) با گلوتامین(فنوتیپ A) می‌گردد و جابه‌جایی متیونین با لوسین در موقعیت ۵۴ نیز می‌تواند ایجاد گردد<sup>(۲)</sup> به طوری که ۳ نوع فنوتیپ از آنزیم تولید می‌گردد.

۳ نوع فنوتیپ پاراکسوناز با (AA), (AB) و (BB) نمایش داده می‌شوند، فنوتیپ B فعالیت نسبی بیشتری برای هیدرولیز پاراکسون دارد و در حضور یک مولار NaCl فعالیتش تحريك می‌گردد در صورتی که فنوتیپ A تحريك

## روش بررسی

برای اندازه‌گیری تری‌گلیسرید از کیت اندازه‌گیری تری‌گلیسرید به روش آنژیماتیک GPO استفاده شد. در این روش ابتدا تری‌گلیسرید موجود در سرم به کمک آنزیم لیپاز هیدرولیز کلیسروول آزاد تحت تاثیر آنزیم کلیسروول کیناز و به کمک ATP تبدیل به گلیسروول ۳ فسفات شده و گلیسروول ۳ فسفات به کمک آنزیم گلیسروفسفات اکسیداز و مصرف اکسیژن مولکولی اکسید و در نهایت آب اکسیژنه رها می‌شود که به کمک آنزیم پراکسیداز موجب اکسید شدن ترکیب رنگزا می‌شود.

تعیین میزان LDL-C با استفاده از رابطه فراید والد که عبارت است از  $\text{LDL-C} = \frac{1}{5} \text{TG} + \text{HDL-C}$  انجام گردید. تعیین اندازه آتروژنیک از رابطه LDL-C/HDL-C و تعیین ریسک فاکتور از رابطه T-Chol/HDL-C به دست آمد. جهت اندازه‌گیری آپولیپوپروتئین B با استفاده از آنتی‌سرا B Apo به طریقه نفلومتری استفاده شد. به این ترتیب که در اثر باند شدن آنتی‌ژن (Apo B) به آنتی‌سرم Apo B کمپاکس نامحلول آنتی‌ژن - آنتی‌سرم آپو B تشکیل می‌شود. هنگامی که نور از میان این سوسپانسیون عبور می‌نماید قسمتی از آن تفرق پیدا می‌کند که توسط فتودیود اندازه‌گیری می‌شود. میزان تفرق نور به طور مستقیم مناسب با میزان ذرات پروتئین موجود در نمونه است، غلظت Apo B به صورت اتوماتیک توسط منحنی استاندارد ذخیره شده در دستگاه محاسبه می‌شود.

جهت اندازه‌گیری آپو AI(AI) از کیت اندازه‌گیری آپولیپوپروتئین AI با استفاده از آنتی‌سرا AI به طریقه نفلومتری استفاده گردید. به این ترتیب که در اثر باند شدن آنتی‌ژن (Apo AI) به آنتی‌سرم Apo AI کمپاکس نامحلول آنتی‌ژن - آنتی‌سرم Apo AI تشکیل می‌شود. هنگامی که نور از میان این سوسپانسیون عبور می‌نماید، قسمتی از آن تفرق می‌یابد که توسط فتودیود اندازه‌گیری می‌شود. میزان تفرق نور به طور مستقیم، با میزان ذرات پروتئین موجود در نمونه مناسب است. برای اندازه‌گیری فعالیت آریل استرازی از سوبسترازی فنیل استات(آلدریخ -

از بین بیماران مراجعه کننده به بیمارستان قلب شهید رجائی جهت آنژیوگرافی عروق کرونر ۹۴ نفر (۲۸ نفر زن و ۶۶ نفر مرد) با مشاوره متخصص‌های قلب انتخاب گردیدند. هیچ کدام از بیماران دیابتیک نبودند و خون‌گیری از آن‌ها قبل از مراحل آماده‌سازی جهت آنژیوگرافی صورت گرفت. گروه کنترل این مطالعه ۱۰۶ نفر بودند (۷۳ نفر زن، ۳۳ نفر مرد) که به طور تصادفی از میان کارکنان بیمارستان مفید و دانشگاه علوم پزشکی ایران انتخاب شدند و در صورت داشتن سوابق چربی خون بالا، گرفتگی عروق کرونر، دیابت، فشار خون بالا و یا کشیدن سیگار و کار با مواد حشره‌کش گیاهی از مطالعه حذف می‌شدند. سپس براساس قد و وزن BMI محاسبه گردید. افراد مورد مطالعه در گروه‌های سنی ۲۶ تا ۷۶ سال بودند. نمونه‌گیری از بیماران و افراد کنترل پس از ۱۲ ساعت ناشتا بودن به عمل آمد. نمونه‌های خون پس از ۲۰ دقیقه ماندن در حرارت اتاق با دور ۲۸۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند، سپس بر حسب حجم مورد نیاز در چهار لوله مجزا تقسیم می‌شدند که یکی از لوله‌ها به عنوان ذخیره محسوب می‌گردید و همگی در ۸۰-درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند و در زمان مناسب آزمایشات بر روی آن‌ها انجام می‌گرفت.

جهت اندازه‌گیری کلسترول تام از کیت اندازه‌گیری کلسترول به روش آنژیماتیک CHOD-PAP دستی استفاده گردید. کلسترول ابتدا توسط آنزیم کلسترول استراز هیدرولیز سپس کلسترول آزاد توسط آنزیم کلسترول اکسیداز، اکسید شده و آب اکسیژنه رها می‌شود. آب اکسیژنه به کمک آنزیم پراکسیداز موجب اکسید شدن ترکیب رنگزا می‌شود، که ترکیب رنگزا اکسید شده صورتی رنگ می‌باشد.

