

Comparison of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) enzyme activity and thyroid hormone levels in beta-thalassemia carriers and healthy individuals

Sahereh Rouzbehan^{1,2} , Soroosh Rezaei gorjaei¹ , Mohammad Jafar Ghasemi¹ , Sayed Mohammad Shafiee^{2,3} 

1. Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

2. Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

3. Autophagy Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Corresponding author: Sayed Mohammad Shafiee, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. e-mail: shafieem@sums.ac.ir

Received: 14 January 2025

Revised: 10 May 2025

Accepted: 17 May 2025

Abstract

Background & Aim: Thyroid hormones are affected by oxidative conditions and the functional status of follicular cells. It has been suggested that decreased G6PD activity in individuals with beta-thalassemia may increase oxidative stress and cause thyroid dysfunction. Therefore, this study aimed to compare erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) enzyme activity and thyroid hormone levels (TSH and free T4) in beta-thalassemia carriers (beta-thalassemia minor) and healthy individuals.

Methods: This study was conducted on blood samples from 120 participants (some with beta-thalassemia minor and some healthy controls) who were referred to Dastgheib Hospital in Shiraz City. Thyroid hormones (TSH and FT4) and G6PD enzyme activity were measured. Data were analyzed using SPSS version 26, employing the Mann–Whitney and Chi-square statistical tests.

Results: The frequency of G6PD enzyme deficiency was the same in both groups (five individuals each), and Fisher's exact test showed no statistically significant difference between the groups ($p = 1$). The mean $\pm$ SD of FT4 levels in the control group was 1.00 ± 0.26 ng/dL, and in the beta-thalassemia minor group, it was 1.19 ± 0.83 ng/dL. The Mann–Whitney test showed no statistically significant difference ($p = 0.781$). The mean $\pm$ SD of TSH levels in the control group was 3.19 ± 2.30 mIU/L, and in the beta-thalassemia minor group, 3.23 ± 2.34 mIU/L, with no significant difference between the two groups ($p = 0.823$).

Conclusion: This study showed that there is no meaningful association between thyroid hormone levels and the quality (levels) of G6PD enzyme between normal individuals and those with beta-thalassemia minor. It is recommended that this issue be investigated in other populations with different races and age groups.

Keywords:

Beta-thalassemia minor, Thyroid hormones, G6PD enzyme

How to Cite this Article: Rouzbehan S, Rezaei gorjaei S, Ghasemi MJ, Shafiee SM. Comparison of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) enzyme activity and thyroid hormone levels in beta-thalassemia carriers and healthy individuals. J Torbat Heydariyeh Univ Med Sci. 2025;13(2):54-67. DOI: 10.61882/jmsthums.13.2.56

مقایسه میزان فعالیت آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز (G6PD) اریتروسیتی و سطح هورمون‌های تیروئیدی در ناقلین تالاسمی بتا و افراد نرمال

ساهره روزبهان^۱، سروش رضایی گرجایی^۱، محمد جعفر قاسمی^۱، سید محمد شفیع^۲

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۲. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۳. مرکز تحقیقات اتوفازی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

تاریخ دریافت:

۱۴۰۳/۱۰/۲۵

تاریخ بازنگری:

۱۴۰۴/۰۲/۲۰

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۴/۰۲/۲۷

زمینه و هدف: هورمون‌های تیروئیدی تحت‌تأثیر وضعیت اکسیداتیو و عملکرد سلول‌های فولیکولی قرار دارند. از طرفی به نظر می‌رسد کاهش فعالیت G6PD در افراد مبتلا به تالاسمی بتا می‌تواند منجر به افزایش آسیب اکسیداتیو و اختلالات تیروئیدی شود، بنابراین در این مطالعه به بررسی میزان فعالیت آنزیم G6PD و سطح هورمون‌های TSH و T4 آزاد در ناقلین تالاسمی بتا پرداخته شده است.

