

# بررسی میزان شیوع کمبود آنزیم گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز در شهرستان نیشابور

## چکیده

کمبود گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز (G۶PD) ناهنجاری آنزیمی شایع و وابسته به کروموزوم X می‌باشد. G۶PD اولین آنزیم کلیدی در مسیر پنتوز فسفات است که در تولید NADPH دخالت دارد. NADPH در بیوسنتز گلوکوتاتیون احیا شده (GSH) از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. GSH از دنا تورا سیون هموگلوبین جلوگیری کرده، از گروه‌های سولفیدریل غشای گلبول‌های قرمز محافظت می‌کند و عاملی برای رفع مسمومیت پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد از گلبول‌های قرمز است. کمبود G۶PD می‌تواند موجب همولیز حاد در افرادی که در معرض استرس‌های گوناگون اکسیداتیو مانند عفونت‌ها، داروها و برخی مواد شیمیایی و دانه‌های باقلا (فاویسم) قرار می‌گیرند، شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع کمبود G۶PD در بخش‌های مختلف شهرستان نیشابور (شمال شرق کشور) بوده است. در تحقیق انجام شده ۵۳۷ مرد ظاهراً سالم و داوطلب در محدوده سنی ۱ روزه تا ۱۵ ساله به طور تصادفی از بخش‌های مختلف نیشابور (متناسب با جهت هر بخش) انتخاب شدند و روش غربالگری برای جست‌وجوی کمبود G۶PD بر اساس مواد فلوروسنت بوده است. در این مطالعه میزان شیوع کمبود G۶PD ۲۲/۸٪ به دست آمد که حدود ۶٪ دچار کمبود شدید و ۱۶/۸٪ دچار کمبود متوسط بودند. بر اساس نتایج به دست آمده میزان شیوع در نیشابور نسبت به شهرهای دیگر ایران که تاکنون گزارش شده، یعنی از مقدار کم (۱٪) در ماکو (شمال غرب ایران) تا مقدار زیاد (۲۰٪) در ایرانشهر (جنوب شرق ایران) بیش‌تر است بنابراین کمبود G۶PD در شرق ایران شایع‌تر از غرب ایران می‌باشد. با انجام دادن آزمون کای دو در این تحقیق هیچ ارتباط معنی‌داری بین میزان شیوع کمبود G۶PD با بخش‌های مورد مطالعه ( $P=0/۲۶۶$ ) یا گروه‌های سنی مورد بررسی ( $P=0/۳۵۰$ ) به دست نیامد.

\*جمشید مهرزاد I

علیرضا متولی زاده کاخکی II

کلیدواژه‌ها: ۱- گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز (G۶PD) ۲- کمبود G۶PD

۳- همولیز حاد ۴- فاویسم

## مقدمه

دارد. (۱) NADPH در بافت‌ها جهت واکنش‌های بیوسنتزی اسیدهای چرب، کلاسترول، اجسام کتون و چندین واکنش مهم دیگر ضروری است. (۲) در گلبول‌های قرمز گلوکوتاتیون پراکسیداز سبب از بین رفتن پراکسید هیدروژن می‌شود و

گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز یا G۶PD (D-گلوکز-۶-فسفات: NADP اکسیدوردوکتاز، EC1.1.1.49) آنزیم کلیدی و محدود کننده سرعت در مسیر هگزوز مونوفسفات (HMP) است که در تولید NADPH در این مسیر دخالت

این مطالعه تحت حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور انجام شده است.

(I) کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور. (\*مؤلف مسئول)

(II) کارشناس ارشد شیمی‌آلی، دانش‌جوی دوره دکترای شیمی‌آلی، مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور.

شیوع این کمبود آنزیمی در نیشابور مطالعه‌ای را انجام دهیم.

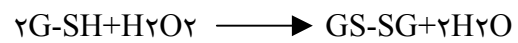
ذکر این نکته لازم است که بررسی میزان شیوع کمبود G<sub>6</sub>PD در مناطق مختلف کشور از حدود ۱۰ سال پیش یکی از اولویتهای تحقیقاتی وزارت بهداشت و درمان بوده و این تحقیق نیز در همین راستا صورت گرفته است تا در آینده بر مبنای نتایج آن و نتایج پروژه‌های انجام شده در مناطق دیگر کشور برنامه‌ریزی‌های مناسبی انجام گردد.

