

## بررسی فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی سرم در بیماران مبتلا

### به سرطان معده

دکتر محمد مآذنی<sup>۱</sup>، شبنم جوادی<sup>۲</sup>، جعفر بشیری<sup>۳</sup>، دکتر عباس نقی زاده<sup>۴</sup>، امیر منصور وطن خواه<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> استادیار بیوشیمی بالینی، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

<sup>۲</sup> نویسنده مسئول: کارشناس ارشد زیست شناسی، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران

E-mail: javadi\_shabnam@yahoo.com

<sup>۳</sup> دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران <sup>۴</sup> استادیار مدیریت برنامه ریزی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

<sup>۵</sup> کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

#### چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان معده شایعترین علت مرگ ناشی از سرطان در کشور ایران است. هدف از این مطالعه ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدانی و اکسیداتیو بیماران با سرطان معده با اندازه گیری فعالیتهای پاراکسوناز-۱، آریل استراز و مقادیر مالون دی آلدئید (MDA) است.

**روش کار:** در یک مطالعه شاهد-موردی ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان معده مراجعه کننده به کلینیک ارس اردبیل و ۳۰ فرد سالم هم‌هنگ از نظر جنس و سن بین سالهای ۱۳۸۸-۱۳۸۷ مطالعه شدند و فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز-۱، میزان MDA و پروفایل لیپیدی در سرم آنها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تعیین شد.

**یافته ها:** فعالیت آنزیم پاراکسوناز در سرم افراد مبتلا به سرطان معده ( $190 \pm 68/95$  IU/L)، کمتر از افراد سالم (IU/L)  $258 \pm 68/59$  بود ( $P=0/001$ ). بطور مشابهی فعالیت آریل استرازی آنزیم در بیماران ( $30/5 \pm 28/4$  U/L) کمتر از گروه کنترل ( $284/23 \pm 163/2$  U/L) بود ( $p<0/001$ ). کاهش فعالیتهای استاندارد شده پاراکسوناز و آریل استراز در بیماران نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (بترتیب با  $p=0/001$  و  $p<0/001$ ) و میزان مالون دی آلدئید در بیماران بیشتر از افراد سالم بود ( $p<0/001$ ). همچنین مقدار کلسترول HDL و تری گلیسرید در گروه بیمار کاهش، اما میزان کلسترول تام و کلسترول LDL تفاوت معنی داری در دو گروه نشان نداد.

**نتیجه گیری:** مطالعه حاضر نشانگر افزایش استرس اکسیداتیو در سرطان معده با تضعیف قدرت آنتی اکسیدانی و بدتر شدن وضعیت اکسیداتیو بدن است.

**کلمات کلیدی:** پاراکسوناز؛ آریل استراز؛ سرطان معده

دریافت: ۸۹/۵/۱۸ پذیرش: ۸۹/۹/۱۵

#### مقدمه

کشور ایران است [۴]. بروز سرطان معده تنوع جغرافیایی قابل توجهی را نشان می دهد اما به طور کل در اغلب مناطق قاره آسیا که ایران را هم در بر می گیرد، میزان بسیار بالایی دارد [۵]. در ایران در مناطق شمالی و شمال غربی سرطان معده بیشتر دیده می شود در حالیکه در مناطق جنوبی میزان کم و در مناطق استانهای مرکزی و غربی حد متوسط

بعد از بیماریهای قلبی و عروقی، سرطان دومین علت مرگ و میر در بیشتر کشورها است [۱] و در بین سرطانها، سرطان معده دومین علت مرگ و میر مربوط به سرطان در دنیا است [۲]. بروز سرطان معده-روده‌ای در ایران نیز شایع است [۳] و سرطان معده شایعترین علت مرگ ناشی از سرطان در

اکسیژن فعال نقش مهمی را در پاتوژنز التهاب موکوسی معده، روده و سرطان معده بازی می‌کنند [۲۷]. پراکسیداسیون لیپید شاخصی شناخته شده برای فعالیت رادیکالهای آزاد است [۲۶] و مالون دی‌آلدهید (MDA) یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدهاست که میزان آن در سرطان بالاتر می‌باشد [۳۱-۲۸]. این امر در مورد سرطان معده نیز صادق است [۳۱، ۲۹].

سیستم آنتی‌اکسیدانی مجموعه‌ای از آنزیمها و مواد آنتی‌اکسیدانی است که عمل مقابله با رادیکالهای آزاد و اکسیدانها را برعهده دارد و به نظر می‌رسد که یکی از این آنزیمهای آنتی‌اکسیدان آنزیم پاراکسوناز-۱ (PON-1) باشد به طوری که برخی مطالعات خارج از بدن نشان داده است که پاراکسوناز بازدارنده قوی اکسیداسیون بوده و باعث هیدرولیز  $H_2O_2$  می‌شود [۳۲]. از طرفی PON-1 از اکسیداسیون  $LDL^3$  با از میان برداشتن فسفولیپیدهای اکسیده از روی آن جلوگیری می‌کند [۳۳]. آنزیم پاراکسوناز-۱ یک گلیکوپروتئین با ۳۵۴ اسید آمینه و با وزن مولکولی ۴۴ کیلو دالتون است که جهت فعالیت آنزیمی خود نیاز به یون کلسیم دارد و می‌تواند به صورت برگشت پذیر به سوبستراهای ارگانوفسفاتی متصل شود و آنها را هیدرولیز کند درحالیکه اتصال سوبستراهای ارگانوفسفاتی به سایر استرازهای آلی سرم مثل پرودواستیل کولین استراز و سایر استیل کولین استرازهای سیناپسها و اتصالات عصبی-عضلانی به صورت برگشت ناپذیر بوده و آنها سوبسترای کشنده برای آنزیم محسوب می‌شوند [۳۴]. این آنزیم برای اولین بار به عنوان مسئول هیدرولیز پاراکسون (که یک متابولیت حشره کش پاراتیون است) شناخته شد [۳۵]. آنزیم پاراکسوناز-۱ در کبد ساخته شده و در خون با HDL<sup>۴</sup> مجتمع می‌شود و باعث بهبود خاصیت آنتی