روش‌ها: در این مطالعه، بر روی نمونه خون ۱۲۰ نفر (نیمی ناقل تالاسمی بتا و نیمی افراد نرمال) مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید دستغیب شیراز سنجش هورمون‌های TSH و T4 آزاد (FT4) و فعالیت آنزیم G6PD صورت گرفت. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS21 و تست‌های آماری من‌ویتنی و کای‌اسکوئر انجام شد.

نتایج: در این مطالعه، فراوانی کمبود آنزیم G6PD در هر دو گروه یکسان و برابر با ۵ نفر بود و آزمون دقیق فیشر نشان داد که از نظر آماری تفاوت معناداری بین دو گروه وجود ندارد ($p=1$). میانگین و انحراف معیار سطح FT4 در گروه کنترل برابر با 0.26 ± 0.10 (ng/dL) و در گروه مبتلا به بتا تالاسمی مینور برابر با 0.83 ± 0.19 (ng/dL) بود. با استفاده از آزمون ناپارامتریک من-ویتنی، تفاوت مشاهده شده از نظر آماری معنادار نبود ($p=0.781$). همچنین، میانگین و انحراف معیار سطح TSH در گروه کنترل 2.30 ± 3.19 (mIU/L) و در گروه مبتلا به بتا تالاسمی مینور 2.34 ± 3.23 (mIU/L) اندازه‌گیری شد. نتیجه آزمون من-ویتنی نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت آماری معنادار بین دو گروه بود ($p=0.823$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که هیچ ارتباط معنی‌داری میان سطح هورمون‌های تیروئیدی و سطح کیفی آنزیم G6PD بین افراد نرمال و مبتلا به تالاسمی مینور وجود ندارد. پیشنهاد می‌شود این موضوع در جمعیت‌های دیگر و با نژادها و گروه‌های سنی مختلف بررسی شود.

کلیدواژه‌ها:

بتا تالاسمی مینور،
هورمون تیروئیدی، آنزیم
G6PD

تمامی حقوق نشر برای
دانشگاه علوم پزشکی
تربت حیدریه محفوظ
است.

مقدمه

تالاسمی‌ها، هموگلوبینوپاتی‌ها و کمبود آنزیم گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز (G6PD) بیماری‌های هماتولوژیک ارثی هستند که گلبول‌های قرمز خون (RBCs) را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱). آنزیم G6PD کاتالیزور اولین مرحله محدود کننده سرعت مسیر پنتوز فسفات است که از گلوکز-۶-فسفات برای تبدیل نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADP) به شکل احیای آن، NADPH، استفاده می‌کند. در گلبول‌های قرمز، NADPH در جلوگیری از آسیب به ساختارهای سلولی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن بسیار مهم است. این کار را با خدمت به عنوان یک سوبسترا برای آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز انجام می‌دهد. این آنزیم می‌تواند گلوکاتایون احیا شده را برای تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و جلوگیری از آسیب به ساختارهای سلولی، به ویژه دیواره سلولی گلبول‌های قرمز خون (RBCs) استفاده کند، زیرا گلبول‌های قرمز خون پس از بالغ شدن، ظرفیت محدودی برای ترمیم دارند (۲). بیماری کمبود آنزیم G6PD شایع‌ترین بیماری آنزیمی انسانی است که بیش از ۴۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان درگیر کرده است. ژن Gd که کننده ی آنزیم G6PD است. این ژن در بازوی بلند کروموزوم X قرار دارد و در نتیجه، وراثت وابسته به X را دنبال می‌کند. کمبود G6PD ممکن است به دلیل موتاسیون‌هایی باشد که ساختار پروتئین را تغییر می‌دهند و به این ترتیب، فعالیت آن یا مقدار آنزیم تولید شده را کاهش می‌دهند. ۱۸۶ موتاسیون شناخته شده G6PD در انسان وجود دارد؛ بیشتر موتاسیون‌های نقطه‌ای بر یک نوکلئوتید تأثیر می‌گذارد. هیچ یک از الگوهای موتاسیون مشاهده شده در انسان‌ها موجب غیرفعال‌سازی کامل G6PD نمی‌شوند، زیرا این امر می‌تواند برای یک جنین در حال تکامل کشنده باشد. اگرچه اکثر بیماران در طول زندگی خود بدون علامت باقی می‌مانند، اما تظاهرات بالینی کمبود G6PD به سن آنها بستگی دارد. در نوزادان، کمبود G6PD به عنوان یک عامل خطر جدی برای ایجاد هیپربیلی روبینمی نوزادی شناخته می‌شود. نوزادان مبتلا به

