مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۹، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۶/ ۱۰۰-۹۲

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط فعالیت آنزیم پاراکساناز ۱ و چند شکلی های ناحیه پروموتری ژن آنزیم (۱۰۸-، ۱۲۶-) در دیابت نوع دو

آصفه سادات امامی[۱]، محمدحسن تاج الدینی[۲]، مجتبی بهشتی تبار[۳]، صدیقه عسگری[۴*]

[۱]دانشجو، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران؛ [۲]مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۳]گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران. [۴]مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، پژوهشکده قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/٤/۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

چکیده:

زمینه و هدف: **پاراکساناز ۱ (PON_1) گلیکوپروتئینی است که در کبد ساخته شده و به سیستم گردش خون وارد می‌شود. در میان افراد یک جمعیت فعالیت PON_1 به‌طور وسیعی متفاوت است. بیشتر این اختلافات، توسط پلی مورفیسم های ناحیه کدینگ (ناحیه کدکننده) Q192R و ناحیه تنظیمی (راه‌انداز) T-108C توجیه می‌شود. Q192R به‌طور وسیعی مطالعه شده است. برخی مطالعات (نه همه) نشان داده‌اند که فعالیت PON_1 در دیابت نوع دو کاهش می‌یابد. ما در این مطالعه به بررسی فعالیت آنزیم PON_1 سرم و رابطه آن با پلی مورفیسم های پرموتری C/T 108- و C/G 126- در بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی پرداختیم.**

روش بررسی: **در مطالعه مقطعی حاضر، فعالیت آنزیم پاراکساناز ۱ به روش اسپکتروفتومتری و نوع و فراوانی پلی مورفیسم های ۱۲٦- و ۱۰۸- آنزیم، به روش HRM (High resolution melt)- Real time PCR در ۹٦ بیمار دیابت نوع دو و ۱۰٤ فرد غیردیابتی مورد بررسی قرار گرفته است.**

یافته‌ها: **فعالیت آنزیم PON_1 در دو گروه، از لحاظ آماری تفاوت مهمی نداشت (P=۰/٦۷۱)؛ همچنین اختلاف مهمی در نوع و فراوانی پلی مورفیسم ۱۰۸- در دو گروه یافت نشد (P=۰/۲۷۷). لیکن اختلاف مهمی در نوع و فراوانی پلی مورفیسم ۱۲٦- در بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی وجود داشت (P=۰/۰۰۰).**

نتیجه‌گیری: **نتایج نشان دادند که فعالیت PON_1 بین افراد دیابتی وغیردیابتی تفاوتی ندارد. از آنجا که توزیع پلی مورفیسم ۱۰۸- در دو گروه یکسان بود، شاید بتوان آن را، علت یکسان بودن فعالیت آنزیم در دو گروه دانست. لیکن علی‌رغم یکسان بودن فعالیت آنزیم، توزیع پلی مورفیسم ۱۲٦- بین افراد دیابتی وغیردیابتی به‌طور مهمی متفاوت بود، بنابراین شاید بتوان آن را به استعداد ژنتیکی دیابت نوع دو مربوط دانست.**

واژه‌های کلیدی: **دیابت نوع دو، فعالیت آنزیم پاراکساناز ۱، پلی مورفیسم ژن، PON_1.**

مقدمه:

دیابت ملیتوس نوع دو، توسط عواملی نظیر شیوه زندگی، عوامل محیطی و برگ خریدهای ژنتیکی به وجود می‌آید. تا به امروز مطالعات گوناگونی پیرامون مکانیسم بیماری‌زایی دیابت به‌وسیله آزمایش‌ها ژنتیکی انجام شده و صدها ژن گزارش شده است که مرتبط با دیابت ملیتوس بوده‌اند (۲،۱). برخی مطالعات (نه همه) نشان داده‌اند که در بیماران دیابتی نوع دو، فعالیت آنزیمی به نام آنزیم پاراکساناز ۱ کاهش می‌یابد (۴،۳). آنزیم پاراکساناز (PON_1)، همراه با HDL در خون انتقال یافته و مانع تجمع پراکسیدهای لیپیدی در LDL می‌شود (۸-۵). در جمعیت‌های مختلف، مقادیر گوناگون از فعالیت PON_1، در افراد مشاهده می‌شود. این اختلافات می‌تواند اثر پلی مورفیسم های ناحیه کدینگ (رمزگردان) و پروموترژن PON_1 و نیز عوامل محیطی