سرطان دیده می‌شود [۶]. استانهای مازندران و گلستان مناطقی هستند که میزان سرطان معده در آنها هم در زنان و هم در مردان بیشتر دیده می‌شود [۷]. استان اردبیل بیشترین میزان بروز سرطان را در ایران دارد بطوری که در استان اردبیل بالاترین میزان بروز سرطان معده ۴۹/۱ مورد در ۱۰۰۰۰۰ در مردان و ۲۵/۴ مورد در ۱۰۰۰۰۰ در زنان مشاهده می‌شود [۶] که این میزان تقریباً هفت برابر بیشتر از نقاط جنوبی ایران [۸] و دو برابر بیشتر از میانگین جهانی است [۹]. مرگ و میر سالانه در اثر سرطان معده در اردبیل در حدود یک سوم کل مرگ و میر ناشی از سرطان می‌باشد [۱۰]. مطالعات اخیر براساس ASR<sup>۱</sup> نشان می‌دهد بیشترین میزان سرطان معده در دنیا مربوط به استان اردبیل است [۱۱].

علت سرطان معده ناشناخته باقی مانده است و در این رابطه عوامل زیادی ذکر شده اند. در برخی از مطالعات عوامل ژنتیکی بعنوان پایه مطرح کرده‌اند [۱۳، ۱۲]. برخی دیگر فاکتورهای محیطی [۱۵، ۱۴] و تعدادی نیز رژیم غذایی [۱۷، ۱۶]، عفونت ناشی از هلیکوباکتری پیلوری [۱۹، ۱۸] و مصرف سیگار را ذکر نموده اند [۲۰-۲۲]. اما یک علت مشهور سرطان استرس اکسیداتیو است که به عنوان عامل اجتناب‌ناپذیر برای موجودات هوازی می‌باشد [۲۳] که به شکل گونه‌های فعال شده اکسیژن (ROS)<sup>۲</sup> مازاد می‌تواند واسطه مهمی در تخریب ساختمانهای سلولی مثل پروتئینها، غشاهای لیپیدها و DNA باشد [۲۴]. استرس اکسیداتیو افزایش یافته و رادیکالهای آزاد اکسیژن باعث افزایش خطر ابتلا به سرطانهای مختلف می‌شود [۲۵] و سطح پایین آنتی‌اکسیدانها که فعالیت رادیکالهای آزاد را افزایش می‌دهد به طور واضحی با افزایش خطر ابتلا به سرطان همراه است [۲۶]. معلوم شده است که متابولیتهای

<sup>3</sup> Low Density Lipoprotein

<sup>4</sup> High Density Lipoprotein

<sup>1</sup> Age Standardized Incidence Rate

<sup>2</sup> Reactive Oxygen Species

کلیوی، دیابت فندی و عفونتهای مزمن از جمله عوامل خروج از مطالعه در گروه کنترل و شاهد بودند. نمونه خونی وریدی ناشتا تهیه و سرم جداسازی شده تا زمان آزمایش در  $-۸۰$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فعالیت پاراکسوناز و آریل استرازی بهمراه غلظت MDA و پروفایل لیپیدی در نمونه‌ها تعیین گردید.

### اندازه گیری فعالیت پاراکسونازی

فعالیت پاراکسوناز به دنبال تشکیل p-نیتروفنل از طریق جذب آن در  $۴۰۵$  نانومتر با توجه به مقاله منتشر شده توسط فورلانگ<sup>۱</sup> و همکارانش اندازه‌گیری شد [۳۷]. پاراکسون در غلظت بالا بسیار سمی است از این رو تهیه محلول استوک آن ضروری می‌باشد. محلول  $۱۲۰$  میلی مولار پاراکسون در استون برای سه هفته قابل نگهداری است که این محلول استوک در هنگام استفاده توسط تریس-HCL  $۰/۱۳۲$  مول بر لیتر به نسبت  $۱:۲۰$  رقیق می‌شود و به این ترتیب پاراکسون  $۶$  میلی‌مولار به دست می‌آید، بافر آزمایش حاوی  $۰/۱۳۲$  مولار تریس-HCL ( $\text{pH}=۸/۵$ )  $۱/۳۲$  میلی مولار کلرید کلسیم و  $۲/۶۳$  مولار کلرید سدیم می‌باشد. بعد از اضافه کردن  $۲۰۰$  میکرولیتر از پاراکسون (دی اتیل-۴-نیتروفنیل فسفات) تازه تهیه شده  $۶$  میلی مولار میزان آزاد شدن P-نیتروفنل در  $۳۷$  درجه سانتی‌گراد در طول موج  $۴۰۵$  نانومتر تعیین شد. فعالیت PON-1 با استفاده از ضریب جذب مولی  $۱۸۰۵۰ \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  محاسبه گردید و با عنوان IU/L بیان می‌شود به طوری که IU تعداد میکرو مول‌های پاراکسون است که در هر دقیقه هیدرولیز می‌شوند.

