مقاله پژوهشي

بررسی نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز ۱ و فراوانی تغییرات نوکلئوتیدN-آنزیم استیل ترانسفراز ۲ در بیماران مبتلا به پارکینسون: مطالعه مورد –شاهدی

علی مطاع[۱]، المیرا ابوطالبی وند بیلانکوهی[۲]، حسین محمد علیزاده فرد[۳]، ژیلا خدابنده[٤]، فریبا میرزامحمدی[٥]، محمد ولیلو×[٦]

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۱۱/۰۱ تاریخ پذیرش ۱٤۰۰/۰٦/۲۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: بیماری پارکینسون یک بیماری عصبی است و بعد از آلزایمر دومین بیماری تحلیل برنده‌ی عصبی محسوب می‌شود. آنزیم پاراکسوناز ۱ یک آنزیم آنتی‌اکسیدان با دو فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی هست که تغییر فعالیت و غلظت این آنزیم می‌تواند در ایجاد بیماری پارکینسون نقش داشته باشد. آنزیم‌های N-استیل‌ترانسفراز نقش مهمی را در سم‌زدایی ارگانوفسفات‌ها بر عهده دارند که در بین آن‌ها آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ نقش مهمی دارد. هدف از این مطالعه بررسی نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل‌استرازی آنزیم پاراکسوناز و فراوانی تغییرات نوکلئوتید آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ در بیماران مبتلا به پارکینسون می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی درمجموع ۸۰ مورد (۴۰ بیمار مبتلا به پارکینسون و ۴۰ نمونه کنترل) مطالعه شدند. تغییرات نوکلئوتید N-استیل ترانسفراز ۲ با روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم‌های محدودالاثر مربوطه بررسی شدند. سطح سرمی پاراکسوناز ۱ با استفاده از روش الیزا و فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ با اسپکتروفتومتری تعیین شد.

یافته‌ها: نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل استرازی بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>0.05$). اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌های تغییرات نوکلئوتید m1 بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده شد ($p<0.05$)، ولی فراوانی ژنوتیپ‌های تغییرات نوکلئوتید m1 و m2 بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p> 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ممکن است از بین سه تغییر نوکلئوتید آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲، تغییرات نوکلئوتید m1 و همچنین کاهش سطح سرمی و فعالیت پاراکسوناز ۱ می‌تواند در پاتوژنز و ایجاد بیماری پارکینسون نقش داشته باشند.

کلیدواژه‌ها: پارکینسون، تغییرات نوکلئوتیدی، پاراکسوناز ۱، N-استیل ترانسفراز ۲

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره ششم، ص ٤۰۷-۳۹۹، شهریور ۱٤۰۰

آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه علم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی، تلفن: ۰۹۳۸۰۵۴۰۸۹۵

Email: valilo.biomed@gmail.com

مقدمه

بیماری پارکینسون یکی از شایع‌ترین اختلالات تحلیل برنده‌ی سیستم عصبی است که عمدتاً سیستم دوپامینرژیک مسیر جسم سیاه به استریاتوم را درگیر می‌کند(۱، ۲) و با چهار ویژگی برجسته‌ی سفتی عضلانی، کندی حرکات، لرزش در حال استراحت و اختلال در راه رفتن نمایان می‌شود . در خصوص مکانیسم‌های پاتولوژیک و علت مرگ نورونی سلول‌های دوپامینرژیک مسیر جسم سیاه و استریاتوم در این بیماری فرضیات متعددی ازجمله نقص کمپلکس میتوکندریایی (۳، ۴)، تجمع آهن و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد مطرح می‌باشد (۵).

[۱] استادیار، مدرس و محقق گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۲] کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

[۳] پزشک عمومی، بیمارستان شهدای تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[٤] کارشناسی ارشد بافت شناسی و جنین شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[٥] کارشناسی ارشد مدیریت، واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان شهدای تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[٦] کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

از عوامل دیگر ایجاد کننده‌ی این بیماری سموم ارگانوفسفره و اکسیدان‌ها نیز مطرح می‌باشند. در کشاورزی مدرن سموم ارگانو فسفره به‌وفور مورد استفاده قرار می‌گیرند که این ارگانوفسفره‌ها بعد از ورود به بدن ابتدا توسط سیتوکروم p450 به فرم فعال خود تبدیل می‌شوند که موجب آسیب اکسیداتیو می‌شوند، در بدن راه‌های گوناگونی برای مقابله با این سموم وجود دارد که آنزیم‌های متعددی ازجمله آنزیم پاراکسوناز ۱ و N-استیل ترانسفراز ۲ در سم‌زدایی این سموم نقش دارند.