جهت اندازه‌گیری HDL-C از کیت اندازه‌گیری CHOD-PAP دستی استفاده گردید. ابتدا به کمک معرف رسوب دهنده، LDL و VLDL را رسوب داده و پس از سانتریفوژ در محلول رویی شفاف، HDL مطابق اندازه‌گیری کلسترول توتال اندازه‌گیری شد.

محصول تبدیل نماید ۱ واحد تعريف گردید. اندازه‌گیری پاراکسوناز در حضور NaCl مطابق اندازه‌گیری فعالیت پاراکسونازی پایه انجام شد با این تفاوت که معرف حاوی یک مول در لیتر کلرور سدیم بود.<sup>(۵)</sup> برای تفکیک فنوتیپ‌های پاراکسوناز فعالیت پاراکسونازی در حضور کلرور سدیم تقسیم بر فعالیت آریل استرازی گردید(نسبت پاراکسونازی CV) در حضور نمک به آریل استرازی). ضریب تغییرات(CV) برای روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آریل استراز ۱/۸٪ و برای روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۴/۹٪ بود. بررسی نرمال بودن توزیع هر یک از پارامترهای لبییدی و آنزیمی با استفاده از آزمون Kolmogrov-Smirnov انجام شد. نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel تنظیم گردید.

داده‌های کمی با آزمون t-Student و ANOVA و داده‌های کیفی با آزمون Chi-square و با به کارگیری نرم‌افزار SPSS ۹ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار بودن مقایسه‌ها را نشان داده است.

#### نتایج

خصوصیات فردی و بالینی افراد مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آورده شده‌اند. افراد بیمار از نظر میزان فشار خون و شاخص توده بدنی(BMI) یکسان بودند. وضعیت پارامترهای لبییدی گروه بیماران در مقایسه با گروه سالم غیر از میزان کلسترول تام، LDL-C و نسبت DL-C/HDL-C و آپولیپوپوتئین B در بقیه موارد تفاوت چشم‌گیری نشان می‌داد(جدول شماره ۲)، به طوری که میزان تری‌گلیسرید و VLDL-کلسترول در گروه بیمار بسیار بیشتر از گروه سالم بود( $P=0/000$ )، اما میزان آپولیپوپوتئین A-I در گروه بیمار کمتر از گروه سالم بود( $P=0/000$ ).

نسبت کلسترول تام به HDL کلسترول نیز در گروه بیمار بیشتر از گروه سالم بود( $P=0/02$ )(جدول شماره ۲). در مردان گروه بیمار اگر چه غلظت تری‌گلیسرید سرم تفاوت معنی‌داری با مردان گروه سالم نشان نمی‌داد اما در زنان گروه بیمار افزایش غلظت تری‌گلیسرید در مقایسه با زنان

سیگما) استفاده گردید که باعث هیدرولیز آن به فنل و اسیداستیک می‌گردد. به این ترتیب در یک کووت کوارتز با قطر ۱ سانتی‌متر ۳ میلی‌لیتر معرف حاوی ۱۰ میلی‌مول فنیل استات و ۹ میلی‌مول بافر تریس/ $\text{HCl}$  با  $\text{pH}=8$  میلی‌مول کلرور کلسیم ریخته و ۵ میکرو‌لیتر سرم اضافه شد و مخلوط گردید و بعد از ۱ دقیقه جذب را به فاصله ۱ دقیقه یک بار تا ۴ بار در طول موج ۲۷۰ نانومتر در مقابل بلانک معرف که ابتدا جذب آن صفر شده بود، خوانده شد. سپس  $\Delta\text{Ab}$  محاسبه شد، میانگین آن را در رابطه:

$$\text{U/L} = \frac{\Delta\text{Ab}}{۱۳۱} \times \frac{Vt}{Vs} \times \frac{۱}{t} \times ۱۰^۲$$

قرار داده و میزان فعالیت بر حسب میلی‌مول در لیتر یا میکرومول در میلی‌لیتر محاسبه شد.<sup>(۵)</sup> ضریب خاموشی بر حسب مول در لیتر و مقدار فعالیت آنزیمی که بتواند یک میلی‌مول سوبسترا را در زمان ۱ دقیقه در یک لیتر سرم(و یا یک میکرومول در یک میلی‌لیتر سرم) به محصول تبدیل نماید یک واحد تعريف می‌شود.<sup>(۵)</sup> برای اندازه‌گیری فعالیت پاراکسوناز پایه(بدون حضور NaCl) ابتدا یک میلی‌لیتری معرف کار(حاوی یک میلی‌مول پاراکسون، یک میلی‌مول کلسیم در بافر گلایسین ۰/۰۵ مولار با  $\text{pH}=10/5$ ) در داخل کووت با قطر ۱ سانتی‌متر(با ظرفیت، اندازه‌گیری حجم یک میلی‌لیتر) ریخته شد سپس ابتدا در طول موج ۴۱۲ دستگاه را در مقابل بلانک معرف صفر کرده و ۵ لاندا سرم اضافه و مخلوط پس از یک دقیقه جذب( $\text{Ab}$ ) به فاصله هر ۱ دقیقه تا ۴ بار در حرارت ۲۵°C سانتی‌گراد خوانده شد.