### روش بررسی

این مطالعه که از نوع آزمایشگاهی، توصیفی و تحلیلی بود، در سطح شهرستان نیشابور به صورت غربالگری انجام شد. با توجه به این که کمبود G<sub>6</sub>PD وابسته به کروموزوم X است و تشخیص آن در افراد هتروزیگوت (اغلب زنان) محدودیت‌های علمی و عملی دارد، این تحقیق روی افراد هموزیگوت (مردان) صورت گرفت. در پژوهش حاضر از ۵۳۷ فرد مذکر در محدوده سنی ۱ روزه تا ۱۵ ساله از بخش‌های مختلف جغرافیایی شهرستان نیشابور خون سیاهرگی گرفته شد. نمونه‌گیری به صورت چند مرحله‌ای (Sampling Multi Stage) بود و از هر فرد مورد مطالعه در ۶ ماه اول سال ۱۳۸۱، میزان ۱ میلی‌لیتر خون سیاهرگی گرفته شد و به لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA وارد گردید سپس بلافاصله در ظرف‌های محتوی یخ به آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور منتقل شد و آزمایش‌های لازم در همان زمان صورت گرفت. آزمایش‌های متعددی از جمله آزمایش‌های غربالگری زیادی جهت ارزیابی G<sub>6</sub>PD ارائه شده‌اند که به طور عمده در سوبسترای مصرفی با یکدیگر متفاوت هستند.

یکی از آزمایش‌های معروف و مهم که اکنون در اغلب آزمایشگاه‌ها و توسط محققان مورد استفاده قرار می‌گیرد آزمایش غربالگری جست‌وجوی کمبود G<sub>6</sub>PD براساس مواد فلورسنت است<sup>(۱۸)</sup> که با توجه به این مطلب در تحقیق حاضر از روش فلورسنت لکه‌ای (Spot Test) استفاده شد.

گلوکاتیون احیا شده (G-SH) به عنوان سوبسترای این آنزیم عمل کرده و به گلوکاتیون اکسید شده تبدیل می‌گردد.



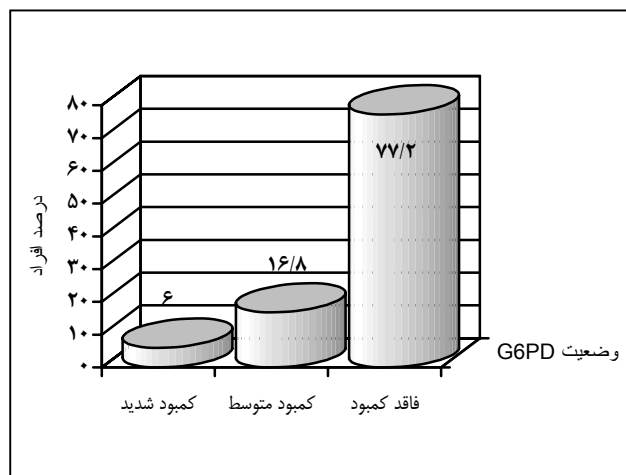
NADPH جهت احیای مجدد گلوکاتیون اکسید شده و گروه‌های سولفیدریل، مورد نیاز است. نتیجه این واکنش و تولید NADPH در مسیر HMP در گلوبول‌های قرمز محافظت سلول‌ها در مقابل استرس‌های اکسیداتیو می‌باشد.<sup>(۳)</sup> کمبود G<sub>6</sub>PD منحصر به فردی از کمبود آنزیمی مادرزادی و وابسته به کروموزوم X است که می‌تواند در افراد هموزیگوت زمانی که در معرض استرس‌های گوناگون اکسیداتیو مانند عفونت‌ها، برخی داروها و مواد شیمیایی و دانه‌های باقلا (فاویسم) قرار می‌گیرد موجب همولیز حاد گردد.<sup>(۹-۴)</sup>

کمبود G<sub>6</sub>PD شایع‌ترین ناهنجاری آنزیمی است و حدود چهارصد میلیون نفر از مردم جهان به آن مبتلا هستند و اغلب در خاورمیانه، آفریقا، کشورهای مجاور مدیترانه و افراد آفریقایی - آمریکایی دیده می‌شود.<sup>(۱۰ و ۴، ۱)</sup> شیوع آن در قوم‌ها و نواحی مختلف جغرافیایی دنیا با یکدیگر متفاوت است به طوری که شیوع آن در کردهای یهودی حدود ۷۰٪ و در ۱/۲۰۰/۰۰۰ پسر یونانی مطالعه شده ۴/۵٪ بوده است.<sup>(۱۱ و ۱۲)</sup> اکنون در جهان، بررسی‌ها از مرحله تعیین میزان شیوع G<sub>6</sub>PD فراتر رفته و اغلب محققان در مورد نوع موتاسیون‌ها یا ارتباط کمبود G<sub>6</sub>PD با سایر بیماری‌ها یا تأثیر داروها و مواد شیمیایی بر افراد مبتلا به این کمبود یا چندین جنبه دیگر به مطالعه می‌پردازند اما کمبود G<sub>6</sub>PD در کشورها هنوز به طور جامع از نظر میزان شیوع در استان‌ها و شهرستان‌ها و قوم‌های مختلف و نیز از نظر نوع موتاسیون‌ها یا جنبه‌های دیگر مورد بررسی قرار نگرفته است و تنها چند مطالعه محدود انجام شده است.<sup>(۱۳-۱۷)</sup> بنابراین در این تحقیق ما بر آن شدیم تا با توجه به امکانات موجود حداقل از نظر میزان