آنزیم پاراکسوناز ۱ سرم انسانی (PON1) یک پروتئین ۳۴۵ اسیدامینه‌ای است که در کبد سنتز و به پلاسما ترشح می‌شود و دارای دو فعالیت پاراکسونازی و آریل‌استرازی می‌باشد که منشأ نام پاراکسونازی آن از سوبسترای پاراکسون گرفته شده است و با فعالیت آریل‌استرازی سوبستراهایی مانند فنیل استات را هیدرولیز می‌کند (۶، ۷). این آنزیم در سرم روی لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) قرار می‌گیرد (۸)، HDLمی‌تواند لیپوپروتئین‌های کم‌چگالی را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت کند و از ایجاد LDL اکسیده (OX_LDL) جلوگیری کند (۹). آنزیم‌های HDL در این زمینه نقش مهمی دارند و به‌احتمال‌زیاد آنزیم پاراکسوناز ۱ در این زمینه می‌تواند نقش مهمی داشته باشد (۱۰).

N-استیل ترانسفرازها آنزیم دیگری هستند که نقش مهمی را در سم‌زدایی ارگانوفسفات‌ها دارند و در بین آن‌ها N-استیل ترانسفراز ۲ مهم‌ترین نقش را دارد که بیشترین اثر را بر روی ارگانوفسفات‌های کلرپیروفوس و پاراتیون دارد. این ارگانوفسفات‌ها برای حذف شدن ابتدا باید استیله شوند که این کار بیشتر توسط N-استیل ترانسفراز ۲ صورت می‌گیرد (۱۱). تغییرات نوکلئوتیدی یا واریانت‌های ژنتیکی یکی از عواملی هستند که می‌توانند بر فعالیت آنزیم در متابولیزه کردن سوبسترای خود آنزیم تأثیر بگذارند، آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ هم یکی از آنزیم‌هایی است که تغییرات نوکلئوتیدی آن می‌تواند بر فعالیت این آنزیم در متابولیزه کردن سوبسترای آن تأثیر بگذارد (۱۲).

هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ و تغییرات نوکلئوتید آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ بر اساس نقش کلیدی آنزیم پاراکسوناز ۱ و آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ در متابولیزه کردن گزنوبیوتیک‌ها و اندوبیوتیک‌ها، در بیماران مبتلا به پارکینسون بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی مورد -شاهدی از افراد مراجعه‌کننده به کلینیک گلگشت در شهرستان تبریز (کد اخلاق IR.TBZMED.REC.1394.899) می‌باشد. تعداد افراد مورد مطالعه شامل ۴۰ فرد مبتلا به پارکینسون بود که ۲۹ نفر مرد و ۱۱ نفر زن بودند و این افراد فاقد هرگونه بیماری عصبی و متابولیک بودند که روی فاکتورهای موردبررسی تأثیر بگذارد و هم‌چنین این بیماران جز درجه‌های یک و دو بیماری پارکینسون بودند که درمانی علیه آن‌ها صورت نگرفته بود که روی فعالیت و غلظت آنزیم پارکینسون تأثیر بگذارد و ۴۰ نفر سالم که از این تعداد هم ۲۶ نفر مرد و ۱۴ نفر زن بودند و فاقد هرگونه بیماری عصبی و بیماری‌های متابولیک دیگری بودند. ابتدا از کلیه افراد مورد مطالعه فرم رضایت آگاهانه گرفته شد و کلیه اطلاعات افراد به‌صورت محرمانه خواهند ماند. از این افراد دو نمونه‌ی خون جدا گرفته شد که از یکی از این نمونه‌ها سرم آن جدا شد و تا زمان مورد استفاده در دمای ۷۰- نگهداری شد و برای اندازه‌گیری غلظت و فعالیت آنزیم به کار برده شد و نمونه‌های دیگر DNA آن‌ها به روش فنل کلروفرم جدا شد و با نانودراپ غلظت DNA آن‌ها موردبررسی قرار گرفت که قابل‌قبول بودند و این نمونه‌های DNA در دمای ۷۰- نگهداری شد.

غلظت آنزیم پاراکسوناز ۱ توسط کیت الیزا (EASTBIOPHARM) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت پاراکسونازی پاراکسوناز ۱ از سوبسترای پاراکسون (Sigma Chemical Co) استفاده شد. بدین‌صورت که مقدار ۲۰ میکرولیتر سرم به ۲۰۰ میکرولیتر بافر حاوی ۱۰۰ میلی‌مول Tris/HCl، ۳/۳ میلی‌مول پاراکسون و ۲ میلی مولCaCl2 اضافه شد. فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری پارانیتروفنل با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۱۲nm که در طی واکنش از پاراکسون آزاد می‌شود، به دست آمد (۱۳).

برای اندازه‌گیری فعالیت آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز ۱ از سوبسترای فنیل‌استات استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از سرم به بافر حاوی ۲ میلی‌مول فنیل‌استات، ۱ میلی مول CaCl2 و ۲۰ میلی مول Tris/HCl اضافه گردید. سرعت هیدرولیز فنیل‌استات با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۷۰nm تعیین کردید. نتایج به‌صورت µmol/min/ml serum بیان شد (۱۴).