سپس  $\Delta\text{Ab}$  را محاسبه و میانگین آن را در فاکتور مربوطه ضرب کرده و میزان فعالیت از رابطه:

$$\text{U/L} = \frac{\Delta\text{Ab}}{۱۸/۱۲ \times ۱۰^۲} \times \frac{Vt}{Vs} \times \frac{۱}{t} \times ۱۰^۲$$

به دست آمد و  $۱۸/۲۹ \times ۱۰^۳ =$  ضریب خاموشی مولی پارانیتروفنل محاسبه گردید. مقدار فعالیت آنزیمی در ۱ لیتر سرم که بتواند در زمان ۱ دقیقه ۱ میکرومول سوبسترا را به

غلفت آپوپروتئین A-I تنها در مردان بیمار و نه در زنان بیمار، در مقایسه با مردان و زنان گروه سالم کاهش نشان می‌داد ( $P=0.00$ ) (جدول شماره ۳).

گروه سالم معنی دار بود ( $P=0.00$ ). غلفت VLDL کلسترول در مردان و زنان گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم بالاتر بود (به ترتیب  $P<0.05$  و  $P=0.00$ ).

جدول شماره ۱- خصوصیات فردی و بالینی افراد مورد مطالعه

سالم		بیمار		
زن	مرد	زن	مرد	سن (سال)
۳۹/۳۱±۷/۷۶	۳۹/۰۰±۱۱/۱۵	۵۴/۱۹±۱۱/۵۱ <sup>a</sup>	۵۳/۱۴±۱۲/۸۱ <sup>a</sup>	
۷۳	۳۳	۲۸	۶۶	تعداد
۱۱/۱۴±۱/۱۴	۱۱/۸۶±۰/۸۰	۱۱/۷۹±۲/۷۵	۱۱/۸۶±۱/۲۹	(mmHg)ABP
۷/۰۶±۱/۴۱	۷/۶۸±۰/۷۷	۷/۰۰±۰/۱۶	۷/۳۲±۰/۸۲	(mmHg)DBP
۲۴/۲۸±۴/۱۲	۲۴/۲۲±۴/۹۶	۲۸/۲۲±۵/۰۱ <sup>a</sup>	۲۵/۹۲±۲/۹۱	(kg/m <sup>2</sup> )BMI

- مقایسه با زنان یا مردان سالم ( $P=0.00$ )

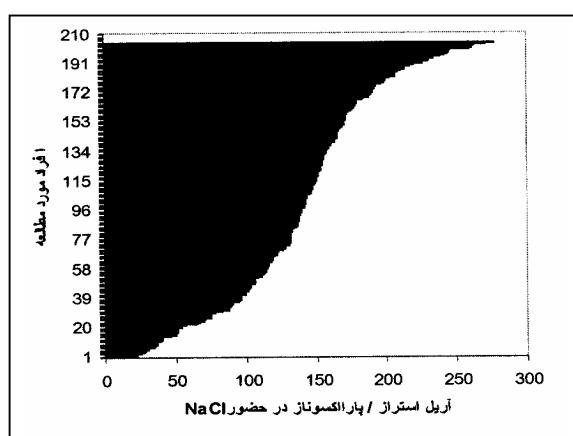
جدول شماره ۲- وضعیت پارامترهای لیپیدی در افراد مورد مطالعه

ارزش p	سالم	بیمار	
NS	۱۷۳/۹۹±۳۹/۶۴	۱۷۴/۴۱±۴۱/۸۰	کلسترول تام (mg/dl)
۰/۰۰	۱۳۷/۱۲±۱۰۸/۸۶	۲۰۸/۷۸±۱۳۶/۵۲	تری گلیسرید (mg/dl)
۰/۰۱	۴۲/۹۷±۱۷/۴۹	۳۶/۴۳±۸/۶۱	(mg/dl)HDL-C
NS	۱۰۴/۶۰±۳۴/۵۶	۱۰۴/۰۶±۸۰/۳۹	(mg/dl)LDL-C
۰/۰۰	۲۹/۹۵±۲۶/۱۷	۶۲/۱۶±۴۶/۷۸	(mg/dl)VLDL-C
۰/۰۲	۴/۴۱±۱/۷۶	۴/۹۴±۱/۴۳	TC/HDL-C
NS	۲/۷۴±۱/۳۹	۲/۷۱±۱/۱۴	LDL-C/HDL-C
۰/۰۰	۱/۵۸±۰/۳۳	۱/۴۳±۰/۲۱	(g/l)Apo A-I
NS	۱/۰۷±۰/۴۰	۱/۰۱±۰/۲۶	(g/l)Apo B

جدول شماره ۳- خصوصیات پارامترهای لیپیدی در افراد مورد مطالعه به تفکیک جنس

سالم		بیمار		
زن	مرد	زن	مرد	
۱۷۳/۲۴±۳۷/۳۹	۱۷۶/۴۳±۴۴/۴۴	۱۸۲/۸۱±۲۸/۳۵	۱۶۹/۶۹±۴۲/۷۶	کلسترول تام (mg/dl)
۱۱/۰۵±۶۲/۹۵	۱۷۹/۸۵±۱۴۵/۵۴	۲۴۳/۰۸±۱۶۱/۶۵ <sup>a</sup>	۱۹۲/۱۲±۱۲۱/۵۴	تری گلیسرید (mg/dl)
۴۲/۳۶±۱۴/۶۱	۴۲/۰۸±۲۲/۹۴	۳۸/۱۴±۸/۵۳	۳۵/۵۲±۸/۶۲ <sup>b</sup>	(mg/dl)HDL-C
۲۵/۸۳±۲۰/۰۸	۳۹/۰۹±۳۴/۸۹	۷۳/۱۶±۵۶/۶۶ <sup>a</sup>	۵۶/۹۱±۴۰/۹۶ <sup>b</sup>	(mg/dl)VLDL-C
۱۰۷/۸۰±۳۴/۶۹	۹۶/۹۱±۳۲/۵۶	۱۲۱/۲۷±۱۳/۰۰	۹۶/۲۷±۳۹/۴۴	(mg/dl)LDL-C
۴/۳۲±۱/۷۵	۴/۶۱±۱/۷۸	۴/۹۱±۱/۲۰	۴/۹۵±۱/۵۲	TC/HDL-C
۲/۷۴±۱/۳۷	۲/۷۲±۱/۴۶	۲/۵۴±۰/۹۲	۲/۸۰±۱/۲۲	LDL-C/HDL-C
۱/۵۶±۰/۳۴	۱/۶۲±۰/۳۱	۱/۰۵±۰/۲۱	۱/۴۰±۰/۱۹ <sup>c</sup>	(g/l)Apo A-I
۱/۰۷±۰/۲۸	۱/۰۹±۰/۴۳	۱/۰۹±۰/۲۸	۱/۰۰±۰/۲۰	(g/l)Apo B