*نویسنده مسئول: اصفهان- مرکز تحقیقات قلب و عروق- پژوهشکده قلب و عروق- تلفن: ۰۹۱۳۳۰۹٤۱٤٥، E-mail: sasgary@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

باشد که هم بر غلظت و هم بر فعالیت آنزیم تأثیرگذارند. مهم‌ترین فاکتورهای به وجود آورنده این اختلافات، پلی مورفیسم های C-108T پروموتر و Q192R ناحیه کدینگ می‌باشند (۱۰-۹). سایت ۱۰۸- مهم‌ترین عامل برای تعیین میزان PON_1 سرم است و اثر مهمی بر بیان PON_1 سرم انسان دارد، از این رو موضوع بیشتر تحقیقات است (۱۱). به هر حال امکان بررسی همزمان همه عوامل، بر فعالیت آنزیم وجود ندارد. ویژگی‌های آنزیمی PON_1، آن را به‌عنوان لاکتوناز مطرح می‌کند. PON_1 هیدرولیز لاکتون های N- آسیل هموسرین سیگنال‌های حسی باکتری‌های بیماری‌زا را، کاتالیز می‌کند. همچنین به علت فعالیت در هیدرولیز متابولیت های سمی حشره‌کش‌ها و ارگونوفسفروس ها مانند پاراتیون، سومان، سارین و ترکیبات جنگی عصبی، بسیار مورد توجه است (۱۳،۱۲). با توجه به این‌که فراوانی پلی مورفیسم های ژن پاراکساناز ۱، در جوامع مختلف متفاوت است بایستی فراوانی پلی مورفیسم های ژن آنزیم و فعالیت آن در جوامع مختلف بررسی شود تا تأثیر این پلی مورفیسم ها بر فعالیت آنزیم ایجاد بیماری کاملاً روشن شود. هدف از این مطالعه بررسی میزان فعالیت آنزیم در بیماران دیابتی نوع دو و مقایسه آن با افراد غیر دیابتی و رابطه فعالیت PON_1 با پلی مورفیسم های ناحیه پروموتری آن (۱۰۸- و ۱۲۶-) در دو گروه مذکور می‌باشد.

روش بررسی:

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی است. انتخاب جامعه مورد مطالعه (۹۴ بیمار دیابتی و ۱۰۶ فرد غیر دیابتی) از مراجعین بیمارستان صدیقه طاهره (س) اصفهان، صورت گرفت. افراد دیابتی بر اساس معیارهای FBS بالای ۱۲۵ میلی گرم بر دسی لیتر یا HbA_{1c} بالای ۶/۵٪ انتخاب شدند. افراد غیر دیابتی پدر، مادر، خواهر یا برادر مبتلا به دیابت نداشتند. در دو گروه، تعداد مردان و زنان، تقریباً برابر انتخاب شده و زنان، باردار نبودند. میانگین سن افراد، در دو گروه، تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۴۲۱). از افراد انتخاب شده، ۳ میلی لیتر خون گرفته شد. ۱ میلی لیتر آن، جهت تعیین پلی مورفیسم در دمای °C ۲۰- همراه EDTA، ذخیره و ۲ میلی لیتر آن، به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم، پس از استخراج سرم در دمای °C ۷۰- نگهداری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم، با افزودن محلول Eserin (10^{-5}M) به سرم و انکوباسیون، به مدت ۱۰ دقیقه، سپس افزودن محلول حاصل به محلول پاراکسان که شامل Tris/HCl، (۱۰۰ میلی مولار، PH=۸) (Sigma-Aldrich) و ۲ میلی مولار $CaCl_2$ و پاراکسان ۲ میلی مولار بود و استفاده از متد اسپکتروفتومتری، در طول موج ۴۰۵ نانومتر و خوانش ۵ دقیقه برای هر نمونه انجام شد (۱۴،۷). به منظور تعیین پلی مورفیسم های ۱۰۸- و ۱۲۶- آنزیم پاراکساناز ۱، استخراج DNA به‌وسیله کیت Accue prep Genomic DNA Extraction kit (Bioneer inc, korea) صورت گرفته و پس از شناسایی SNPs از طریق NCBI data bank، پرایمرهای مورد نیاز به کمک: (PREMIER Biosoft international, USA) طراحی و سنتز شدند. (Bioneer, Korea) به‌منظور تکثیر نواحی مورد نظر PCR (و نیز تعیین ژنوتیپ ها توسط متد High Resolution Melt (HRM)، دستگاه Rotor-Gene 6000 (Corbett Life science Australia) مورد استفاده قرار گرفت. واکنش‌های PCR با استفاده از Type it HRM kit (Qiagen)، بافر HRM PCR، نوکلئوتیدها و رنگ Evagreen، همچنین از آنزیم HotStarTaq Plus DNA Polymerase و ۲۵ میکروگرم از DNA استخراج شده صورت گرفت. ابتدا مرحله فعال‌سازی آنزیم HotStarTaq Plus DNA Polymerase (موجود در Master MiX) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس واکنش PCR در ۵۰ سیکل ۳ مرحله‌ای دنبال شد. زمان مورد نیاز مرحله annealing که پرایمرها به DNA تک‌رشته‌ای متصل شدند ۳۰ ثانیه بوده و در دمای °C ۵۵ انجام شد. در