برای تعیین پلی‌مورفیسم‌های m2،m1 و m3 آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ از روش PCR-RFLP استفاده شد، به این صورت که ابتدا DNA از نمونه‌های خونی به روش فنول- کلروفرم استخراج شد و سپس قطعه DNA موردنظر با روش PCR تکثیر پیدا کرد و سپس DNA های تکثیر یافته توسط آنزیم‌های محدودالاثر به روش RFLP مورد برش قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده برای N-استیل ترانسفراز ۲ شامل F (5'- GGAACAAATTGGACTTGG-3') و R: (5'- CTAGCATGAATCACTCTGC-3') می‌باشند و آنزیم‌های مورد استفاده برای تغییرات نوکلئوتید m2،m1 و m3 شامل (BamH1، Taq1 و Kpn1) می‌باشند.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

داده‌های به‌دست‌آمده از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار spss16 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای کمی بین دو گروه از Independent sample t test استفاده شد و برای مقایسه‌ی داده‌های کیفی بین دو گروه از تست chi-square استفاده شد و مقدار P کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

دو گروه مورد مطالعه در این تحقیق شامل، گروه ۱، بیماران مبتلا به پارکینسون و گروه ۲، شامل افراد سالم که ازنظر پارامترهای سن و جنس مشابه بودند، یعنی این پارامترها ازنظر آماری معنی‌دار نبودند و اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای بین آن‌ها وجود نداشت (جدول ۱).

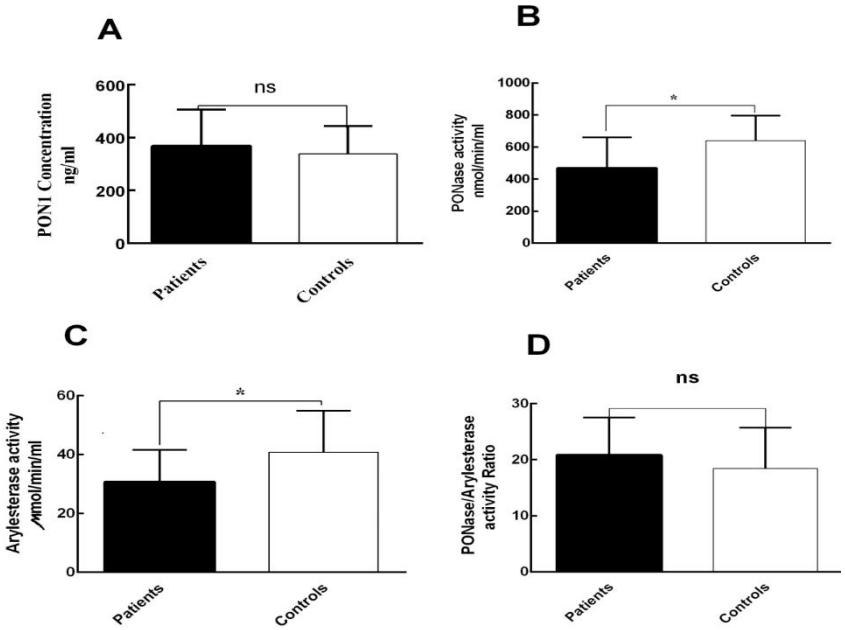
جدول (۱). مشخصات دموگرافیک افراد مورد مطالعه

متغیر گروه		کنترل	بیمار	p value
× سن		۶۶/۳۰±۱۰/۴۹(year)	۶۹/۱۲±۹/۳۷(year)	۰/۲۰۸
جنس	مرد	۲۶(۶۵)	۲۹(۷۲/۵)	-
	زن	۱۴(۳۵)	۱۱(۲۷/۵)	-
×وزن		۷۳/۶۵ ± ۱۳/۶۲kg	۶۹/۱۸ ± ۸/۳۰kg	۰/۰۸
×غلظت پاراکسوناز ۱ ng/ml		۳۳۷/۷۲ ± ۱۰۶	۳۶۶/۶۸ ± ۱۳۹	۰/۳۰۱
×فعالیت پاراکسونازی nmol/min/ml		۶۸۱/۲۵±۱۵۷	۴۶۸/۹۰±۱۹۱	<۰/۰۰۱
×فعالیت آریل استرازی µmol/min/ml		۴۰/۸۲±۱۴/۱۴	۳۰/۶۶±۱۰/۹۱	۰/۰۰۱
×نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل استرازی		۱۷/۹۵± ۷/۲۷	۲۰/۴۲±۶/۷۴۳	۰/۱۱۹