- مقایسه با زنان سالم ( $P=0.00$ ), b- مقایسه با مردان سالم ( $P<0.05$ ), c- مقایسه با مردان سالم ( $P=0.00$ )



**نمودار شماره ۱** - توزیع نسبت فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی سرم خون در افراد مورد مطالعه

فعالیت آنزیم در افراد با فنوتیپ AA کمترین و با فنوتیپ BB بیشترین بوده است. میزان فعالیت آنزیم در افراد با فنوتیپ AB متوسط بوده است. برای تعیین فنوتیپ هر یک از افراد مورد مطالعه می‌توان با رسم نمودار فعالیت پاراکسوناز در حضور NaCl برخلاف فعالیت آریل استرازی آنزیم، نمایش داد(نمودار شماره ۲). در این نمودار، افراد با فنوتیپ AA نزدیک به محور افقی و افراد با فنوتیپ AB در میان این دو قرار می‌گیرند(نمودار شماره ۲).<sup>(۵)</sup>

فعالیت آنزیم پاراکسوناز سرم گروه بیمار چه در حضور NaCl و چه بدون حضور آن به طور قابل توجهی از گروه سالم پائین‌تر بود(به ترتیب  $P=0.01$  و  $P=0.00$ )(جدول شماره ۴). فعالیت آریل استرازی این آنزیم در گروه‌های بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری نداشت و معیار خوبی برای تشخیص افراد بیمار از افراد سالم نبود، اما به سبب تفاوت چشم‌گیر فعالیت پاراکسوناز در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم، نسبت فعالیت آریل استراز/پاراکسوناز نیز در افراد بیمار نسبت به افراد سالم کمتر بود( $P=0.02$ )(جدول شماره ۴).

فعالیت پاراکسوناز در مردان گروه بیمار چه در حضور NaCl و چه بدون حضور گروه بیمار کمتر از مردان گروه سالم بود( $P=0.039$ ) اما در زنان گروه بیمار تنها بدون حضور NaCl فعالیت پاراکسوناز به طور معنی‌داری کمتر از زنان گروه سالم بود( $P=0.001$ )(جدول شماره ۵). نوع فنوتیپ آنزیم با رسم منحنی توزیع نسبت فعالیت آریل استراز/پاراکسوناز در میان افراد مورد مطالعه تعیین گردید(نمودار شماره ۱). این منحنی از ۳ بخش مشخص تشکیل شده است. ابتدای منحنی شامل افراد با فنوتیپ AA( $0/0$  تا  $2/30$ )، بخش میانی منحنی شامل افراد با فنوتیپ AB( $2/40$  تا  $5/10$ ) و بخش بالایی منحنی شامل افراد با فنوتیپ BB( $5/20$  تا  $11/60$ ) بوده‌اند.

**جدول شماره ۴** - فعالیت آنزیم پاراکسوناز در افراد مورد مطالعه

ارزش P	سالم	بیمار	فعالیت پاراکسوناز در حضور NaCl ( $\mu\text{mol/L}$ )
0.01	۴۶۴/۱۸ ± ۳۰۸/۸۸	۳۴۶/۴۹ ± ۲۳۳/۸۹	فعالیت پاراکسوناز بدون حضور NaCl ( $\mu\text{mol/L}$ )
0.00	۲۷۵/۱۸ ± ۱۴۹/۵۲	۱۶۱/۷۸ ± ۱۰۴/۱۴	فعالیت پاراکسوناز بدون حضور NaCl ( $\mu\text{mol/L}$ )
NS	۱۴۶/۳۶ ± ۴۹/۲۶	۱۳۷/۰۲ ± ۵۶/۶۳	فعالیت آریل استراز ( $\mu\text{mol/L}$ )
0.02	۲/۵۸ ± ۲/۶۸	۲/۷۸ ± ۲/۲۴	فعالیت آریل استراز/پاراکسوناز

**جدول شماره ۵** - فعالیت پاراکسوناز و آریل استراز در افراد مورد مطالعه به تفکیک جنس

فعالیت	گروه‌ها					
	سالم	بیمار	مرد	مرد	زن	زن
پاراکسوناز در حضور NaCl ( $\mu\text{mol/L}$ )						
پاراکسوناز بدون حضور NaCl ( $\mu\text{mol/L}$ )						
آریل استراز ( $\mu\text{mol/L}$ )						
آریل استراز/پاراکسوناز						