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

مرحله‌ی Extentional در مدت ۱۰ ثانیه در دمای $72\ ^{o}C$ رشته‌ی DNA مکمل رشته‌ی الگو در ناحیه‌ی اتصال پرایمرها ساخته شد.

پس از انجام واکنش‌های PCR، تکنیک HRM به کمک کیت HRM انجام شد. کیت HRM شامل ترکیبات Taq پلیمراز، 10 X، dNTP، B. sh arpener، Dye. Eva green، H_2O است که برای هر نمونه مقدار لازم در کیت آورده شده است (هر بار ۷۰ نمونه در دستگاه قرار می‌دهیم). ابتدا در یک میکروتیوب، از محلول فوق را ریخته و داخل ورتکس مخلوط نموده و سپس در هر لوله reaction مربوط به دستگاه HRM، ۱۳ میکرولیتر ریخته و به آن ۲ میکرولیتر از نمونه DNA مورد نظر به‌عنوان الگو (Template) اضافه کردیم. سپس، دما به $65\ ^{o}C$ کاهش یافته و هر ۲ ثانیه $0/1\ ^{o}C$ افزایش یافت. با افزایش دما دو رشته‌ی DNA های ساخته شده در مراحل PCR از هم جدا شده و رنگ متصل شونده به DNA دو رشته‌ای آزاد شد و درنتیجه مقدار فلوئورسانس ثبت شده توسط دستگاه به‌تدریج کاهش یافت. این روند تا رسیدن به دمای $95\ ^{o}C$ ادامه یافته و منحنی ذوب با استفاده از تغییرات فلوئورسانس ثبت شده در این بازه‌ی دمایی توسط نرم‌افزار مربوطه رسم گردید. پس منحنی ذوب مربوط به هر نمونه رسم گردید. در پایان از هر سه نوع منحنی ذوب به دست آمده که دو منحنی مربوط به آلل های هموزیگوت و یک منحنی مربوط به آلل های هتروزیگوت است (هر نمونه یک منحنی دارد)، تعدادی نمونه انتخاب و تمامی نمونه‌ها تعیین توالی شدند.

نتایج به‌دست‌آمده برای فعالیت آنزیم به‌صورت میانگین و انحراف معیار و با سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری t-test مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی داری نیز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نتایج به دست عمده برای توزیع پلی مورفیسم ها به‌وسیله آزمون X^2 مورد بررسی آماری قرار گرفت.

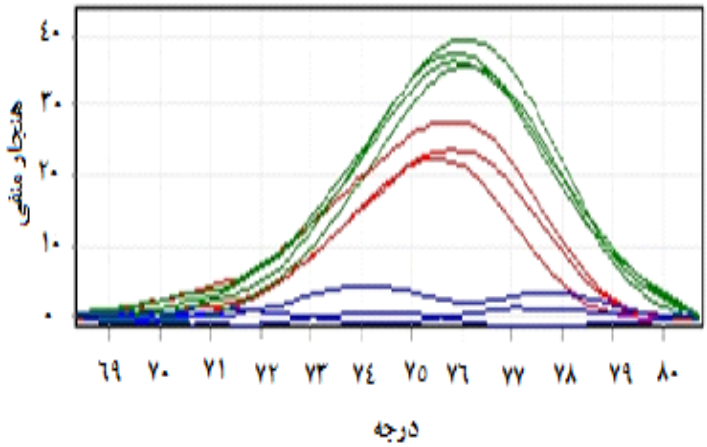
یافته‌ها:

جمعیت مورد مطالعه، ۹۴ بیمار دیابتی، مرد و زن با میانگین سنی (۱۲/۸۷±۵۸/۱۳) و ۱۰۶ فرد غیر دیابتی مرد و زن با میانگین سنی (۱۲/۲۹±۵۹/۷۵) بودند. سن و جنس افراد در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت (به ترتیب P=۰/۴۲۱ و P=۰/۷۵۱). میانگین فعالیت آنزیم پاراکساناز ۱ در افراد دیابتی ۶۶/۴۴±۱۲۲/۷ و میانگین فعالیت آنزیم در افراد غیر دیابتی ۷۶/۱۸±۱۲۶/۹۲ تعیین شد. با وجود اختلاف میانگین‌ها، فعالیت آنزیم پاراکساناز ۱ بین دو گروه دیابتی و غیر دیابتی تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۶۷۱). در مرحله بعد استخراج DNA و سپس تکثیر ژن مورد نظر به‌وسیله Real time PCR انجام شد. سپس از تکنیک HRM استفاده نموده و منحنی‌های دقیق در ناحیه melt توسط نرم‌افزار دستگاه رسم شد.

در منحنی ذوب با داده‌های نرمالیزه، ناحیه Pre-melt و Post-melt حذف شده و تنها ناحیه Melt نمایش داده شده است. دو منحنی هموزیگوت و یک منحنی هتروزیگوت، کاملاً مشخص می‌باشند؛ ولی هنوز تشخیص فرم‌های هموزیگوت مشکل است. نمودار شماره ۱ منحنی اختلاف (Difference graph) مربوط به پلی مورفیسم ۱۰۸- می‌باشد. در این نمودار اختلاف سه منحنی واضح‌تر نشان داده می‌شود و تفکیک منحنی‌ها کامل‌تر صورت می‌گیرد. نرم‌افزار در این مرحله تغییرات فلورسانس دو منحنی را، نسبت به منحنی دیگر در برابر دما رسم می‌کند. به عنوان مثال ژنوتیپ هموزیگوت را به‌عنوان اساس در نظر گرفته و دو ژنوتیپ دیگر را نسبت به آن رسم می‌کند. برای هر موتاسیون یک منحنی نرمالیزه و برای هر منحنی نرمالیزه سه منحنی خواهیم داشت که در هرکدام یک ژنوتیپ به‌عنوان اساس در نظر گرفته شده و ژنوتیپ های دیگر نسبت به آن سنجیده و رسم می‌شوند. (یک منحنی نشان داده شده است). پس از انجام HRM Real Time PCR منحنی هر نمونه تعیین‌شده نمونه‌ها در سه گروه قرار داده شدند (دو گروه

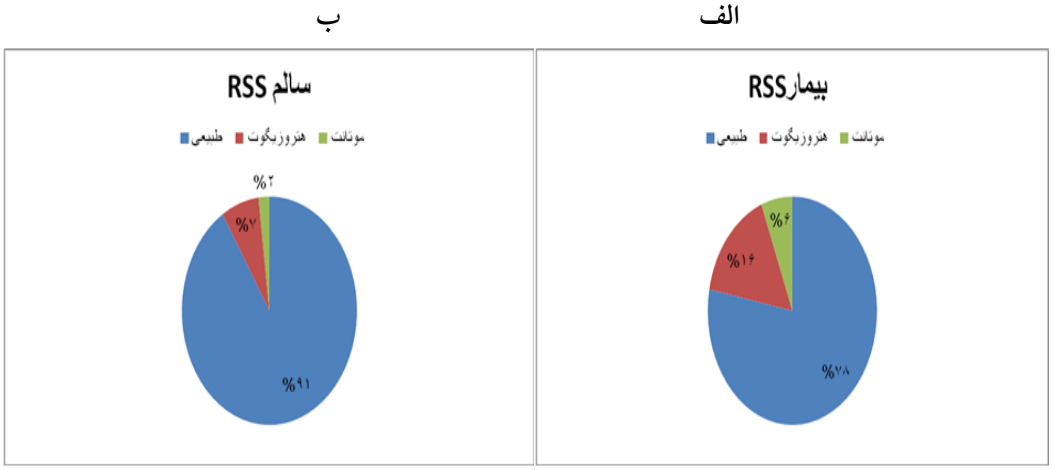
Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

هموزیکوت و یک گروه هتروزیگوت). از هر گروه تعدادی نمونه‌های حاوی DNA تکثیر شده، جهت تعیین توالی و Sequencing از طریق شرکت تکاپو زیست تهران با دستگاه: Applied biosystems مدل دستگاه: xl۳۷۳۰/۳۷۳۰ توالی‌های ذکر شده در تمامی نمونه‌ها تعیین شد و مورد بررسی آنالیز آماری قرار گرفت.