×p value، بر اساس Independent sample t test

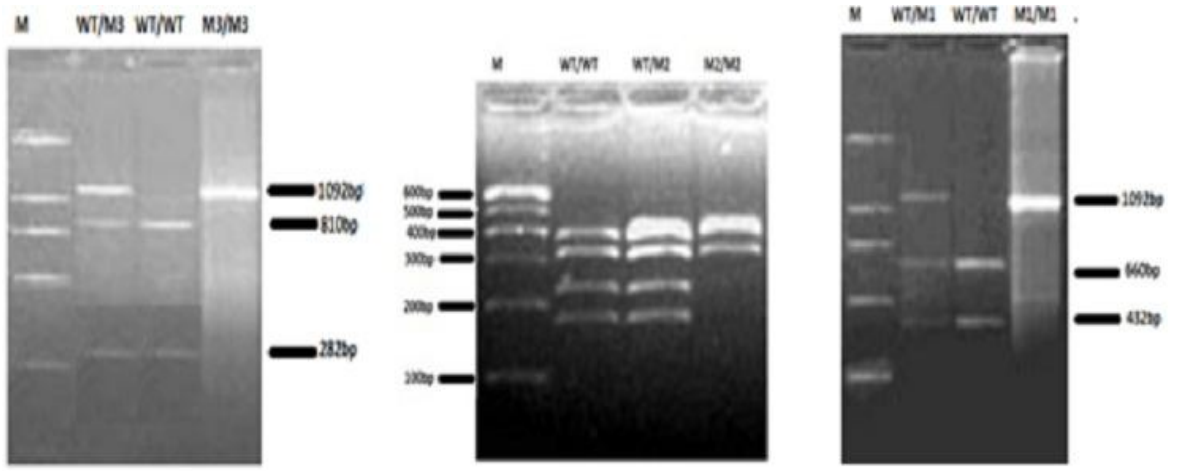
همان‌طور که در شکل (۱) مشاهده می‌کنید هرچند غلظت آنزیم پاراکسوناز ۱ بین دو گروه ازنظر آماری معنی‌دار نبود (۱۳۹± ۳۶۶/۶۸ در مقابل ۳۳۷/۷۲±۱۰۶) با (P>0.05) ولی غلظت آنزیم پاراکسوناز ۱ در گروه بیمار از گروه کنترل بیشتر بود، هم‌چنین فعالیت پاراکسونازی (۴۶۸/۹۱±۱۹۱ در مقایسه با ۶۸۱/۲۵±۱۵۷) با (P<0.05) و آریل‌استرازی آنزیم پاراکسوناز ۱(۳۰/۶۶±۱۰ در مقایسه با ۴۰/۱۴±۱۴) با (P<0.05) نیز بین دو گروه تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای داشت، اما نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل-استرازی این آنزیم بین دو گروه معنی‌دار نبود (P>0.05).

در این مطالعه سه تغییر نوکلئوتید آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ (M2،M1 و M3) در ۴۰ نمونه‌ی بیمار و ۴۰ نمونه‌ی کنترل بررسی شد. نتایج ژنوتایپینک آن‌ها در جدول (۲) نشان داده شده است.



شکل (۱): مقایسه‌ی غلظت آنزیم پاراکسوناز ۱ (A)، فعالیت پاراکسونازی (B)، فعالیت آریل استرازی (C) و نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل استرازی (D) بین بیماران پارکینسونی و گروه کنترل ×P<۰/۰۵

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]
[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]



شکل۳ شکل۲ شکل۱

شکل (۲): در بین این اشکال که شکل ۱ که مربوط به ژن m1آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ می‌باشد توسط آنزیمKpn1 برش داده شده است که در wt/wt (۶۶۰ و ۴۳۲)، wt/m1 (۱۰۹۲، ۶۶۰ و ۴۳۲) و در حالت m1/m1 (۱۰۹۲) جفت باز به وجود آمدند. شکل ۲ که مربوط به ژن m2 این می‌باشد توسط آنزیم Taq1 برش داده شده است و در حالت wt/wt (۳۸۰ ۳۱۷، ۲۲۶ و ۱۷۰)، wt/m2 (۳۹۶، ۳۸۰، ۳۱۷، ۲۲۶ و ۱۷۰) و m2/m2 (۳۹۶، ۳۸۰ و ۳۱۷) جفت باز به وجود آمدند.. شکل ۳ که مربوط به ژن m3 این آنزیم می‌باشد توسط آنزیم BamH1 برش داده شده است و در حالت در wt/wt (۸۱۰ و ۲۸۲)، wt/m3 (۱۰۹۲، ۸۱۰ و ۲۸۲) و در حالت m3/m3(1092) جفت باز به وجود آمدند.

فراوانی تغییر نوکلئوتید M1 در بین دو گروه تفاوت زیادی داشت ($p<0.05$) ولی فراوانی دو تغییر نوکلئوتید M2 و M3 بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت زیادی نداشت و ازنظر آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در مطالعه‌ی ما هم‌چنین چهار الل آنزیم N- استیل ترانسفراز ۲ (Wt)، M1، M2، M3 که فراوانی آن‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است و در بین دو گروه تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای نداشت. در این مطالعه ده ژنوتیپ N-استیل ترانسفراز ۲) Wt/Wt، Wt/M1، Wt/M2، Wt/m3، M1/M1، M1/ M3، M1/M2. M2/M3، M2/M2، M3/M3) پیدا شدند و فراوانی آن‌ها در جدول (۴ و ۵) نشان داده شده است.

تغییرات نوکلئوتید آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ بر طبق تمایل به استیلاسیون، ژنوتیپ‌های متفاوت و فنوتیپ‌های متفاوت نشان می‌دهند. ژنوتیپ‌ها از ۲ الل تشکیل شده‌اند؛ (Mx/Mx) که استیله-کننده‌ی‌کند هستند و (Wt/Mx،Wt/Wt) استیله-کننده‌ی سریع هستند. همان‌طور که در جداول (۴) مشاهده می‌کنید فراوانی متابولیزه‌کننده‌ی سریع در گروه کنترل تقریباً نسبت به گروه بیمار بیشتر بود و برعکس فراوانی متابولیزه کننده‌ی‌کند در گروه بیمار نسبت به کنترل بیشتر بود.