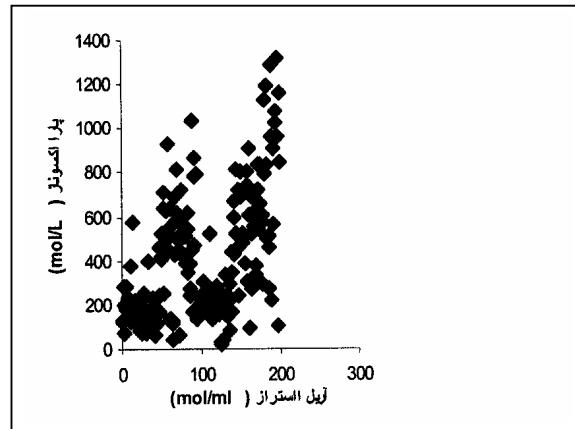
a - مقایسه با زنان سالم( $P=0.001$ ), b - مقایسه با مردان سالم( $P=0.002$ ), c - مقایسه با مردان سالم( $P=0.0002$ )

**بحث و نتیجه‌گیری**

HDL مجهز به یک سیستم آنزیمی است که به کمک این سیستم آنزیمی و آپولیپروتئین AI مانع از اکسیداسیون LDL می‌شود. این سیستم آنزیمی متشكل از آنزیم پاراکسوناز، PAFAH (Platelet Activating Factor Acyl Hydrolase) (PAFAH)، فسفولیپاز D، پروتئاز (Cholesterol Acyl Transferase Lecithin) LCAT و می‌باشد. ژن آنزیم پاراکسوناز عضوی از یک خانواده ۳ ژنی (حداکثر) است. اگر چه سوبسٹرای فیزیولوژیک آن ناشناخته است اما نقش آن در حفاظت لیپوپروتئین‌های سرم در مقابل عوامل پراکسیداسیون نشان داده شده است.<sup>(۶)</sup>

در این مطالعه غلظت تری‌گلیسرید سرم بیماران، به طور معنی‌داری بالاتر از گروه افراد سالم بود ( $P=0.00$ ) و میزان HDL-C، VLDL-C سرم نیز تفاوت چشمگیری نشان می‌داد (به ترتیب  $P=0.00$  و  $P=0.01$ ).

مقایسه توزیع فنتیپ‌ها میان گروه بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول شماره ۶). این تفاوت با توجه به جنسیت افراد در دو گروه بیمار و سالم از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول شماره ۷). مقایسه غلظت پارامترهای لیپیدی در فنتیپ‌های ۳ گانه تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.



نمودار شماره ۲- فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی در هر یک از افراد مورد مطالعه

جدول شماره ۶- توزیع فنتیپ‌ها میان افراد بیمار و سالم\*

جمع		سالم		بیمار		گروه فنتیپ‌ها
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۴۵/۵	۹۱	۴۲/۴۵	۴۵	۴۸/۹۴	۴۶	AA
۳۷/۵	۷۵	۳۷/۷۴	۴۰	۳۷/۲۳	۲۵	AB
۱۷	۳۴	۱۹/۸۱	۲۱	۱۳/۸۳	۱۳	BB
۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۱۰۶	۱۰۰	۹۴	جمع

\* مقایسه فراوانی فنتیپ‌ها میان افراد بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

جدول شماره ۷- توزیع فنتیپ‌ها میان افراد بیمار و سالم به تفکیک جنس\*

سالم				بیمار				گروه فنتیپ‌ها
زن	مرد	زن	مرد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۴۶/۶	۳۴	۳۳/۴	۱۱	۵۰	۱۴	۴۸/۵	۳۲	AA
۲۵/۶	۲۶	۴۲/۴	۱۴	۴۲/۹	۱۲	۳۴/۸	۲۳	AB
۱۷/۸	۱۳	۲۴/۲	۸	۷/۱	۲	۱۶/۷	۱۱	BB
۱۰۰	۷۳	۱۰۰	۳۳	۱۰۰	۲۸	۱۰۰	۶۶	جمع

\* مقایسه فراوانی فنتیپ‌ها میان افراد بیمار و سالم بر حسب جنس تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

کبدی (LPL) است نقش اساسی در متابولیسم VLDL و هیدرولیز تری‌گلیسرید آن دارد کاملاً قابل توجیه است که در گروه بیماران به علت کاهش HDL و اختلال در متابولیسم VLDL و TG ریسک بیماری‌های قلبی عروقی حتی اگر بین کلسترول توتال و LDL-C گروه سالم و بیمار اختلاف معنی‌داری نباشد بیشتر بوده است.

با توجه به آن که آپو پروتئین AI در همان بخشی (Subfraction) از HDL قرار دارد که آنزیم پاراکسوسناز در آن واقع است<sup>(۷)</sup>، منطقی به نظر می‌رسد که کاهش HDL و آپوپروتئین AI به همراه کاهش فعالیت پاراکسوسناز بوده و چنین افرادی استعداد بیشتری به گرفتگی عروق کرونر داشته باشند. برخلاف مطالعاتی که نشان داده‌اند غلاظت آپوپروتئین B کاهشی در بیماران مبتلا به CAD نداشته‌اند<sup>(۱۲، ۱۳)</sup> در مطالعه حاضر و نیز مطالعه‌ای دیگر کاهش آپوپروتئین B سرم خون بیماران با گرفتگی عروق کرونر همراه بوده است.<sup>(۹)</sup>