کمبود G6PD دو برابر بیشتر از جمعیت عمومی در معرض ابتلا به هیپربیلی روبینمی هستند و تقریباً ۲۰٪ موارد کرنیکتروس با کمبود G6PD همراه هستند. علائم کرنیکتروس در نوزاد تازه متولد شده شامل بی حالی، خواب آلودگی شدید و توده عضلانی ضعیف است. اگرچه کمبود G6PD نادر است، اما باید در نوزادانی که در ۲۴ ساعت اول زندگی به زردی مبتلا می‌شوند، سابقه خواهر و برادر مبتلا به زردی نوزادی دارند، یا سطح بیلی روبین آنها بیشتر از مقدار نرمال است، در نظر گرفته شود. در بزرگسالان، علائم شایع و یافته‌های کمبود G6PD شامل کم خونی همولیتیک یا احتمالاً احتباس گلبول‌های قرمز خون توسط طحال است. این تظاهرات شامل رنگ پریدگی، یرقان، خستگی، طحال و ادرار تیره است (۳، ۴).

تالاسمی یکی از علل شایع کم خونی میکروسیتیک هیپوکرومیک است که از کاهش یا عدم سنتز زنجیره گلوبین هموگلوبین ناشی می‌شود. به عبارت دیگر تالاسمی یک نقص کمی در سنتز هموگلوبین است. این در تضاد با هموگلوبینوپاتی‌ها، مانند بیماری سلول داسی شکل، است که نقص ساختاری یا کیفی هموگلوبین می‌باشد.

بتا تالاسمی به یک جهش ارثی در ژن بتا گلوبین اشاره دارد که باعث کاهش زنجیره بتاگلوبین هموگلوبین می‌شود. بیشترین شیوع جهش‌های بتا تالاسمی در افراد مدیترانه‌ای، خاورمیانه و آسیایی تبار است. بیش از ۲۰۰ جهش مختلف ایجاد کننده تالاسمی در ژن بتاگلوبین شناسایی شده است که منجر به تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی گسترده این بیماری می‌شود (۵، ۶). سه طبقه بندی بتا تالاسمی بر اساس یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی آنها تعریف می‌شود. بتا تالاسمی مینور که ناقل نیز نامیده می‌شود، حالت هتروزیگوتی است که معمولاً با کم خونی خفیف بدون علامت است. هموزیگوسیتی یا هتروزیگوسیتی ترکیبی برای جهش‌های بتا تالاسمی باعث ایجاد طیف شدیدتری از کم خونی‌ها به نام‌های بتا تالاسمی اینترمدیا و بتا تالاسمی ماژور می‌شود. این دو از نظر بالینی با

عدم تحمل سرما، یبوست، خستگی و افزایش وزن ظاهر می‌شود. در مقابل، پرکاری تیروئید ناشی از افزایش عملکرد غده تیروئید به صورت کاهش وزن، عدم تحمل گرما، اسهال، لرزش ریز و ضعف عضلانی ظاهر می‌شود.