جدول (۲): فراوانی تغییرات نوکلئوتید ژن M2،M1 و M3 آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲

	M3	M2		M1					
	M3/M3	WT/M3	WT/WT	M2/M2	WT/M2	WT/WT	M1/M1	WT/M1	WT/WT
سالم	۴	۱۹	۱۷	۳	۱۲	۲۵	۵	۱۴	۲۱
بیمار	۶	۱۳	۲۱	۷	۱۴	۱۹	۲	۲۷	۱۱
p value		۰/۳۷۸			۰/۲۷۶			۰/۰۱۴	

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

جدول (۳): فراوانی الل‌های آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲

الل	گروه کنترل		گروه بیمار	
	تعداد	فراوانی	تعداد	فراوانی
WT	۱۶۴	۰/۶۸	۱۶۲	۰/۶۷/۵
M1	۲۴	۰/۱۰	۲۵	۰/۱۰/۵
M2	۲۶	۰/۱۱	۲۸	۰/۱۱/۶
M3	۲۶	۰/۱۱	۲۵	۰/۱۰
جمع	۲۴۰	۱۰۰	۲۴۰	۱۰۰

جدول (۴): ژنوتایپ استیله‌کننده‌ی‌سریع آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲

گروه	WT/M3	WT/M2	WT/M1	WT/WT	جمع
گروه کنترل	۴	۶	۹	۱۱	۳۰
درصد	۰/۱۳/۳	۰/۲۰	۰/۳۰	۰/۳۶/۶۶	۱۰۰
گروه بیمار	۵	۵	۷	۱۰	۲۷
درصد	۰/۱۸/۵	۰/۱۸/۵	۰/۲۵/۹	۰/۳۷/۰۳	۱۰۰

جدول (۵): ژنوتایپ استیله کننده‌ی‌کند آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲

گروه	M3/M3	M2/M3	M2/M2	M1/M3	M1/M2	M1/M1	جمع
بیمار	۱	۲	۱	۳	۵	۱	۱۳
درصد	۰/۷/۶۹	۰/۱۵/۳۸	۰/۷/۶۹	۲۳	۰/۳۸/۵	۰/۷/۶۹	۱۰۰
کنترل	۱	۱	۲	۴	۱	۱	۱۰
درصد	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۲۰	۰/۴۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۱۰۰

بحث

در مطالعه‌ی حاضر فعالیت و غلظت آنزیم پاراکسوناز ۱ و تغییرات نوکلئوتید آنزیم N-استیل ترانسفراز ۲ در بیماران مبتلا به پارکینسون و گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفت.

امروزه بیماری‌های عصبی یکی از مشکلات جامعه‌ی مدرن می‌باشند، پارکینسون نیز یکی از این بیماری‌های عصبی می‌باشد که در بین ارگان‌ها بیشتر سیستم عصبی را درگیر می‌کند که با لرزش دست‌ها و پاها و عدم تعادل همراه است، علت آن عدم تولید دوپامین در جسم سیاه مغز می‌باشد و افراد بیشتر در میان‌سالی و پیری بدان دچار می‌شوند. بیماری پارکینسون ازنظر فراوانی بعد از بیماری آلزایمر دومین بیماری عصبی می‌باشد. از علل این بیماری می‌توان به زندگی روستایی، استفاده‌ی مستقیم از آب چاه، سموم شیمیایی و ارگانوفسفره‌ها اشاره کرد. بدن انسان برای مقابله با این سموم و اکسیدان‌ها دو سیستم آنتی‌اکسیدانی دارد. سیستم آنزیمی شامل آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، پاراکسوناز و غیره می‌باشد و سیستم غیرآنزیمی شامل بیلی‌روبین، ویتامین A، ویتامین C و غیره می‌باشد.

آنزیم پاراکسوناز ۱ یک آنزیم با خاصیت ضداکسیدانی قوی می‌باشد که مطالعه‌ی زیادی روی غلظت و فعالیت آن در بیماری‌های مختلف صورت گرفته است. فعالیت و غلظت این آنزیم با افزایش سن کاهش می‌یابد و رژیم غذایی نیز بر فعالیت و غلظت این آنزیم تأثیر دارد (۱۵). از طرف دیگر این آنزیم دو تغییر نوکلئوتید مهم در جایگاه ۵۵ و ۱۹۲ دارد که روی غلظت و فعالیت آنزیم تأثیر می‌گذارند (۱۶). مطالعه‌ای که توسط ولیلو و همکارانش صورت گرفت نشان داد که فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ می‌تواند تحت تأثیر تغییرات نوکلئدتید این آنزیم قرار بگیرد (۱۷). مطالعات مختلفی بر روی این آنزیم در بیماران مختلف صورت گرفته است که نتایج این مطالعات بر نقش مهم این آنزیم در بدن اشاره کردند. در مطالعات قبلی که بر روی فعالیت این آنزیم کار کرده بودند یافته‌های مختلفی را به دست آورده بودند، بعضی‌ها رابطه‌ی معنی‌داری بین افراد سالم

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

و بیماران پارکینسونی پیدا کرده بودند و بعضی‌ها رابطه‌ی معنی‌داری بین گروه بیماران و افراد سالم پیدا نکردند.