نمودار شماره ۱: منحنی اختلاف پلی مورفیسم ۱۰۸- ژن پاراکساناز ۱

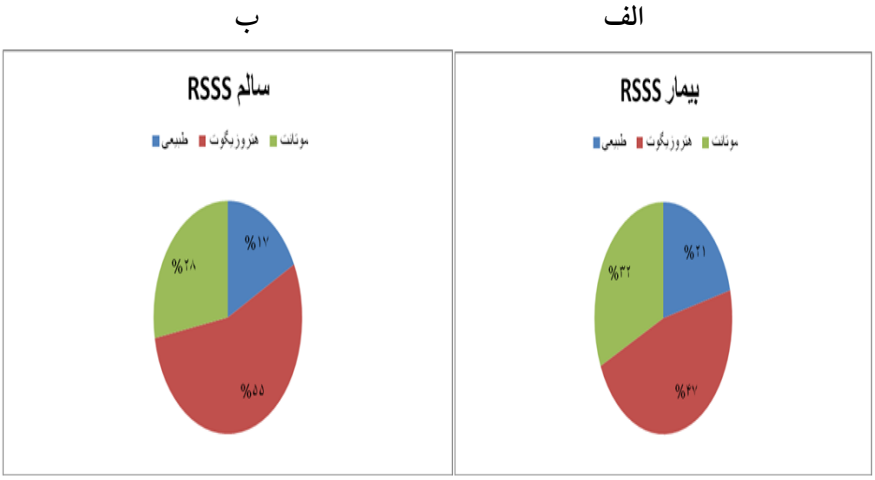
نمودارهای ۲ و ۳ توزیع آلل های هموزیگوت طبیعی، هتروزیگوت و آلل های موتانت پلی مورفیسم های ۱۲۶- و ۱۰۸- را در بیماران دیابتی و گروه کنترل مقایسه می‌کند. در پلی مورفیسم ۱۰۸- در دو گروه، بیشتر افراد دارای آلل های هتروزیگوت C/T (۴۷٪ از بیماران دیابتی و ۵۵٪ از افراد غیر دیابتی) نسبت به آلل های هموزیگوت C/C و T/T بودند. آنالیز آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری در نوع و فراوانی پلی مورفیسم ۱۰۸- بین دو گروه وجود ندارد (P=۰/۲۷۷). در پلی مورفیسم ۱۲۶- در افراد غیر دیابتی ۹۱٪ دارای آلل طبیعی C/C بودند؛ در حالی که در بیماران دیابتی ۷۸٪ دارای آلل طبیعی بودند. آنالیز آماری تفاوت مهمی در نوع و فراوانی پلی مورفیسم ۱۲۶- بین دو گروه نشان داد (P=۰/۰۰۰).



نمودار شماره ۲: نمودار دایره‌ای، فراوانی آلل های طبیعی (C/C)، هتروزیگوت (C/G) و موتانت (G/G) پلی مورفیسم ۱۲۶- ژن پاراکساناز

الف) افراد دیابت؛ ب) گروه کنترل.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017



نمودار شماره ۳: نمودار دایره‌ای، فراوانی آلل های طبیعی (C/C) و هتروزیگوت (C/T) و موتانت (T/T) پلی مورفیسم ۱۰۸-

الف) گروه کنترل؛ ب) افراد دیابت.

بحث:

مقادیر گوناگون فعالیت آنزیم PON_1، در جمعیت‌های مختلف گزارش شده است. این تفاوت‌ها، تأثیر پلی مورفیسم های ناحیه کدینگ و پروموتر ژن PON_1 و نیز عوامل محیطی می‌باشند که هم بر غلظت و هم بر فعالیت آنزیم تأثیرگذارند (۱۱-۹). در یک جمعیت فعالیت PON_1 تا ۴۰ برابر می‌تواند متغیر باشد. مهم‌ترین فاکتورهای به وجود آورنده این اختلافات، پلی مورفیسم های C-108T پروموتر و Q192R ناحیه کدینگ می‌باشند (۱۰). سایت ۱۰۸- مهم‌ترین عامل برای تعیین میزان PON_1 سرم است و اثر مهمی بر بیان PON_1 سرم انسان دارد، ازاین‌رو موضوع بیشتر تحقیقات است (۱۵،۱۱). ناحیه ۲۰۰bp که پلی مورفیسم های ۱۶۲- و ۱۰۸- را در بر می‌گیرد، در رونویسی از ژن PON_1 نقش اصلی را دارد (۱۵،۱۱). پلی مورفیسم های PON_1 با برخی بیماری‌ها در ارتباط اند. پلی مورفیسم Q192R ناحیه کدینگ به طور وسیعی مطالعه شده است (۱۱). برخی مطالعات گزارش داده اند که پلی مورفیسم های ناحیه کدینگ PON_1 با بیماری‌های قلبی- عروقی، رتینوپاتی و نوروپاتی در بیماران دیابتی مرتبط می‌باشند (۱۸،۱۱-۱۶). لیکن نقش پروموتر با بیماری هنوز روشن نیست (۱۱). Oner و همکاران، کاهش در فعالیت آنزیم PON_1 را در دیابت ملیتوس نوع دو، حتی در بیماران دیابتی تحت درمان گزارش نموده‌اند (۱۹). همچنین Poh و Muniandy نشان دادند که (حذف کلمه به طور کلی) فعالیت PON_1 در بیماران دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد (حذف یک جمله). Poh و Muniandy گزارش دادند که فعالیت PON_1 در افراد سالم و دیابتی‌های بدون عوارض دیابت، مشابه است و (حذف کلمه تنها) در بیماران دیابتی مبتلا به عوارض دیابت به میزان قابل‌توجهی کاهش یافته است (۲۰).

از سوی دیگر در برخی بررسی‌ها، کاهش چشمگیری در فعالیت PON_1، در بیماران دیابتی مبتلا به پیامدهای قلبی- عروقی و نوروپاتی مشاهده نشده است (۲۲،۲۱). Rahmani و همکاران گزارش داد که اختلاف معنی‌داری در فعالیت PON_1 در بیماران CAD مبتلا به دیابت و افراد سالم وجود ندارد (۲۱). Hofer و همکاران نشان داد که فعالیت PON_1 در افراد سالم و بیماران دیابتی مبتلا به عوارض دیابت یکسان است (۲۲). در مطالعه حاضر فعالیت PON_1 در بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی، تعیین شده اثر پلی مورفیسم های پروموتر بر فعالیت آنزیم مورد بررسی قرار گرفت. در

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

نتیجه این مطالعه، همانند نتایج مطالعات Rahmani همکاران و Hofer و همکاران، کاهشی در فعالیت PON_1 در بیماران دیابتی نوع دو نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (P=۰/۶۷۱) (۲۲،۲۱).

از طرف دیگر، پس از بررسی پلی مورفیسم های پروموتر، فراوانی پلی مورفیسم C/T ۱۰۸- در دو گروه، از لحاظ آماری یکسان بود (P=-۰/۲۷۷). شاید به علت فراوانی یکسان پلی مورفیسم ذکر شده در دو گروه مورد مطالعه ما، فعالیت آنزیم در افراد دیابتی و غیر دیابتی یکسان بوده است. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که پلی مورفیسم C/T ۱۰۸- در فعالیت آنزیم PON_1، بیش از سایر پلی مورفیسم ها تأثیر داشته است (۱۵،۱۱). ما تأثیر مهم این پلی مورفیسم را بر فعالیت PON_1 و در مقایسه بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی تأیید می‌کنیم. در مطالعات گذشته پلی مورفیسم A/G ۱۲۶- به‌عنوان یکی از پلی مورفیسم های موثر بر بیان ژن PON_1 گزارش شده است (۱۵،۱۱). ما پس از بررسی این پلی مورفیسم، تفاوت مهمی، در فراوانی آن در دو گروه مورد مطالعه یافتیم (P=۰/۰۰۰). علیرغم آن‌که فعالیت آنزیم در دو گروه تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای نداشت. درنتیجه این مطالعه به نظر می‌رسد که پلی مورفیسم ذکر شده تأثیر چشمگیری بر فعالیت آنزیم در دیابت ملیتوس نوع دو نداشته باشد. از سوی دیگر، از آن جا که فراوانی پلی مورفیسم C/G ۱۲۶- در گروه دیابتی و افراد غیر دیابتی در جمعیت مورد مطالعه ما، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری داشت، بنابراین شاید بتوان این پلی مورفیسم را از عوامل افزایش‌دهنده ریسک ابتلا به دیابت نوع دو و یا استعداد ژنتیکی دیابت دانست. از آنجا که در جمعیت‌های مختلف ممکن است، پلی مورفیسم های PON_1 توزیع متفاوتی داشته باشند (۱۵)، باید مطالعات بیشتری در جمعیت‌های دیگر صورت بگیرد تا فراوانی پلی مورفیسم های ذکر شده و تأثیر آن‌ها بر "فعالیت آنزیم و ریسک ابتلا به دیابت" کاملاً روشن شود.