ید یک عنصر کمیاب ضروری است که در روده کوچک جذب می‌شود. این بخشی جدایی ناپذیر از T3 و T4 است. منابع ید شامل نمک سفره یددار، غذاهای دریایی، جلبک دریایی و سبزیجات است. کاهش مصرف ید می‌تواند باعث کمبود ید و کاهش سنتز هورمون تیروئید شود. کمبود ید می‌تواند باعث کرتینیسم، گواتر، میکسدم و کم کاری تیروئید شود (۱۳). ناهنجاری‌های خفیف عملکرد تیروئید در برخی از بیماران پره‌آهن مبتلا به تالاسمی توسط لاسمن و همکاران (۱۴) و فلین و همکاران (۱۵) توصیف شده است. این یافته‌ها در مطالعات بعدی، از جمله بیمارانی که به خوبی از طریق انتقال خون و شلاته کردن آهن مدیریت شده بودند، اثبات شده است (۱۶). گراندی و همکاران دو نوجوان را با کاهش متوسط سطح تیروکسین پلاسما و افزایش قابل توجه هورمون محرک تیروئید توصیف کردند که هر دو دارای علائم بالینی کم کاری تیروئید بودند (۱۷).

در مغز، هورمون‌های تیروئید بر فعالیت آنزیم‌هایی مانند مالات دهیدروژناز و هگزوکیناز تأثیر می‌گذارند (۱۸). در این اندام، مسیر پنتوز فسفات بخش مهمی از مسیرهای متعدد متابولیسم گلوکز را به اشتراک می‌گذارد (۱۹). تحقیقات نشان داده‌اند که تغییرات در فعالیت‌های G6PD در نواحی مغز ممکن است از طریق تأثیر متفاوت هورمون تیروئید بر روی این مناطق ایجاد شود (۲۰). رابطه بین عملکرد تیروئید و متابولیسم اکسیداتیو پیچیده و درک نشده است. مدت‌هاست که مشخص شده است که در داخل سلول‌های فولیکولی تیروئید، بیوسنتز هورمون‌های T3 و T4 نیاز به یک مجموعه‌ای از واکنش‌های ردوکس که دارای گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به عنوان محصولات جانبی هستند، دارد. این واکنش‌های اکسیداسیون - احیا نیاز به در دسترس بودن مقدار کافی پراکسید هیدروژن

وابستگی به انتقال خون متمایز می‌شوند. بتا تالاسمی ماژور نیاز به تزریق خون معمولی دارد و اینترمدیا نیازی به تزریق خون ندارد. بتا تالاسمی یک اختلال ارثی ناشی از جهش‌های مختلف (بیش از ۲۰۰ جهش عامل بیماری شناسایی شده است) یا به ندرت حذف ژن بتاگلوبین (HbB) در کروموزوم ۱۱ است. این جهش‌ها عمدتاً جهش‌های نقطه‌ای هستند که بر کنترل رونویسی، ترجمه و ویرایش پس از رونویسی از ژن HbB و محصول ژن تأثیر می‌گذارند (۷). فراوانی کمبود G6PD همراه با تالاسمی در شمال تایلند با فرکانس ۹,۰۲٪ توسط Pornprasert و همکاران گزارش شده است (۸).

بر اساس مطالعات پیشین سه نوع بتا تالاسمی شرح داده شده است: بتا تالاسمی ماژور، که در آن تزریق خون به طور منظم در تمام طول عمر مورد نیاز است، اینترمدیا و مینور (۹). علاوه بر این، بسته به نیاز به تزریق خون، بتا تالاسمی به دو نوع وابسته به تزریق خون (TDT) Transfusion-dependent یا غیر وابسته به تزریق خون (Non-transfusion-dependent) (NTDT) طبقه‌بندی می‌شود.

اختلال عملکرد تیروئید در افراد TDT گزارش شده و شامل کم‌کاری تیروئید اولیه، تحت بالینی و ثانویه است (۱۰). هورمون‌های تیروئیدی انواع واکنش‌های بیوشیمیایی را تقریباً در تمام بافت‌ها تنظیم می‌کنند. این هورمون‌ها به عنوان عوامل مهم در تنظیم ژن در بافت‌هایی مانند مغز، کبد، ماهیچه‌ها و بافت چربی شناخته می‌شوند (۱۱، ۱۲). غده تیروئید، غده هیپوفیز قدامی و هیپوتالاموس یک مدار خودتنظیمی به نام محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید را تشکیل می‌دهند. هورمون‌های اصلی تولید شده توسط غده تیروئید تیروکسین یا تترایدوتیرونین (T4) و تری‌یدوتیرونین (T3) هستند. هورمون آزاد کننده تیروتروپین (TRH) از هیپوتالاموس، هورمون محرک تیروئید (TSH) از غده هیپوفیز قدامی، و T4 در هماهنگی همزمان برای حفظ مکانیسم‌های بازخورد مناسب و هموستاز کار می‌کنند. کم کاری تیروئید که در اثر کم کاری غده تیروئید ایجاد می‌شود، معمولاً به صورت برادی کاردی،