معادل با ۵۰٪ آنزیم در نظر گرفته شد و در تمام مراحل آزمایش همراه با شاهد‌های مثبت و منفی مورد استفاده قرار گرفت. روش آماری مورد استفاده در این مطالعه کای‌دو پی‌رسون (۲-Chi) بود. نمودار و جدول‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تنظیم شد.

### نتایج

در این تحقیق از ۵۳۷ فرد مذکر مورد بررسی ۶٪ دچار کمبود شدید G۶PD در گلبول‌های قرمز و ۱۶/۸٪ دچار کمبود متوسط بودند بنابراین در کل در ۲۲/۸٪ موارد کمبود وجود داشت و در ۷۷/۲٪ موارد افراد سالم بودند (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱- نمودار درصد افراد مورد مطالعه از نظر وضعیت

مقدار G۶PD گلبول‌های قرمز در کل نمونه مورد بررسی شهرستان نیشابور (۱۳۸۱)

اطلاعات مربوط به افراد مورد مطالعه از نظر تعداد و درصد افراد دچار کمبود شدید، کمبود متوسط و فاقد کمبود در بخش‌های مختلف شهرستان نیشابور در جدول شماره ۱ آورده شده است. جدول شماره ۲ نشان دهنده اطلاعات مربوط به گروه‌های سنی مورد بررسی می‌باشد. در بررسی‌های آماری انجام شده روی نتایج این تحقیق، مشخص شد که هیچ‌گونه ارتباط آماری معنی‌داری بین درصد شیوع کمبود G۶PD (شدید یا متوسط) با بخش‌های

در این آزمایش از آن‌جا که بر خلاف NADP، مولکول‌های NADPH دارای خاصیت فلورسنت هستند، می‌توان میزان NADPH تولید شده را بعد از قرار گرفتن در مجاورت آنزیم‌های گلبول‌های قرمز تخریب شده با مقادیر مشخصی گلوکز-۶-فسفات در طول موج‌های فرابنفش اندازه‌گیری کرد. این روش غربال‌گری برای تعداد زیادی از نمونه‌های هموزیگوت مناسب است.<sup>(۱۰)</sup> آزمایش طبق دستور کار کیت خریداری شده از شرکت زیست شیمی، انجام می‌شد. بدین ترتیب که ابتدا ۱۰ میکرولیتر از خون تام حاوی ضد انعقاد EDTA در محیط تامپونی تریس اسید کلریدریک (pH=۷/۸) با معرف G۶PD مخلوط می‌گردید و پس از مدتی انکوباسیون، ۱ قطره از این مخلوط روی کاغذ واتمن شماره ۱ موجود در کیت منتقل شده و پس از خشک شدن در زیر پرتو فرابنفش (با طول موج ۳۶۵ نانومتر) بررسی می‌شد.

در این روش در صورتی که مقدار هموگلوبین یا هماتوکریت بیش از حد معمول باشد فلورسانس، قوی کاذب و اگر کمتر از حد معمول باشد فلورسانس، ضعیف کاذب مشاهده می‌شود که جهت رفع آن طبق دستور کیت عمل شد. در روش فلورسنت لکه‌ای هر گاه فعالیت G۶PD برابر یا بیشتر از ۹ واحد به گرم هموگلوبین باشد، در لکه خون قرار گرفته روی کاغذ واتمن فلورسانس قوی مشاهده می‌گردد و در مواردی که در نمونه‌ها فعالیت G۶PD کم‌تر از ۳ واحد باشد فلورسانس مشاهده نخواهد شد.

برای بالا رفتن ضریب اطمینان، همراه هر سری آزمایش، ۱ نمونه شاهد مثبت از فردی که فعالیت آنزیمی ۱۰۰٪ با فلورسانس قوی داشت (فاقد کمبود G۶PD) استفاده گردید. همچنین ۱ شاهد منفی فاقد فلورسانس (کمبود شدید G۶PD) تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفت.

جهت تهیه شاهد منفی فاقد فلورسانس، خون کامل دارای فعالیت طبیعی G۶PD، در لوله سر بسته در ۵۶ درجه سانتی‌گراد در داخل بن‌ماری به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. علاوه بر ۲ شاهد ذکر شده شاهد دیگری نیز به عنوان کمبود متوسط G۶PD با مخلوط کردن حجم‌های مساوی از شاهد مثبت و منفی تهیه گردید. این نمونه دارای فعالیتی