نتیجه‌گیری:

به نظر می‌رسد که به علت یکسان بودن پلی مورفیسم C/T ۱۰۸- ناحیه پروموتری پاراکساناز ۱ در بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی جمعیت مورد مطالعه ما، میزان فعالیت آنزیم در دو گروه یکسان بوده است. ما تأثیر مهم این پلی مورفیسم را بر فعالیت آنزیم که در مطالعات گذشته ذکر شده است، در مقایسه بین افراد دیابتی و غیر دیابتی تأیید می‌کنیم. از آنجا که با وجود یکسان بودن فعالیت آنزیم، توزیع پلی مورفیسم ۱۲۶- در بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی تفاوت مهمی داشت، به نظر می‌رسد پلی مورفیسم ذکر شده در فعالیت آنزیم در افراد دیابتی تأثیر مهمی نداشته باشد، لیکن ممکن است از عوامل افزایش دهنده ریسک ابتلا به دیابت یا استعداد ژنتیکی دیابت باشد. از آنجا که در میان عوامل موثر بر فعالیت PON_1، پلی مورفیسم ۱۰۸- عامل تعیین‌کننده مهم به نظر می‌رسد، بررسی مکانیسم مولکولی تنظیم PON_1 در پلی مورفیسم ۱۰۸- و احتمالاً به کمک مهندسی ژنتیک، می تواند ما را برای افزایش بیان و فعالیت این آنزیم یاری نماید. همچنین مطالعات مولکولی زیادی لازم است تا چگونگی تأثیر احتمالی پلی مورفیسم ۱۲۶- و تنظیم‌کننده‌های آن، بر ایجاد بیماری دیابت روشن شود. ممکن است با شناسایی مکانیسم تنظیم این پلی مورفیسم، راهکارهایی جهت کنترل دیابت حاصل شود.

تشکر و قدردانی:

این پایان‌نامه پاییز ۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد و مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان با کد ۹۴۱۱۲ به تصویب رسید. نویسندگان این مقاله از کلیه پرسنل آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان صدیقه طاهره (س) اصفهان و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و نیز کلیه بیمارانی که در اجرای این تحقیق با ما همکاری نمودند، قدردانی و تشکر می‌نمایند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

منابع:

1. Kim YJ, Lee SY, Park Y-K, Kim J. DMBase: An integrated genetic information resource for diabetes mellitus. Interdisciplinary Bio Central. 2011; 3(1): 6.

2. Rathmann W, Giani G. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes care. 2004; 27(10): 2568-9.

3. Gupta N, Binukumar B, Singh S, Sunkaria A, Kandimalla R, Bhansali A, et al. Serum paraoxonase-1 (PON_1) activities (PONase/AREase) and polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus in a North-West Indian population. Gene. 2011; 487(1): 88-95.

4. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Arii K, et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Metabolism. 1998; 47(5): 598-602.

5. Litvinov D, Mahini H, Garelnabi M. Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase 1: implication in arteriosclerosis diseases. North Am J Med Sci. 2012; 4(11): 523.

6. Ceron JJ, Tecles F, Tvarijonaviciute A. Serum paraoxonase 1 (PON_1) measurement: An update. BMC Vet Res. 2014; 10(1): 74.

7. Kim DS, Burt AA, Ranchalis JE, Richter RJ, Marshall JK, Nakayama KS, et al. Dietary cholesterol increases paraoxonase 1 enzyme activity. J Lipid Res. 2012; 53(11): 2450-8.

8. Ferretti G, Bacchetti T, Busni D, Rabini R, Curatola G. Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: A comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89(6): 2957-62.

9. Flekac M, Skrha J, Zidkova K, Lacinova Z, Hilgertova J. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. Pharm Res. 2008; 57(5): 717.

10. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON_1) activity. Biochem Pharmacol. 2005; 69(4): 541-50.

11. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. Clin Sci. 2004; 107(5): 435-47.

12. Rainwater DL, Rutherford S, Dyer TD, Rainwater ED, Cole SA, VandeBerg JL, et al. Determinants of variation in human serum paraoxonase activity. Heredity. 2009; 102(2): 147.

13. Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli R, McCarthy A, et al. 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. Arh Hig Rada Toksikol. 2007; 58(3): 347-53.

14. Quemeneur T, Martin-Nizard F, Kandoussi A, Kyndt X, Vanhille P, Hachulla E, et al., editors. PON_1, a new biomarker of cardiovascular disease, is low in patients with systemic vasculitis. Semin Arthritis Rheum. 2007; 37(3): 149-55.

15. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5′ regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON_1) expression. Am J Hum Genet. 2001; 68(6): 1428-36.

16. Elnoamany MF, Dawood AA, Azmy RM, Elnajjar MM. Paraoxonase 1 gene (Gln 192-Arg) polymorphism and the risk of coronary artery disease in type 2 diabetes mellitus. Egypt Heart J. 2012; 64(2): 55-62.

17. El-Lebedy D, Kafoury M, Abd-El Haleem D, Ibrahim A, Awadallah E, Ashmawy I. Paraoxonase-1 gene Q192R and L55M polymorphisms and risk of cardiovascular disease in Egyptian patients with type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Metab Disord. 2014; 13(1): 124.

18. MH Hampe. Paraoxonase1 activity, its Q192R polymorphism and diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus. Clin Sci. 2014; 98(3): 355-63.

19. Oner A, Baskol G, Karakucuk S, Baskol M, Gumus K, Arda H, et al. The evaluation of serum paraoxanase activity and malondialdehyde levels in type 2 diabetic patients with retinopathy. Erciyes Med J. 2010; 32(4): 235-40.
20. Poh R, Muniandy S. Paraoxonase 1 activity as a predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetes. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2010; 41(5): 1231-46.
21. Rahmani 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.
22. Hofer SE, Bennetts B, Chan AK, et al. Association between PON_1 polymorphisms, PON activity and diabetes complications. J Diabet Complic 2006; 20: 322-8.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2017; 19(3): 92-100. **Original article**

The evaluation of accusation paraoxonase1 enzyme activity and its (-108, -126) polymorphisms in diabetic patients

Emami AS[1], Tajadini MH[2], Beheshtitabar M[3], Asgary S[4*]
[1]Student, Clinical Biochemistry Dept., Shahid Sadoughy University of Medical Sciences, Yazd, I.R. Iran; [2]Physiology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran; [3]Clinical Biochemistry Dept., Shahid Sadoughy University of Medical Sciences, Yazd, I.R. Iran; [4]Isfahan Cardiovascular Reseach Center, Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran.
Received: 23/Jun/2016 Accepted: 20/Jan/2017

Background and aims: Paraoxonase1 (PON_1) is a liver-derived glycoprotein that is secreted into circulation. Among individuals in a population, PON_1 activity varies widely. Most of this variation can be explained by polymorphisms in the coding region (Q192R) and the regulatory region (T-108C). Q192R has been more widely studied. Many studies (but not all) indicated that PON_1 activity decreased in diabetes. In this study, it was investigated serum PON_1 activity and its association with promoter -108 C/T and -126C/G polymorphisms in diabetic patients and non-diabetic subjects.
Methods: In this cross sectional study, spectrophotometry technique was used to define PON_1 activity and HRM(High resolution melt)- Real time PCR technique was used to define -108 and -126 polymorphisms distribution in 96 diabetic patients and 104 non diabetic subjects.
Results: Paraoxonase1 activity in both two groups was not different (P=0.67). Also, significant difference was not found in type and abundance of -108 polymorphism in groups (P=0.277). It was found significant difference in type and abundance of -126 polymorphism distribution in diabetic and non-diabetic patients (P=0.000).
Conclusion: The results showed that PON_1 activity is not different between people with type 2 diabetes and non-diabetic subjects. -108 polymorphism distributions were the same in groups. Therefore, it can be considered a reason for similar enzyme activity. In spite of similar enzyme activity, significant difference was found between groups in -126 polymorphism. Therefore, it may be related to genetic susceptibility to type 2 diabetes.

Key words: **Type 2 diabetes, Paraoxonase1 enzyme activity, PON_1 gene polymorphism.**

Cite this article as: Emami AS, Tajadini MH, Beheshtitabar M, Asgary S. The evaluation of accosiation Paraoxonase1 enzyme activity and its (-108, -126) polymorphisms in diabetic patients. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(3): 92-100.

[*]**Corresponding author:**
Isfahan Cardiovascular Reseach Center, Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989133094145, E-mail: sasgary@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 12:38 +0330 on Wednesday October 18th 2017