مطالعه‌ای که روی جمعیت مبتلا به CAD انجام شده، نشان داده است که آپوپروتئین B و نسبت Apo AI/ApoB شاخص بهتری در تفاوت بیماران مبتلا به CAD و افراد سالم بوده است.<sup>(۱۱)</sup> که نتایج مطالعه حاضر عکس آن را نشان داده است و با توجه به نقش HDL و حضور آپوAI در آن نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر منطقی‌تر به نظر می‌رسد. در حالی که اغلب مطالعات کاهش فعالیت پاراکسوسناز سرم را نشان داده‌اند<sup>(۱۴، ۱۵)</sup> در مطالعه کنونی کاهش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در بیماران CAD به دست آمده است<sup>(۹)</sup>. این تفاوت حضور NaCl و P=۰/۰۰ بدون حضور NaCl. این تفاوت چشمگیر در جمعیت زنان و مردان مشاهده گردید (جداول S.Adkins et al. شماره ۴ و ۵). بر طبق گزارشات Canoline A.Abbott et al. در حضور نمک به آریل استرازی برای فنوتیپ AA برابر ۱/۲۱±۰/۱، برای فنوتیپ AB برابر ۰/۸۵±۰/۶۸ و

برخلاف غلاظت C، VLDL-C، HDL-C و تری‌گلیسرید دو پارامتر لیپیدی دیگر یعنی کلسترول تام و LDL-C سرم در بیماران و افراد سالم تفاوت معنی‌داری نشان نداد. آپوپروتئین AI در یکی از Subfraction‌های HDL قرار دارد که آنزیم پاراکسوسناز نیز در آن حضور دارد<sup>(۷)</sup> که در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونر کاهش چشمگیری داشته است (P=۰/۰۰). در حالی که آپوپروتئین B سرم اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

فعالیت پاراکسوسناز در بیماران، چه در حضور NaCl و چه بدون آن کاهش قابل توجهی داشت (به ترتیب P=۰/۰۱ و P=۰/۰۰). این تفاوت برای نسبت آریل استرازی/پاراکسوسناز در گروه بیماران نسبت به گروه افراد سالم تفاوت معنی‌داری نشان نداد. فنوتیپ پاراکسوسناز در هر فرد از افراد مورد مطالعه برحسب فعالیت پاراکسوسناز سرم تعیین گردید. مقایسه فراوانی فنوتیپ‌های ۳ گانه AA، AB و BB در دو گروه افراد بیمار و سالم مشابه مطالعه‌ای که روی افراد ترک انجام شده است<sup>(۹)</sup> تفاوت معنی‌داری نشان نداد در حالی که در جمعیت ژاپنی این تفاوت معنی‌دار بوده است.<sup>(۱۰)</sup>

در مطالعه حاضر، بالا بودن تری‌گلیسرید و VLDL-C در بیماران با همین نتایج در مطالعه دیگر مشابه بوده است.<sup>(۹)</sup> این تفاوت در کلسترول و LDL-C سرم دیده نشد که در مطالعه دیگری نیز چنین بوده است.<sup>(۹)</sup> به نظر می‌رسد که تری‌گلیسرید و VLDL-C شاخص‌های بهتری نسبت به کلسترول و LDL-C در بررسی پیش‌رفت گرفتگی عروق کرونر باشند. از طرف دیگر کاهش آپوپروتئین AI به همراه HDL-C سرم در بیماران را می‌توان چنین توجیه نمود که آپو AI به عنوان کوفاکتور فعال کننده آنزیم LCAT می‌باشد که به کمک این آنزیم و فسفولیپید لسیتین، HDL کلسترول آزاد و اضافه بافت‌ها را استریفیله می‌کند و به تدریج ساختمان کروی می‌گیرد و در نهایت موجب انتقال کلسترول استر به کبد می‌شود. از طرفی با توجه به اینکه HDL به کمک آپو CII که فعال کننده لیپوپروتئین لیپاز خارج

این نشان داده شد که فعالیت پاراکسوسناز حتی با چاقی نیز ارتباط معنی‌داری دارد ( $P=0.006$ )<sup>(21)</sup> که این امر ارتباط سن و چاقی افراد را با فعالیت پاراکسوسناز نشان داده است.

با توجه به ارتباط سن و چاقی با فعالیت آنزیم پاراکسوسناز اخیراً توجه بیشتری به اثر مواد غذایی و داروها بر فعالیت این آنزیم جلب شده است<sup>(22)</sup> نتایج به دست آمده هنوز متناقض است. در حالی که برخی مطالعات این عوامل را بر فعالیت آنزیم موثر می‌دانند<sup>(23)</sup> برخی دیگر موثر نبودن آن‌ها را گزارش نموده‌اند.<sup>(24)</sup> (25)

به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که فعالیت آنزیم پاراکسوسناز با افزایش تری‌گلیسرید و VLDL-C و کاهش HDL-C و آپو پروتئین AI همراه بوده در حالی که کلسیترون تام، LDL-C و آپولیپوپروتئین B تغییر معنی‌داری نداشته‌اند. HDL به عنوان یک لیپوپروتئین آنتی‌آتروژنیک به همراه آنزیم پاراکسوسناز مانع از اکسیداسیون LDL می‌شود.

با توجه به آن که سطح پلاسمائی LDL و ApoB در افراد در دامنه طبیعی بوده است می‌بایست توجه ویژه‌ای به میزان HDL-C و ApoAI و فعالیت آنزیم پاراکسوسناز داشت. فعالیت پاراکسوسناز سرم کاهش چشم‌گیری در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونر داشته است تفاوت توزیع فراوانی فنوتیپ‌های آنزیم در بیماران، تفاوتی با افراد سالم داشته است لذا برای بررسی وضعیت این آنزیم در جمعیت‌های بیمار مبتلا به گرفتگی عروق کرونر بهتر است با تعیین فعالیت ویژه آنزیم و مقایسه فعالیت آنزیم صورت گیرد و در مقایسه، توزیع فراوانی فنوتیپ‌های آن از اهمیت کمتری برخوردار است.