### اندازه گیری فعالیت آریل استرازی

فعالیت آریل استرازی آنزیم توسط فنیل استات بر طبق روش گان<sup>۲</sup> و همکارانش با استفاده از

اکسیدانی HDL می‌گردد [۳۵]. به جهت پیوستگی آنزیم به HDL، اندازه گیری فعالیت آنزیم همراه با اندازه گیری پروفایل لیپیدی صورت گرفته است. تغییرات در اندازه و شکل HDL می‌تواند تمایل پیوند و پایداری PON-1 را به شدت تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی آن شود [۳۶]. سوبستراهای فیزیولوژیکی آنزیم هنوز ناشناخته است اما هر دو فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی (ARE) بر روی آنزیم واحد PON-1 صورت می‌گیرد و سوبسترای سنتتیک آنها به ترتیب پاراکسون و فنیل استات است [۲۷].

با توجه به مطالب ذکر شده، این احتمال وجود دارد که آنزیم پاراکسوناز-۱ با خاصیت آنتی اکسیدانی خود احتمال خطر ابتلا به سرطان معده را کاهش دهد و با عنایت به مطالعات اندک صورت گرفته درباره نقش PON-1 در سرطان معده هدف این طرح ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدانی و اکسیداتیو بیماران با سرطان معده با اندازه گیری فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان PON-1 همراه با تعیین مارکر استرس اکسیداتیو (MDA) است.

### روش کار

این مطالعه به طور شاهد-موردی در کلینیک ارس بیمارستان امام خمینی اردبیل در طی سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۷ از بین بیماران مبتلا به سرطان معده ساکن استان اردبیل در مراحل اولیه تشخیص بیماری انجام گرفت. حجم نمونه با دقت  $۹۵\%$  و قدرت  $۸۰\%$  و با توجه به فرمول تعیین حجم نمونه از بین بیماران مراجعه کننده به کلینیک ارس  $۲۰$  نفر برآورد گردید. تشخیص سرطان معده بر پایه یافته‌های هیستوپاتولوژیک انجام شده است. سی فرد سالم که از نظر سنی و جنسی هماهنگ با بیماران بودند به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. پرتو درمانی، شیمی درمانی، مصرف داروهای آنتی اکسیدانی و آنتی لیپوفیلیک، بیماری‌های قلبی-عروقی، نارسایی

<sup>1</sup> Furlong

<sup>2</sup> Gan

بوتانل اضافه گردید پس از سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه فاز روئی صورتی رنگ جدا و جذب آن در ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد و مقدار MDA نمونه از روی منحنی استاندارد حاصل از تتراتوکسی پروپان به دست آمد [۴۰].

#### اندازه گیری پروفایل لیپیدی

اندازه گیری مقادیر تری گلیسرید، کلسترول تام، HDL و LDL با استفاده از کیت‌های تجاری معمول صورت گرفته است.

#### تجزیه و تحلیل داده ها

از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ جهت انجام تمام محاسبات استفاده شد. داده ها به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین نشان داده شده اند. اختلاف بین گروه‌های مطالعه شده با استفاده از تست پارامتریک تی-تست مقایسه شده است. ضریب همبستگی پیرسون جهت سنجش وابستگی بین متغیرها به کاربرده شد. سطح معنی داری در تمامی موارد مساوی یا کوچکتر از ۰/۰۵ فرض شده است.

#### یافته ها

نتایج این مطالعه نشان می دهد که از بین ۲۰ بیمار مورد مطالعه ۳ نفر (۱۵٪) زن و ۱۷ نفر (۸۵٪) مرد با میانگین سنی  $66/65 \pm 12/76$  سال (۸۴-۳۵ سال) و از بین ۳۰ فرد سالم، ۱۳ نفر (۴۳/۳٪) زن و ۱۷ نفر (۵۶/۷٪) مرد با میانگین سنی  $63/97 \pm 10/56$  سال (۸۵-۳۵ سال) حضور داشتند.

نتایج مربوط به مقایسه پارامترهای فعالیت آنزیم پاراکسوناز، آریل استراز، مالون دی آلدئید و پروفایل لیپیدی در جدول ۱ آمده است. این نتایج کاهش معنی دار فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی و کاهش مقدار کلسترول HDL در بیماران نشان می‌دهد ولی مقادیر سرمی MDA و تری گلیسرید افزایش معنی داری در این گروه دارند. همچنین این جدول نشان می دهد فعالیت استاندارد شده PON و ARE در بیماران کمتر از گروه کنترل است. در این

سوبسترای سنتتیک آنزیم پاراکسوناز-۱ اندازه گیری می شود [۳۸]. فنیل استات همراه با سایر مواد لازم از شرکت مرک آلمان خریداری شد. ما فعالیت آریل-استرازی را بر پایه روش فوق و بر طبق دستورالعمل بروفی<sup>۱</sup> و همکارانشان اندازه گیری کردیم [۳۹]. محلول سوبسترا به صورت روزانه تهیه شده در ظرف در بسته ای نگهداری شد. محلول تهیه شده قبل از هر سری مصرف به شدت تکان داده می‌شد. ۱۰ میکرولیتر از سرم انسانی رقیق شده به نسبت ۱:۴۰ با ۲۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا (فنیل استات ۳/۲۶ میلی مولار در تریس-HCL ۹ میلی مولار با pH=۸ و کلرید کلسیم ۰/۹ میلی مولار) مخلوط می شد و میزان هیدرولیز فنیل استات از طریق اسپکتروفتومتری در ۲۷۰ نانومتر در ۳۷ درجه سانتی گراد تعیین می گردید. غلظت فنل حاصل شده با استفاده از ضریب جذب مولی  $1310 M^{-1}cm^{-1}$  (۸ pH=) محاسبه می شد. هر واحد (U) از فعالیت آریل استرازی به معنای یک میلی مول فنل آزاد شده به ازای یک لیتر سرم در هر دقیقه است (mmol/L/min).