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه مقطعی و مورد شاهده می باشد. از ۱۲۰ نفر مراجعه کننده به بیمارستان شهید دستغیب شیراز در طول یک سال شمسی شامل ۶۰ مرد و ۶۰ زن بین ۲۰ تا ۴۰ ساله که نیمی از هر گروه افراد ناقل تالاسمی بتا و نیمی دیگر نیز افراد نرمال از نظر تالاسمی بودند، جهت بررسی از نظر هورمون‌های T4 آزاد، TSH و G6PD ۳ تا ۵ سی سی نمونه خون تهیه شد. سپس به مدت ۳ دقیقه با دور ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد تا سرم از نمونه جدا گردد (۲۵). جهت غربالگری سطح کیفی G6PD از روش fluorescent spot test (FST) و جهت بررسی هورمون‌های تیروئیدی از روش ایمونوکی لومینسانس استفاده شد و جهت تعیین بتا تالاسمی مینور از بررسی CBC و الکتروفورز هموگلوبین افراد استفاده شد. در نهایت داده ها با کمک نرم افزار SPSS 21 و تست های آماری من ویتنی و کای اسکور مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

حجم نمونه در این مطالعه با در نظر گرفتن $t=1.96$ و $d=0.05$ و هم چنین طبق مطالعه متاآنالیز انجام شده در ایران (۲۶) نیز $p=0.067$ در نظر گرفته شده است. که با توجه به فرمول زیر حجم مورد نیاز ۹۶ نفر محاسبه شد که در نهایت ۱۲۰ نفر به مطالعه وارد شدند.

$$n=(t)^2/(d)^2 \times (p) \times (q)$$

معیار های ورود به مطالعه شامل رضایت کامل و آگاهی افراد در حد مورد نیاز از چگونگی روند مطالعه و داشتن سن ۲۰ الی ۴۰ سال بود. معیار های خروج از مطالعه شامل هرگونه بیماری خاص خونی، متابولیک، نارسایی اندام ها و هر گونه عدم رضایت افراد مورد مطالعه در شرکت در پژوهش و داشتن سن خارج از محدوده ی ۲۰ تا ۴۰ سال بود.

آنالیز کیفی جهت غربالگری G6PD. غربالگری G6PD با استفاده از روش FST انجام شد (۲۷). برای این منظور از کیت تجاری FST (مربوط به شرکت کیمیا پژوهان، تهران)، استفاده شد.

(H₂O₂) دارد که خود یک ROS است. H₂O₂ در غشای آپیکال تیروسیست ها تولید می شود (۲۱). اخیراً تحقیقات در مورد محل دقیق تولید ROS در غده تیروئید منجر به شناسایی آنزیم های اکسیداز دوگانه (DUOX1 و 2) شده است این آنزیم ها که متعلق به خانواده نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) اکسیداز (NOX) هستند، به NADPH به عنوان دهنده الکترون نیاز دارند. تولید مداوم H₂O₂، ضروری برای بیوسنتز هورمون، تیروسیست ها را به شدت در برابر استرس اکسیداتیو آسیب پذیر می کند و به تعادل ظریف بین تولید بیش از حد ROS و دفاع آنتی اکسیدانی نیاز دارد. هنگامی که مقدار ROS تولید شده از ظرفیت مهار سیستم های آنتی اکسیدانی فولیکولی بیشتر شود، سلول ها ممکن است در معرض اثرات مضر ROS قرار گیرند. جالب توجه است که مطالعات انجام شده در مدل های حیوانی و انسان تولید بیش از حد ROS را در شروع برخی از بیماری های خودایمنی تیروئید (AITDs) دخیل دانسته اند (۲۲). در میان مسیرهای متابولیکی اصلی که فولیکول های تیروئید را قادر می سازد تا با استرس اکسیداتیو مقابله کنند، آنزیم هایی وجود دارند که میزان بالای گلوکاتایون کاهش یافته درون سلولی (GSH) را تضمین می کنند. شواهد حاصل از مطالعات تجربی در جوندگان نشان می دهد که کاهش گلوکاتایون ممکن است منجر به اختلال عملکرد تیروئید شود (۲۳).