#### تقدیر و تشکر

انجام مطالعه حاضر، با همکاری خانم فاطمه گابله ممکن گردید، ایشان در مراحل جمع‌آوری نمونه، تکمیل فرم‌های

برای فنوتیپ BB برابر ۷/۳۶±۰/۸ گزارش گردیده است که در مطالعه حاضر نسبت آریل استراز به پاراکسوسناز برای فنوتیپ AA برابر با ۴/۰۷، برای AB برابر با ۰/۷۰ و برای BB برابر با ۱/۷۸ بوده است. بنابراین در جمعیت تحت مطالعه (مطابق نمودار شماره ۱) مانند جمعیت‌های اروپائی، توزیع فراوانی فنوتیپ‌ها به صورت Trimodal است در حالی که در جمعیت غیر اروپایی توزیع فراوانی فنوتیپ AA فعالیت پاراکسوسنازی کمتری دارد به طوری که یا بسیار پائین است و یا اصلاً وجود ندارد. در جمعیت چینی‌ها توزیع فراوانی فعالیت آنزیم پاراکسوسناز Unimodal است.<sup>(16)</sup> مطالعه حاضر مشابه مطالعه‌ای دیگر<sup>(9)</sup> نتوانست اختلاف شاخصی در فراوانی فنوتیپ‌های ۲ گانه AA، AB و BB در دو گروه بیماران مبتلا به CAD و افراد سالم پیدا کند، به نظر می‌رسد فعالیت ویژه آنزیم پاراکسوسناز در سرم خون پارامتر بهتری از فنوتیپ‌های آنزیم برای جدا نمودن بیماران آترواسکلروزیک از افراد سالم باشد.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پاراکسوسناز موجود در HDL از پراکسیداسیون LDL و تولید LDL اکسید شده (ox LDL) که از عوامل گرفتگی عروق کرونر است ممانعت می‌نماید و یکی از ترکیبات موجود در HDL که نقش آنتی‌اکسیدانی دارد آنزیم پاراکسوسناز می‌باشد.<sup>(16-18)</sup> در واقع HDL های Clusterin که حاوی آنزیم پاراکسوسناز به همراه آپو AI و (Apo J) هستند باعث مهار پراکسیداسیون چربی‌ها به خصوص LDL می‌گردند. Clusterin پروتئینی است که باعث محافظت غشاء شده و از تخریب لیپیدها از طریق اکسیداسیون جلوگیری می‌کند. پاراکسوسناز با هیدرولیز LDL پراکسید لیپیدها به ویژه فسفولیپیدهای موجود در<sup>(19)</sup> نقش آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌نماید. مطالعاتی نقش سیگار کشیدن و سن افراد را بر فعالیت پاراکسوسناز نشان داده‌اند.<sup>(20)</sup> (21) در مطالعه حاضر، همبستگی منفی میان سن افراد و فعالیت پاراکسوسناز مشاهده گردید<sup>(21)</sup>، علاوه بر

- lipoprotein fraction of sheep serum. *Biochem Pharmacol.* 1981; 30: 903-6.
- 9- Karakaya, S. Ibis, T. Kural, S.K. Kose, A.E Karakaya. Serum Paraoxonase activity and phenotype distribution in Turkish subjects with coronary heart disease and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Chem. Biol inter.* 1999; 118: 193-200.
- 10- T. Zama, M. Murata, Y. Matsubara, K. Kawano, N. Aoki, H. Yoshino, et al. A 192 Arg variant of the human paraoxonase(HUMPONA) gene poly morphism is associated with an increased risk for coronary artery disease in the Japanese. *Arteroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 3565-9.
- 11- Rahmain M, Raiszadeh F, Allahverdian S, Kiaii S, Navab M, Azizi F. Coronary artery disease is associated with the ratio of apolipoprotein A-I/B and serum concentration of apolipoprotein B, but not with paraoxonase enzyme activity in Iranian Subjects. *Atherosclerosis.* 2002; 162: 381-9.
- 12- Azizi F, Rahimi M, Raiszadeh F, Solatis M, Navab M. Association of lipids, Lipoproteins and paraoxonase enzyme activity with premature coronary artery disease. *Coron Artery dis.* 2002(Feb); 13(1): 9-16.
- 13- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001(Apr); 21(4): 473-80.
- 14- McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution pf paraoxon hydrolyzing activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem.* 1986; 32: 671-3.
- 15- Ayub A, Mackness M, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 330-5.
- 16- Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by Their response to salts. *Am J Hum genet.* 1983; 35: 214-27.
- 17- Chait A, Brazg R, Tribble D, Krauss R. Susceptibility of small, dense, low-density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic lipoprotein phenotype, pattern B. *Am J Med.* 1993; 94: 350-6.
- 18- Mackness MI, Abbott CA, Arrrolls, Durrington PN. The role of high density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. *Biochem. J.* 1993; 294: 829-35.
- 19- Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmoods, Hoffman A, Billicke S, et al. Human serum paraoxonases(PON 1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human
- اطلاعاتی و انجام آزمایشات فعالیت چشمگیری داشتند که موجب تشکر و قدردانی است. تایپ مطالب این مطالعه از شروع تا انتها با همکاری سرکار خانم تیمسار انجام شد که موجب امتنان است. انجام این مطالعه در مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران گردید و قابل قدردانی است.
- این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی (شماره ثبت: ۴۸) انجام گردیده است و نویسندها مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز ابراز می دارند.