#### فعالیت استاندارد شده آنزیمها

فعالیت استاندارد شده آنزیمهای PON-1 و ARE به ترتیب با نسبتهای PON/HDL و ARE/HDL تعیین شده است.

#### اندازه گیری وضعیت اکسیداتیو

سطح سرمی MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس روش یاگی<sup>۲</sup> و با تغییرات جزئی مورد تعیین گردید. صدویست و پنج میکرولیتر سرم در لوله آزمایش با ۱/۵ میلی لیتر اسید فسفریک مخلوط شده پس از بهم زدن، ۰/۵ میلی لیتر تیوباربیئوریک اضافه شد. پس از به هم زدن، لوله آزمایش به مدت ۴۵ دقیقه در آب در حال جوش قرار داده شد. پس از سرد کردن، یک میلی لیتر n-

<sup>1</sup> Brophy

<sup>2</sup> Yagi

جدول ۱. میانگین وانحراف معیار متغیرها در افراد مورد مطالعه

متغیرها	گروه بیمار	گروه کنترل	P
پارااکسوناز (IU/L)	۱۹۰±۶۸/۹۵	۲۵۸±۶۸/۵۹	۰/۰۰۱
فعالیت استاندارد پاراکسوناز	۵/۵۹±۳/۴۲	۹/۲۷±۳/۵	۰/۰۰۱
آریل استراز (U/L)	۳۰/۵±۲۸/۴	۲۸۴/۲۳±۱۶۳/۲	<۰/۰۰۱
فعالیت استاندارد آریل استراز	۰/۷۸±۰/۶۳	۱۰/۲۵±۶/۱۷	<۰/۰۰۱
MDA (nmol/L)	۱/۰۱۵±۰/۲۹	۰/۶۵±۰/۳۱	<۰/۰۰۱
HDL کلسترول (mg/dL)	۲۶/۲±۹/۴۹	۴۰/۶۷±۱۲/۰۲	۰/۰۰۱
تری گلیسرید (mg/dL)	۱۰۴±۳۹/۱۱	۱۴۷±۸۰/۵۴	۰/۰۳۲
LDL کلسترول (mg/dL)	۱۱۳/۳±۴۲	۱۱۷±۴۴/۰۷	NS
کلسترول تام (mg/dL)	۱۶۰/۹±۴۹/۱۳	۱۸۹/۲۷±۴۹/۵۲	NS

عدم تغییرات معنی دار (NS: Non Significant)

مطالعه همبستگی معکوس بین فعالیتهای پاراکسوناز و آریل استراز با MDA و همبستگی مستقیم بین فعالیتهای پاراکسوناز و آریل استراز با کلسترول HDL مشاهده می شود اما هیچکدام از این روابط معنی دار نیست.

### بحث

مطالعات بسیار کمی در مورد سنجش فعالیت آنزیم PON-1 در بیماران سرطان معده صورت گرفته است بطوری که ما مشابه چنین کاری را در ایران مشاهده نکردیم همچنین مطالعه ما از محدود مطالعاتی است که در آن میزان آنزیم PON-1 و MDA به صورت توأم در بیماران سرطان معده سنجیده شده است [۲۹].

چنین به نظر می رسد توازن اکسیدان-آنتی اکسیدان در شروع و پیشرفت سرطان مهم است [۴۱] به همین دلیل ما در این مطالعه میزان آنزیم پاراکسوناز-۱ را با اتکاء به خاصیت آنتی اکسیدانی آن در بیماران سرطان معده مورد سنجش قرار دادیم و به این نتیجه رسیدیم که میزان فعالیت این آنزیم در بیماران سرطان معده به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کمتر است. از مطالعات قبلی نیز نتایج مشابهی گزارش شده است به

طوری که در مطالعه انجام شده توسط آکچای<sup>۱</sup> و همکارانشان میزان فعالیت PON-1 در بیماران سرطان معده پایین گزارش شده است [۳۳]. مطالعه باشکول<sup>۲</sup> نیز نتایج مشابهی را آشکار ساخته است [۲۹]. همچنین در مطالعه دیگری که بر روی بدخیمی های مری و معده انجام شده است میزان آنزیم آریل استراز و پاراکسوناز کاهش قابل توجهی در گروه بیمار نشان می دهد که با نتایج مطالعه حاضر همسو است [۲۷] در مطالعه ای دیگر که بر روی بیماران سرطان ریه انجام شده است میزان PON-1 در گروه بیمار کاهش معنی داری نشان داده است [۲۵].

استرس اکسیداتیو یکی از فاکتورهای خطرناک اصلی برای سرطان است [۴۰]. گاهی آن در نتیجه آسیب رسیدن به عملکرد میتوکندریایی و بیشتر به خاطر فعالیت دفاعی ناکافی در بدن به وقوع می پیوندد [۴۴،۴۳]. ما در این مطالعه از MDA به عنوان شاخصی برای اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی در سرم های نمونه استفاده کردیم. همانطور که انتظار می رفت مقدار آن در بیماران سرطان معده به طور قابل توجهی بالاتر از افراد شاهد بود که نشانگر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بیماران

<sup>1</sup> Akcay

<sup>2</sup> Başkol

با سرطان معده است. مطالعات قبلی نیز همین نتیجه را تایید می کنند [۴۵، ۴۲، ۳۱، ۲۹].

مطالعه ای در بیماران آلوده به هلیکوباکتری پیلوری نشان می دهد که در آنها فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی کاهش یافته اما غلظت پراکسیدهای لیپیدی بالا رفته است [۴۶] این مطلب می تواند حلقه ارتباطی بین عفونت به این باکتری و سرطان معده باشد.