مطالعه‌ای که توسط ایکیدو و همکارانش صورت گرفت، نشان داد که فعالیت پاراکسونازی این آنزیم با افزایش سن کاهش می‌یابد درحالی‌که فعالیت آریل‌استرازی و غلظت این آنزیم با افزایش سن تغییر نمی‌کند، بنابراین کاهش فعالیت پاراکسونازی این آنزیم باعث مستعد شدن HDL به اکسیداسیون و کاهش در سم‌زدایی ارگانوفسفره‌ها با افزایش سن و آسیب اکسیداتیو می‌شود(۱۸). در مطالعه‌ی دیگری که روی این آنزیم در بیماران پارکینسونی صورت گرفت نشان داد که تنها فعالیت پاراکسونازی آنزیم پاراکسونازا۱ در بین دو گروه بیمار و کنترل تفاوت دارد و فعالیت آریل استرازی این آنزیم تفاوت معنی‌داری ندارد (۱۹).

در مطالعه‌ای که ما بر روی آنزیم پاراکسوناز ۱ انجام دادیم، فعالیت پاراکسونازی وآریل‌استرازی این آنزیم و نسبت فعالیت این دوتا آنزیم را به هم بررسی کردیم اما در مطالعه‌ی ما رابطه‌ی معنی-داری بین فعالیت پاراکسونازی و آریل‌استرازی بین دو گروه وجود داشت و در گروه کنترل نسبت به گروه بیمار بیشتر بود ($P<0.05$) و در مقایسه‌ی بین دو گروه ازنظر نسبت فعالیت پاراکسونازی به آریل‌استرازی بین دو گروه ازنظر آماری معنی‌دار نبود و این نشان می‌دهد که آنزیم پاراکسوناز ۱ می‌تواند در جلوگیری از بیماری پارکینسون نقش داشته باشد.

آنزیم N- استیل ترانسفراز ۲ سه تغییر نوکلئوتید M1، M2 و M3 دارد، البته یک تغییر نوکلئوتید M4 نیز دارد که شایع نیست و بر طبق تمایل به استیلاسیون، ژنوتیپ‌های متفاوت و فنوتیپ‌های متفاوت نشان می‌دهند و چهار الل Wt،M1، M2،M3 را دارد که در افراد مختلف و جامعه‌های مختلف فرق می‌کنند.

بل و همکارانش گزارش کردند که تفاوت معناداری بین فراوانی الل‌های M1 و Wt بین مردم آفریقا و آمریکا وجود دارد درحالی‌که فراوانی الل های M2 و M3 مشابه هستند (۲۰).

فراوانی الل‌های Wt،M1، M2،M3 در مردم چین و سنگاپور به ترتیب برابر با ۵۱، ۷، ۳۲ و ۱۰ درصد است.

فراوانی استیله کننده‌های سریع و استیله کننده‌های کند در مناطق مختلف جغرافیایی تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای دارند، به عنوان مثال درصد استیله کننده‌ی کند در اسکیموهای کانادایی ۵ درصد، در مصری‌ها بالای ۸۰ درصد و بالای ۹۰ درصد در مراکشی‌ها وجود دارد. سنگاپوری‌ها و چینی‌ها بالای ۷۲ درصد استیله کننده‌ی سریع دارند (۲۱).

در مطالعه‌ی ما چهار الل N- استیل ترانسفراز ۲ (Wt)، M1،M2،M3 و ده ژنوتیپ N- استیل ترانسفراز ۲) Wt/Wt، Wt/M1،Wt/M2، Wt/M3، M1/M1، M1/M2، M1 M3، M2/M3، M2/M2، M3/M3) پیدا شدند، فراوانی الل Wt در گروه سالم ۶۸ درصد و در گروه بیمار ۶۷/۵ درصد، فراوانی الل M1 در گروه سالم ۱۰ درصد و در گروه بیمار ۱۰/۵ درصد، فراوانی الل M2 در گروه سالم ۱۱ درصد و در گروه بیمار ۱۱/۶ درصد و فراوانی الل M3 در گروه سالم ۱۱ درصد و در گروه بیمار ۱۰ درصد بود که ازنظر آماری باهم تفاوت معنا داری نداشتند که البته علت این می-تواند کم بودن تعداد نمونه و یا ژنوتیپ افراد منطقه‌ی مورد مطالعه باشد، هم‌چنین مطالعات ما نشان دادند که ژنوتیپ استیله‌کننده‌ی سریع و استیله‌کننده‌ی کند می‌تواند ارتباطی با بیماری پارکینسون داشته باشد.