## منابع

- Michael I. Mackness, Derek Harty, Deepak Bhatnagar, Peter H. Winocour, Sharon Arrol, Monisa Ishola, et al. Serum paraoxinase activity in familial hypercholesterolemia and Insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 1991; 86: 193-9.
- Caroline A. Abbott, Michael I. Mackness, Sudhesh Kumar, Andrew J. Boutton, Paul N. Durrington. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular biology.* 1995(Nov); 15(11): 1812-18.
- Steve Adkins, Karen N. Gan, Malay Mody, Bert N. La Du. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/Arylesterase: Glutamine of arginine at position 191, for the respective A or B Allozymes. *Am. J. Haem.* 1993; 52: 598-608.
- PN Durrington, B Mackness, MI Mackness. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular biology* 2001(Apr); 21(4): 473-81.
- Harry W, Eckrson, Collette M, Wyte, Bert N, La Du. The human serum paraoxonase/ Arylesterase polymorphism. *Am Hum Genet.* 1983; 35: 1126-38.
- Mackness MI, Durrington PN. High density lipoprotein, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis.* 1995; 115: 243-53.
- Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. High-density lipoprotein associated enzymes and the prevention of low-density lipoprotein oxidation. *Eur J Lab Med.* 1996; 4: 33-8.
- Mackness MI, Walker CH. A-esterase activity in the

coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000(may 30); 101(21): 2510-7.

20- Senti M, Auboc, Tomas M. Differential effects of smoking on myocardial infarction risk according to the Glu/Arg 192 Variants of the human paraoxonase gene. *Metabolism*. 2000; 49: 557-9.

21- Send M, Tomas M, Vila J, marrugat J, Elosua R, Sala J. Relationship of age related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variant of the human paraoxonase gene: the Regicor study. *Atherosclerosis*. In Press. 2001, Jun, 156(2): 443-9.

22- Sutherland EHF, Walker RJ, De Jong SA, Van Rij Am, Phillips V, Walker HL. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19: 1340-7.

23- Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier C, Newten RS. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis*. 1998; 138: 271-80.

24- Paragh G, Balogh Z, Seres I, Harangi M, Boda J, Kovacs P. Effect of gemfibrozil on HDL-associated serum paraoxonase activity and lipoprotein profile in patients with hyperlipidemia. *Clin Drug Invest*. 2000; 19: 277-82.

25- Durrington PN, Mackness MI, Bhatnager D, Juliet K, Paris H, Arrol S, et al. Effects of two different fabric acid derivatives on lipoproteins, Cholesteryl ester transfer, fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and paraoxonase activity in type II b hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*. 1998; 133: 217-25.

26- Turag J, Grniakora V, Valka J. Changes in paraoxonase and lipoprotein A-I, B CIII and E in subjects with combines familial hyper lipoproteinemia treated with ciprofibrate. *Drug Exp Clin Res* 2000; 26: 83-8.

# *Study of Paraoxonase Phenotypes and Its Activity in Patients with Coronary Artery Stenosis*

I                    II                    III  
*L. Hosseini Gohari, Ph.D.*   \**M. Firoozrai, Ph.D.*   *A. Zavareii, Ph.D.*  
 IV  
*N. Nafisi, BSc*

## *Abstract*

Paraoxonase can hydrolyse organophosphate esters and paraxon is its most important substrate in laboratory studies. This enzyme circulates in blood with HDL. It seems that reduced paraoxonase activity in human may increase risk of coronary artery disease. Genetic variations in two autosomal genes may reduce its activity. These variations produce three phenotypes: A, AB and B. B phenotype activity is higher than A and AB. With regard to high prevalence of CAD in Iranian people and paraoxonase effect in process of CAD, paraoxonase activity, phenotypes and lipid parameters were determined. In this study serum paraoxonase phenotypes in Iranian subjects were determined and the association between paraoxonase activity and its phenotypes with coronary artery disease risk factors were estimated. Patients with more than 50% angiographically confirmed stenosis were studied and compared with healthy subjects at Tehran Rajaii Heart Center. Serum paraoxonase activity with and without NaCl, and arylesterase activity were estimated. Paraoxonase/ Arylesterase activity ratio was used for phenotype determination. In patients, paraoxonase activities with and without NaCl were much lower than healthy subjects ( $P=0.01$  and  $P=0.00$  respectively), but arylesterase activity was not significantly different. Paraoxonase/ arylesterase activity ratio was also reduced in patients ( $P=0.02$ ). Frequency distributions of three paraoxonase phenotypes in patients and healthy groups were not significantly different. Triglyceride and VLDL-C in patients were higher than healthy subjects ( $P=0.00$ ), but HDL-C and apo AI were lower in patients ( $P=0.01$  and  $P=0.00$  respectively). No significant variations in total cholesterol, LDL-C and apo B was found in patients compared with healthy group. Due to significant fall in paraoxonase acitivity and no significant difference in frequency distributions of the enzyme phenotypes, it seems that paraoxonase activity measurement in serum is a better marker than determination of the enzyme phenotypes to discriminate patients from healthy subjects.

**Key Words:** 1) Paraoxonase Activity   2) Paraoxonase Phenotypes  
 3) Coronary Artery Disease   4) Lipids   5) Lipoproteins

**I**) Associate Professor of Biochemistry Department. School of Paramedicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

**II**) Associate Professor of Biochemistry Department. School of Medicine. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)

**III**) Assistant Professor of Clinical Biochemistry. Shahid Rajaii Heart Center. Tehran, Iran.

**IV**) BSc in Laboratory Sciences. Mofid Hospital.