یکی از قابلیت های مهم HDL عملکرد آن به عنوان مخزن آنزیمهای آنتی اکسیدان است که این آنتی اکسیدانها توانایی کاهش مقدار لازم از فسفولیپیدهای اکسیده در خون انسان را دارند. پاراکسوناز یکی از آنتی اکسیدانهای مهم موجود در پلاسما است که تجمع فسفولیپیدهای اکسیده را در لیپوپروتئینهای پلاسمایی محدود می کند [۴۷]. در سنجش پروفایل لیپیدی نتایج زیر به دست آمده است: میزان کلسترول HDL کاهش معنی داری در گروه بیمار نسبت به شاهد نشان می دهند در حالی که کلسترول LDL تفاوت معنی داری بین دو گروه ندارند. در مطالعه آکچای و همکارانش نتایج مشابهی گزارش شده است [۳۳]. اما در مطالعه ای که بر روی بیماران سرطان ریه انجام شده است میزان HDL و LDL تفاوت معنی داری در دو گروه نشان نداده است [۲۵]. اگر کاهش کلسترول HDL در بیماران به عنوان شاخصی از کاهش مقدار HDL باشد کاهش فعالیت PON می تواند ناشی از کاهش آن و یا بعلت غیر فعال شدن آنزیم باشد. اما چون فعالیت استاندارد آنزیم در بیماران کاهش یافته است بنابراین غیر فعال شدن آنزیم محتملتر است. مقادیر تری گلیسرید در بیماران مورد مطالعه ما کمتر بود که احتمالاً این کاهش به خاطر وضعیت بد تغذیه ای در بیماران سرطان معده است.

فعالیت پایین آنزیمهای آنتی اکسیدان باعث کم شدن ظرفیت آنتی اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و محصول متابولیسی آن

(MDA) می شود در حالیکه افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می کند و لذا باعث کاهش MDA می شود [۴۲]. در این مطالعه ارتباط معکوس بین PON و MDA و همچنین بین ARE و MDA مشاهده شده که از لحاظ آماری معنی دار نبود بنظر می رسد یکی از علت های عدم معنی دار بودن تعداد محدود نمونه ها باشد. در مطالعات قبلی میزان PON-1 و پراکسیداسیون لیپیدی در بیماران با سرطان معده و هپاتیت سنجیده شده و ارتباط معکوس معنی دار بین آنها گزارش شده است [۴۸، ۲۹]. در مطالعه ای دیگر میزان PON، ARE و MDA در افرادی که در معرض تشعشعات یونیزان هستند اندازه گیری شده و به این نتیجه رسیده اند که ارتباط معکوس معنی دار بین PON و MDA وجود دارد در حالیکه ارتباط معنی داری بین ARE و MDA وجود ندارد [۴۹]. بنظر میرسد همبستگی منفی بین فعالیت PON و MDA ناشی از تخریب اکسیداتیو وسیع PON باشد. اتصال PON به HDL وابسته بودن این آنزیم را به لیپید تأیید می کند. در واقع برای فعالیت پاراکسوناز محیط آبگریز HDL ضروری است. فسفولیپیدها و مخصوصاً آنهایی که زنجیر اسید چرب بلندی دارند آنزیم PON را پایدار می کنند و برای اتصال آن در سطح لیپوپروتئین ضروری اند. فعالیت پایین PON در HDL همچنین می تواند به خاطر حضور مهار کننده های گردش مثل محصولات پراکسیداسیون لیپیدها باشد [۵۰].

برای سنجش اینکه فعالیت کاهش یافته PON-1 همراه با کاهش HDL بوده یا نه، فعالیت آنزیم را برای غلظت HDL به صورت دو نسبت PON/HDL و ARE/HDL استاندارد کردیم و متوجه شدیم که فعالیت استاندارد شده آنزیم در گروه بیمار پایین تر از گروه کنترل بوده است. نتایج مشابهی در سرطان ریه نیز گزارش شده است [۲۵]. پس نتایج فعالیت استاندارد شده آنزیم می تواند گویای آن باشد که

اثر مثبت آنتی اکسیدان ها در بیماری سرطان معده دارد. از طرفی سطح بالای MDA و کاهش فعالیت PON-1 نشانگر زیان رسیدن به توازن اکسیدان - آنتی اکسیدان در این بیماران می باشد. نهایتاً این مطالعه در تأیید این گفته است که توازن اکسیدان - آنتی اکسیدان می تواند نقش مهمی در پاتوژنز سرطان معده داشته باشد.

یکی از محدودیتهای مهم این پژوهش مربوط به این موضوع است که در توازن اکسیدان - آنتی اکسیدان مولفه های متعددی دخیل هستند که در این پژوهش فقط دوتای آنها ( PON و MDA) ارزیابی شدند. بنابراین تعمیم نتایج به کل توازن اکسیدان - آنتی اکسیدان بدون توجه به سایر مولفه ها ممکن است خطاهای فاحشی در پی داشته باشد که در این راستا موارد زیر پیشنهاد می گردد:

جهت درک بهتر خصوصیات آنتی اکسیدانی پاراکسوناز در بیماران با سرطان معده، عوامل آنتی اکسیدان دیگر مثل ویتامین E، C و سایر آنزیم های آنتی اکسیدان مثل SOD، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز به صورت توأم با آنزیم پاراکسوناز مطالعه گردند.

آنتی اکسیدان های غذایی به صورت توأم یا مجزا در بیماران سرطان معده، تجویز و اثر آن ها بر روی آنزیم PON بررسی شوند.