از آنجایی که آنزیم N- استیل ترانسفراز ۲ یکی از مهم‌ترین آنزیم‌ها در سم‌زدایی و دتوکسیفیکاسیون مواد دارویی و ارگانوفسفره‌ها دارد ارتباط آن با بسیاری از بیماری‌ها ازجمله سرطان سینه، سرطان مثانه، سرطان کولورکتال و بیماری آلزایمر بررسی شده است، مثلاً یک مطالعه نشان داده است که تغییر نوکلئوتید آنزیم N - استیل ترانسفراز ۲ با سرطان کولورکتال ارتباط دارد. مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهد که فنوتیپ استیله کننده‌ی سریع با افزایش وقوع سرطان کولورکتال در مردم انگلستان ارتباط دارد. لی و همکارانش نشان دادند که فنوتیپ استیله کننده‌ی سریع در مردم سنگاپور با وقوع سرطان ارتباط دارد (۲۲).

شاکن برگ و همکارانش به از دست رفتن هتروزنسیته‌ی کند و سریع در سرطان مثانه پی بردند، آن‌ها مشاهده کردند که لوکوس N- استیل ترانسفراز ۲ در شماره‌ی ۱۱ در بیماران سرطانی ۱۸ درصد از بین رفتند ولی در افراد سالم شاهد از بین رفتن لوکوس ژنی این آنزیم نشدند(۲۳). این مطالعات نقش مهم آنزیم N- استیل ترانسفراز۲ را در جلوگیری از بسیاری از بیماریها نشان می‌دهند.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان به این نتیجه رسید کـه فعالیـت پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز ۱ در افراد پارکینسونی نسبت به گروه سالم کاهش می‌یابد و هم‌چنین فراوانی ژنوتیپ استیله¬کننده¬ی سریع و استیله¬کننده¬ی کند بین دو گروه بیمار و سالم تفاوت دارد که خود این عوامل می‌توانند در ایجاد بیماری پارکینسون نقش داشته باشد. بنابراین، این مطالعه می‌تواند از نقش مهم آنزیم پاراکسوناز ۱ متصل به HDL و آنزیم N- استیل ترانسفراز ۲ در جلـوگیری از بیماری پارکینسون حمایـت کند و این خود به مطالعه در سطح وسیع و نمونه‌های بیشتری نیاز دارد.

پیشنهادات:

با توجه به اینکه بیماری پارکینسون از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی محسوب می‌شود، پیشنهاد می‌شود نمونه‌هایی با تعداد بیشتر

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

و بررسی فاکتورهای بیشتری که می‌توانند در درمان و پیشگیری بیماری پارکینسون نقش داشته باشند، انجام گیرد.

ملاحظات اخلاقی:

با توجه به ماهیت مطالعه که از نمونه‌های گرفته شده از بیماران بود هیچ‌گونه مداخله‌ای انجام نشد. اطلاعات بدون هرگونه مشخصه‌ی قابل شناسایی و هویتی بود. تیم پژوهش خود را مکلف به رعایت تمام اصول اخلاقی در تمام مراحل پژوهش می‌داند.

مشکلات، محدودیت‌های طرح: ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها، زمان‌بر بودن نمونه‌گیری و کمبود بودجه.

تشکر و قدردانی

محققین تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه علوم پزشکی تبریز که در تصویب (کد اخلاق: IR.TBZMED.REC.1394.899) و کمک مالی (گرانت: ۹۳/۲-۹/۳۷) که به این پروژه کرده است اعلام می‌کنند.

References:

1. Galvan A, Wichmann T. Pathophysiology of parkinsonism. Clin Neurophysiol 2008;119(7):1459-74.
2. Balestrino R, Schapira A. Parkinson disease. Eur J Neurol 2020;27(1):27-42.
3. Keane P, Kurzawa M, Blain P, Morris C. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. Parkinsons Dis 2011;2011:716871.
4. Hayes MT. Parkinson's disease and parkinsonism. Am J Med 2019;132(7):802-7.
5. Chung K, Dawson TM, Dawson VL. Nitric oxide, S-nitrosylation and neurodegeneration. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 2005;51(3):247-54.
6. Aviram M, Kaplan M, Rosenblat M, Fuhrman B. Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. Handb Exp Pharmacol 2005; (170):263-300.7.
7 Mota A, Taheraghdam A, Valilo M. Paraoxonase1 and its relationship with Parkinson's disease. Brain 2019;4:1-6.
8. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. Circulation 2003;107(22):2775-9.
9. Aviram M ,Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18(10):1617-24.
10. Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop Jr T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. Exp Gerontol 2004;39(1):59-66.
11. Singh S, Kumar V, Singh P, Banerjee BD, Rautela RS, Grover SS, et al. Influence of CYP2C9, GSTM1, GSTT1 and NAT2 genetic polymorphisms on DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen 2012;741(1-2):101-8.
12. Salazar-González RA, Zhang X, Doll MA, Lykoudi A, Hein DW. Role of the human N-acetyltransferase 2 genetic polymorphism in metabolism and genotoxicity of 4, 4′-methylenedianiline. Arch Toxicol 2019;93(8):2237-46.
13. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19(2):330-5.
14. 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 paraoxonase. J Clin Invest 1998;101(8):1581-90.
15. 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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