G6PD یکی از مهم ترین آنزیم هایی است که با حفظ سطوح بالای GSH درون سلولی، دفاع آنتی اکسیدانی کارآمدی ایجاد می کند (۲۴). با توجه به اینکه بررسی همزمان فعالیت آنزیم G6PD و سطوح هورمون های تیروئیدی در بیماران تالاسمی بتا می تواند به شناسایی نقش استرس اکسیداتیو در بروز اختلالات تیروئیدی کمک کند و باعث بهبود پایش بالینی و برنامه ریزی درمانی دقیق تری در این جمعیت شود این مطالعه با هدف ارزیابی ارتباط احتمالی بین موارد گفته شده صورت گرفت.

تولید شده مستقیماً با مقدار هورمون موجود در نمونه متناسب است. یک دتکتور نوری شدت نور تولید شده را اندازه‌گیری می‌کند. این سیگنال نوری به داده‌های عددی تبدیل شده و غلظت هورمون بر اساس منحنی استاندارد محاسبه می‌شود (۲۹). جهت تایید بتا تالاسمی مینور از بررسی CBC و الکتروفورز هموگلوبین افراد استفاده شد.

ابزار تجزیه تحلیل و آزمون‌های آماری: بعد از گردآوری پرسشنامه‌ها، داده‌ها وارد نرم افزار آماری SPSS شده و به آنالیز آماری متغیرهای پرداخته شد و مورد مقایسه قرار گرفتند. در این مطالعه p value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد. آزمون سنجش فرض نرمالیتی داده‌ها بر اساس دو نوع آزمون کلموگروف اسمیرنوف و شاپیروویک صورت گرفت.

نتایج

بر اساس آزمون کلموگروف اسمیرنوف و شاپیروویک فرض نرمالیتی رد شده و در ادامه از آزمون ناپارامتریک من ویتنی^۱ که به منظور مقایسه مقادیر میانگین FT4 و TSH بین دو گروه نرمال و تالاسمی مینور استفاده شد. (جدول ۱)

نتایج آزمون من ویتنی بر اساس مقادیر P-value گزارش شده، نشان می‌دهد که اختلاف معناداری بین دو گروه از لحاظ متغیرهای FT4 و TSH وجود ندارد. مقادیر P-value برای FT4 برابر با ۰,۷۸۱ و برای متغیر TSH برابر با ۰,۸۲۳ می‌باشد که با توجه به این که این مقادیر بزرگتر از ۰,۰۵ می‌باشد، فرض صفر آزمون که فرض برابری میانگین‌ها می‌باشد، رد می‌شود. (جدول ۲)

هم چنین برای بررسی ارتباط میان متغیر سطح کیفی آنزیم G6PD در دو گروه نرمال و افراد تالاسمی مینور بتا از آزمون کای اسکوتر استفاده شده است که جدول ۴ توزیع فراوانی متغیر سطح کیفی آنزیم G6PD در هر گروه را نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج آزمون کای اسکوتر و با توجه به مقدار P-value برای گروه‌های مورد مطالعه، میان متغیر سطح کیفی