از آنجایی که فسفولیپیدهای زنجیر بلند باعث پایداری بیشتر آنزیم PON می شوند، با گنجاندن این چربی ها در رژیم غذایی اثر شان بر روی آنزیم بررسی شوند.

### نتیجه گیری

از مطالعه حاضر چنین استنتاج می شود که در بیماران مبتلا به سرطان معده:

- کاهش فعالیت پاراکسونازی که همراه با کاهش فعالیت آریل استرازی آنزیم است نشانگر تضعیف قدرت آنتی اکسیدانی بدن است.

کاهش میزان فعالیت آنزیم صرفاً نتیجه تغییرات HDL نبوده است بلکه همان طوری که اشاره شد می تواند ناشی از غیرفعال شدن اکسیداتیو آنزیم باشد. مکانیسم کاهش فعالیت PON-1 در سرطان معده به درستی مشخص نیست کاهش فعالیت آنزیم پاراکسوناز در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل می تواند برخاسته از چندین عامل باشد اول اینکه عمل آنتی اکسیدانی PON-1 همراه با غیرفعال شدن آنزیم است [۵۱] طی این فرایند گروه سولفیدریل آزاد آنزیم PON-1 با لیپیدهای اکسیده خاص، واکنش می دهد و نهایتاً PON-1 غیرفعال می شود [۵۲] احتمالاً حمله رادیکال های آزاد (ROS) به آنزیم باعث غیرفعال شدن آن می شود [۵۱]. با در نظر گرفتن ارتباط معکوس بین PON-1 و MDA، کاهش فعالیت آنزیم PON-1 می تواند در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو در گروه بیمار باشد. با عنایت به اینکه PON-1 آنزیمی وابسته به HDL است کاهش میزان فعالیت آنزیم می تواند پیامد کاهش میزان HDL در گروه بیمار نیز باشد. ولی با توجه به نتایج مربوط به فعالیت استاندارد آنزیم، احتمال غیرفعال شدن آنزیم بیشتر مطرح است. یک مکانیسم دیگر در رابطه با کاهش فعالیت آنزیم PON-1 می تواند از سرکوب شدن سنتز آنزیم به خاطر نقص ژنتیکی منشا بگیرد [۵۲] و یا احتمالاً برخاسته از تنظیم کاهشی رونویسی آن در کبد باشد. به هر حال محیط اکسیدانی و التهابی و آنژیوژنیک در نهایت منجر به کارسینوژنز می شود و یا پیشرفت بیشتر سرطان را مساعدت می کند [۳۳]. چون PON-1 یک عامل آنتی اکسیدان است استفاده از عواملی که فعالیت PON-1 را افزایش می دهند می تواند در درمان بیماری سرطان معده مفید واقع شوند.

به طور کلی این مطالعه بیانگر این است که در بیماری سرطان معده میزان آنزیم آنتی اکسیدان پاراکسوناز کاهش و استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می یابد و دلالت بر

این مقاله حاصل پایان نامه مصوب دانشکده علوم پایه دانشکده پیام نور تهران است و بدینوسیله از زحمات اعضای هیئت علمی و کارکنان محترم آن دانشکده خصوصا آقای دکتر شهریار سعیدیان قدردانی می‌شود. همچنین از اعضای هیئت علمی و کارکنان محترم کلینیک ارس خصوصا خانمها فریده فیضی و رباب فولادی قدردانی می‌شود.

- افزایش غلظت مارکر پراکسیداسیون لیپیدی MDA حاکی از بدتر شدن وضعیت اکسیداتیو است که می‌تواند ناشی اختلال توازن اکسیدان - آنتی اکسیدان باشد (کاهش قدرت آنتی اکسیدانی، افزایش مواد اکسیدانی و یا هر دو مورد). موارد بالا گویای استرس اکسیداتیو و یا تشدید آن در سرطان معده است.

### تشکر و قدردانی

### Reference

- 1- Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. Modern nutrition in health and disease, 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 1290.
- 2- Ushijima T, Sasako M. Focus on gastric cancer. *Cancer Cell* 2004; 5: 121–25.
- 3- Kolahdoozan S, Sadjadi A, Radmard AR, Khademi H. Five common cancers in Iran. *Arch Iran Med*. 2010 Mar; 13(2): 143–6.
- 4- Naghavi M. Death in eighteen provinces of Iran. In: Annual report of Iran Ministry of Health and Medical Education. Tehran: Ministry of Health and Medical Education. 2001: 1: 127-35.
- 5- Grady WM. Genetics of gastric cancer. In: Cowell JK, editor. *Molecular genetics of cancer*. 2<sup>th</sup> ed. London; Bios Ltd: 2001:115.
- 6- Sadjadi A, Malekzadeh R, Derakhshan MH, Sepehr A, Nourai M, Sotoudeh M, et al. Cancer occurrence in Ardabil: results of a population-based cancer registry from Iran. *Int J Cancer*. 2003 Oct; 107(1): 113–8.
- 7- Mohebbi M, Mahmoodi M, Wolfe R, Nourijelyani K, Mohammad K, Zeraati H, et al. Geographical spread of gastrointestinal tract cancer incidence in the Caspian sea region of Iran: spatial analysis of cancer registry data. *BMC Cancer*. 2008 May; 8: 137.
- 8- Sadjadi A, Zahedi MJ, Darvish-Moghadam S, Nourai M, Alimohamadian M, Ghorbani A, et al. The first population-based cancer survey in Kerman province of Iran. *Iran J Public Health*. 2007; 36(4): 26–34.
- 9- Sadjadi A, Nourai M, Mohagheghi MA, Mousavi-Jarrahi A, Malekzadeh R, Parkin DM. Cancer occurrence in Iran in 2002, an international perspective. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2005 Jul-Sep; 6(3): 359–63.
- 10- La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Gentile A. Family history and the risk of stomach and colorectal cancer. *Cancer*. 1992 Jul; 70(1): 50–5.
- 11- Babaei M, Jaafarzadeh H, Sadjadi AR, Samadi F, Yazdanbod A, Fallah M, et al. Cancer incidence and mortality in Ardabil: Report of an ongoing population-based cancer registry in Iran, 2004-2006. *Iran J Publ Health*. 2009; 38(4): 35-45.
- 12- Palli D, Galli M, Caporaso NE, Cipriani F, Decarli A, Saieva C, et al. Family history and risk of stomach cancer in Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1994 Jan–Feb; 3(1): 15–8.
- 13- Inoue M, Tajima K, Yamamura Y, Hamajima N, Hirose K, Kodaera Y, et al. Family history and subsite of gastric cancer: data from a case-referent study in Japan. *Int J Cancer*. 1998 Jun; 76(6): 801–5.
- 14- Haenszel W, Kurihara M, Segi M, Lee RK. Stomach cancer among Japanese in Hawaii. *J Natl Cancer Inst*. 1972 Oct; 49 (4): 969–88.