16. Kokouva M, Koureas M, Dardiotis E, Almpanidou P, Kalogeraki A, Kyriakou D, et al. Relationship between the paraoxonase 1 (PON1) M55L and Q192R polymorphisms and lymphohaematopoietic cancers in a Greek agricultural population. Toxicology 2013;307:12-6.
17. Mota A, Hemati-Dinarvand M, Taheraghdam AA, Nejabati HR, Ahmadi R, Ghasemnejad T, et al. Association of Paraoxonse1 (PON1) Genotypes with the Activity of PON1 in Patients with Parkinson's Disease. Acta Neurol Taiwan 2019;28(3):66-74.
18. Rael LT, Bar-Or R, Aumann RM, Slone DS, Mains CW, Bar-Or D. Oxidation–reduction potential and paraoxonase–arylesterase activity in trauma patients. Biochem Biophys Res Commun 2007;361(2):561-5.
19. Benmoyal-Segal L, Vander T, Shifman S, Bryk B, Ebstein R, Marcus E-L, et al. Acetylcholinesterase/ paraoxonase interactions increase the risk of insecticide-induced Parkinson's disease. FASEB J. 2005;19(3): 452-4.
20. Bell DA, Badawi AF, Lang NP, Ilett KF, Kadlubar FF, Hirvonen A. Polymorphism in the N-acetyltransferase 1 (NAT1) polyadenylation signal: association of NAT1* 10 allele with higher N-acetylation activity in bladder and colon tissue. Clin Cancer Res 1995;55(22): 5226-9.
21. Weber W, Hein DW. N-acetylation pharmacogenetics. Pharmacol Rev 1985;37:25-79.
22. Kim W-J, Lee H-L, Lee S-C, Kim YT, Kim H. Polymorphisms of N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferase mu and theta genes as risk factors of bladder cancer in relation to asthma and tuberculosis. J Urol 2000;164(1):209-13.
23. Rothman N, Garcia-Closas M, Chatterjee N, Malats N, Wu X, Figueroa JD, et al. A multi-stage genome-wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci. Nat Genet 2010;42(11):978-84.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]

Original Article

INVESTIGATION OF PARAOXONASE1 ACTIVITY RATIO TO ARYL ESTERASE OF PARAOXONASE 1 ENZYME AND FREQUENCY OF N-ACETHYLTRANSFERASE-2 ENZYME POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE: A CASE-CONTROL STUDY

*Ali Mota[1], Elmira Aboutalebi Vand Beilankouhi[2], Hosein Mohammad Alizadeh fard[3], Zhila khodabandeh[4], Fariba Mirzamohammadi[5], Mohammad Valilo[6]**

Received: 20 January, 2021; Accepted: 11 September, 2021

Abstract

Background & Aims: Parkinson's disease is the second most commonly diagnosed neurological disease after Alzheimer's disease. Paraoxonase 1 enzyme is an antioxidant enzyme with two paraoxonase and aryl esterase activity, and the change in activity and concentration of this enzyme can contribute to Parkinson's disease. The N-acetyltransferase enzyme plays an important role in the detoxification of organophosphates, in which the N-acetyltransferase 2 enzyme plays an important role. The aim of this study was to evaluate the paraoxonase activity ratio to aryl esterase activity of paraoxonase enzyme and the frequency of N-acetyltransferase 2 enzyme polymorphisms in patients with Parkinson's disease.

***Materials & Methods*:** In this case-control study, 80 cases (40 patients with Parkinson's disease and 40 control subjects) were studied. N-acetyltransferase-2 polymorphisms by the PCR-RFLP method were investigated using the relevant bound restriction enzymes. The serum level of paraoxonase 1 was determined by ELISA and enzyme activity of paraoxonase 1 was measured with spectrophotometric.

***Results*:** The ratio of paraoxonase to Aryl esterase did not show any significant difference between the two groups ($p > 0.05$). Significant differences were observed in the frequency of m1 polymorphism genotypes between control and patient groups ($p < 0.05$). However, the prevalence of polymorphism genotypes m1 and m2 between the two groups did not show a significant difference ($p > 0.05$).

***Conclusion*:** The results of this study showed that three N-acetyltransferase 2 polymorphisms, m1 polymorphism, as well as a decrease in serum levels and paraoxonase 1 activity, may contribute to the pathogenesis and etiology of Parkinson's disease.

Keywords: Parkinson's disease, gene polymorphism, paraoxonase 1, N-acetyltransferase 2

***Address*:** MSc of Clinical Biochemistry, Tabriz University of Medical Science. Tabriz, Iran
Tel: +989380540895
Email: valilo.biomed@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(6): 407 ISSN: 2717-008X

[1] *Assistant Professor of Clinical Biochemistry, Tabriz University of Medical Science. Tabriz, Iran*

[2] *MSc Student in Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran*

[3] *Generation Doctor, Shohada Hospital, Tabriz University of medical sciences, Tabriz, Iran*

[4] *MSc of Histology and Embryology, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran*

[5] *MSc of Change Management, Clinical Research Development Unit, Shohada Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[6] *MSc of Clinical Biochemistry, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran (Corresponding Author)*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-23]

[DOI: 10.52547/umj.32.6.399]