- 15- Kamineni A, Williams MA, Schwartz SM, Cook LS, Weiss NS. The incidence of gastric carcinoma in Asian migrants to the United States and their descendants. *Cancer Causes Control*. 1999 Feb; 10(1): 77–83.
- 16- Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer*. 2007 Jun; 10 (2): 75–83.
- 17- Rocco A, Nardone G. Diet. *H. pylori* infection and gastric cancer: evidence and controversies. *World J Gastroenterol*. 2007 Jun; 13 (21): 2901–12.
- 18- Forman D, Webb P, Parsonnet J. *H. pylori* and gastric cancer. *Lancet*. 1994 Jan; 343(8891): 243–4.
- 19- Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut*. 2001 Sep; 49(3): 347–53.
- 20- Sitas F, Urban M, Bradshaw D, Kielkowski D, Bah S, Peto R. Tobacco attributable deaths in South Africa. *Tob Control*. 2004 Dec; 13(4): 396–9.
- 21- Chow WH, Swanson CA, Lissowska J, Groves FD, Sobin LH, Nasierowska-Guttmejer A, et al. Risk of stomach cancer in relation to consumption of cigarettes, alcohol, tea and coffee in Warsaw, Poland. *Int J Cancer*. 1999 Jun; 81 (6): 871–6.
- 22- Vineis P, Alavanja M, Buffler P, Fontham E, Franceschi S, Gao YT, et al. Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence. *J Natl Cancer Inst*. 2004 Jan; 96(2): 99–106.
- 23- Benz CC, Cristina Y. Ageing, oxidative stress and cancer: paradigms in parallex. *Nat Rev Cancer*. 2008 Nov; 8(11): 875-9.
- 24- Djordjević VB, Zvezdanović L, Cosić V. Oxidative stress in human disease. *Srp Arh Celok Lek*. 2008 May; 136(suppl 2): 158-65.
- 25- Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a turkish population. *BMC Cancer*. 2007 Mar; 7: 48.
- 26- Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm*. 1994 Sep; 34(9): 26-35.
- 27- Krzystek-Korpacka M, Boehm D, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Gamian A. paraoxonase1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes- Connection with inflammation. *Clin Biochem*. 2008 Jul; 41(10-11): 804-11.
- 28- Bekercioğlu M, Aslan R, Uğras S, Kutluhan A, Şekeroğlu R, Akpolat N, et al. Malondialdehyde levels in serum of patients with skin cancer. *Eur J Plast Surg*. 1998; 21(5): 227-9.
- 29- Başkol M, Başkol G, Koçer D, Artış T, Yılmaz Z. Oxidant - antioxidant parameters and their relationship in patients with gastric cancer. *Journal of Turkish Clinical Biochemistry*. 2007; 5(3): 83-9.
- 30- Kaynar H, Meral M, Turhan A, Keles M, Celik G, Akcay F. Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu–Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell. *Cancer Lett*. 2005 Sep; 227(2): 133-9.
- 31- Torun M, Gönenç A, Sargin H, Menevse A, Simsek B. Serum  $\beta$ -carotene, vitamin E, vitamin C and malondialdehyde levels in several types of cancer. *J Clin Pharm Therapeut*. 1995 Oct; 20(5): 259–63.
- 32- Sozmen Ey, Sozmen B, Girgin FK. Antioxidant enzymes and paraoxonase show a co-activity in preserving low-density lipoprotein from oxidation. *Clin Exp Med*. 2001 Dec; 1(4): 195-9.
- 33- Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G. serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastro Enterology*. 2003 Dec; 50 (suppl2): cclxxiii-cclxxv.

- 34- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraonase and atherosclerosis. *Arteriosclerose Thrombi Vass Biol.* 2001 Apr; 21(4): 473-80.
- 35- Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simeon-rudolf V, Rainer E, Baricic M. Serum paraonase activities in hemodialysed uremic patients: Cohort Study. *Croate Med J.* 2001 Apr; 42(2): 146-150.
- 36- Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraonase gene polymorphisms, oxidative stress, and disease. *J Mol Med.* 2003 Dec; 81(12): 766-79.
- 37- Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Motulsky AG. Role of genetic polymorphism of human plasma paraonase/arylesterase in hydrolysis of the metabolites chlorpyrifos oxon and paraon. *Am J Hum Genet.* 1988 Sep; 43(3): 230-8.
- 38- Gan KN, Smolen S, Ekerson HW, La Du BN, Purification of human serum paraonase/arylesterase evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos.* 1991 Jan-Feb; 19(1): 100-6.
- 39- Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5' Regulatory-Region Polymorphisms on Paraonase-Gene (*PON1*) Expression. *Am J Hum Genet.* 2001 Jun; 68(6): 1428-1436.
- 40- Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Armstrong D, editor. *Free radicals in diagnostic medicine.* New York: Plenum Press, 1994: 1-15.
- 41- Oliveira CP, Kassab P, Lopasso FP, Souza HP, Janiszewski M, Laurindo FR, et al. Protective effect of ascorbic acid in experimental gastric cancer: reduction of oxidative stress. *World J Gastroenterol.* 2003 Mar; 9(3): 446-8.
- 42- Batcioglu K, Mehmet N, Ozturk IC, Yilmaz M, Aydogdu N, Erguvan R, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in stomach cancer. *Cancer Invest.* 2006 Feb; 24(1): 18-21.
- 43- Juan W, You-yong L. Mitochondrial DNA 4977-bp deletion correlated with reactive oxygen species production and manganese superoxide dismutase expression in gastric tumor cells. *Chin Med J-Peking.* 2009 Feb; 122(4): 431-436.
- 44- Zhao YB, Yang HU, Zhang XW, Chen GY., Mutation in D-loop region of mitochondrial DNA in gastric cancer and its significance. *World J Gastroenterol.* 2005 Jun; 11(21): 3304-6.
- 45- Wang SH, Wang YZ, Zhang KY, Shen JH, Zhou HQ, Qiu XY. Effect of superoxide dismutase and malondialdehyde metabolic changes on carcinogenesis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2005 Jul; 11(28): 4305-10.
- 46- Aslan M, Nazligul Y, Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Gur M, et al. Serum paraonase-1 activity in *Helicobacter pylori* infected subjects. *Atherosclerosis.* 2008 Jan; 196(1): 270-74.
- 47- Cabana VG, Catherine A, Feng N, NeathS, Lukens J, Getz GS. Serum paraonase: effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. *J Lipid Res.* 2003 Apr; 44(4): 780-92.
- 48- Ali EM, Shehata HH, Ali-Labib R, Esmail, Zahra LM. Oxidant and antioxidant of arylesterase and paraonase as biomarkers in patients with hepatitis C virus. *Clin Biochem.* 2009 Sep; 42(13-14): 1394-400.
- 49- Serhatlioglu S, Gursu MF, Gulcu F, Canatan H, Godekmerdan A. Levels of paraonase and arylesterase activities and malondialdehyde in workers exposed to ionizing radiation. *Cell Biochem Funct.* 2003 Dec; 21(4): 371-5.
- 50- Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2004 Nov-Dec; 17(6): 813-8.
- 51- Aviram M. Human serum paraonase (pon-1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserve by antioxidants. *Free Radical Biol Med.* 1999; 26(7-8): 892-904.
- 52- Baskol G, Karakucuk S, Oner AO, Baskol M, Kocer D, Mirza E, et al. Serum paraonase 1 activity and lipid peroxidation levels in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmologica.* 2006; 220(1): 12-6.

## The Study of Paraoxonase-1 and arylesterase activities in serum of patients with Gastric cancer in Ardabil province

Mazani M<sup>1</sup>, Ph.D; Javadi S<sup>2</sup>, MSc; Bashiri J<sup>3</sup>, MD, MPH; Naghizadeh A<sup>4</sup>, Ph.D;  
Vatankhah AM<sup>5</sup>, MSc

1- Assistant Prof of Biochemistry, Dept of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Science, Ardabil, Iran.

2- Corresponding author: Msc student of Biology, Dept of Biochemistry, Tehran Payam Noor University, Tehran, Iran. E-Mail:javadi\_shabnam@yahoo.com

3- General practitioner, School of Medicine, Ardabil University of Medical Science, Ardabil, Iran.

4- Assistant Prof of Sport management, Ardabil University of Medical Science, Ardabil, Iran.

5- MSc in Biochemistry, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran.

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** Gastric cancer is the most incident disease in Iran that leads to death. This study was designed to evaluate the oxidative and antioxidative status in patients with gastric cancer by detecting paraoxonase 1 and arylesterase activities together with the level of malondialdehyde. The purpose of the present investigation was determination of Paraoxonase /Arylesterase activity and malondialdehyde (MDA) levels in the serum of patients with Gastric cancer.

**Methods:** In a case-control study, 20 subjects who diagnosed as gastric cancer individuals that referred to Ardabil Aras Clinic were selected from 2008 up to 2009. The case groups were matched with control group (30 subjects). Arylesterase and paraoxonase activities of paraoxonase-1 (PON-1), MDA levels and lipid profile were determined spectrophotometrically in serum of subjects.

**Results:** Upon matching of case and control groups, paraoxonase and arylesterase activities in patients with gastric cancer showed to be significantly lower than healthy subjects ( $190 \pm 68.95$  IU/L vs  $258 \pm 68.59$  IU/L,  $30.5 \pm 28.4$  U/L vs  $284.23 \pm 163.2$  U/L respectively,  $P \leq 0.001$ ). Standardized activities of paraoxonase and arylesterase of case group were lower than controls ( $P \leq 0.001$ ). MDA levels have revealed significant increasing in cases than controls. In present study, HDL cholesterol and triglyceride levels were found to decrease in patient sera too, but the levels of total cholesterol and LDL cholesterol didn't show to be different between two groups.

**Conclusion:** It was concluded that in patients with gastric cancer, oxidative stress was raised by attenuation of antioxidant system and oxidant levels rising.

**Keywords:** Paraoxonase; Arylesterase; Gastric Cancer