به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر نمونه خون به ۲۰۰ میکرولیتر معرف غربالگری G6PD که بلافاصله قبل از استفاده تهیه شده بود، منتقل شد. سپس واکنش‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در تاریکی به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول واکنش داده بر روی کاغذ صافی واتمن منتقل شده و سپس در هوا خشک شد و تحت نور UV مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های افراد دارای کمبود G6PD در مقایسه با نمونه فاقد فلورسانس یا فلورسانس کاهش یافته بود. تست نقطه فلورسنت دارای ۱۰۰٪ حساسیت و ۹۸,۰٪ ویژگی می‌باشد (۲۸). علاوه بر این، در سال ۱۹۷۹، توسط کمیته بین‌المللی استاندارد سازی در هماتولوژی به عنوان قابل قبول‌ترین و قابل اعتمادترین تست غربالگری برای کمبود G6PD توصیه شده است (۲۷).

اندازه‌گیری کمی TSH و FT4: نمونه‌ها با روش الکتروکمی لومینسانس با استفاده از دستگاه کوباس و کیت‌های Elecsys جهت سنجش هورمون‌های تیروئید مورد آنالیز قرار گرفتند. روش الکتروکمی لومینسانس ترکیبی از الکتروشیمی و لومینسانس است. مراحل به این صورت است که در ابتدا، آنتی‌بادی‌هایی که برای شناسایی هورمون مورد نظر طراحی شده‌اند، به ذرات مغناطیسی پوشیده‌شده از استرپتاویدین متصل شده‌اند، نمونه بیمار (حاوی هورمون) به این آنتی‌بادی‌ها افزوده شده و اتصال آنتی‌ژن-آنتی‌بادی رخ می‌دهد. مرحله بعد اضافه شدن کونژوگه دارای نشانگر لومینسانس است که یک آنتی‌بادی دوم که به ترکیب شیمیایی حاوی روتنیم (Ruthenium) متصل است، اضافه می‌شود؛ این آنتی‌بادی دوم به محلول اضافه شده و کمپلکس سه‌گانه‌ای (هورمون-آنتی‌بادی اولیه-آنتی‌بادی نشان‌دار) تشکیل می‌دهد. در مرحله بعد پس از شستشو برای حذف مواد اضافی، ذرات مغناطیسی به الکتروود منتقل می‌شوند. الکتروود نقش مهمی در تحریک فرآیند الکتروکمی لومینسانس ایفا می‌کند. در پایان با اعمال ولتاژ به الکتروود، ترکیب روتنیم و تریپروپیل‌آمین (TPA) به حالت تحریک شده می‌رود و نور تولید می‌شود. شدت نور

¹ Mann-Whitney

مینیم ، ماکزیم، میانگین و انحراف از معیار متغیر های FT4 و TSH را به تفکیک دو گروه نشان داده شده است، همانطور که در جدول ۵ آورده شده است، در بین افراد ناقل تالاسمی بتا میانگین سطح هورمون T4 آزاد برابر 0.83 ± 1.18 و میانگین سطح هورمون TSH برابر 2.43 ± 2.22 بود که هر دو هورمون در محدوده ی نرمال قرار میگیرد و همچنین در افراد نرمال از نظر بتا تالاسمی سطح هورمون T4 آزاد حدود 0.99 ± 0.26 و میانگین سطح هورمون TSH حدود $3.2 \pm 1.9/3.0$ بود که هر دو هورمون در این گروه در محدوده ی نرمال قرار میگیرد.

آنزیم G6PD در دو گروه نرمال و افراد تالاسمی مینور بتا ارتباط آماری معناداری وجود نداشت. ($p\text{-value} = 1$) جدول ۳ توزیع فراوانی سطح کیفی آنزیم G6PD را به صورت کلی نشان می دهد، همانطور که در جدول آورده شده است، در بین افرادی که ناقل بتا تالاسمی بودند، $8/3\%$ کمبود فعالیت آنزیم G6PD را داشتند و $91/7\%$ از این نظر نرمال بودند. و این فراوانی با افراد سالم از نظر بتا تالاسمی مشابه بود. در شکل ۱ مقادیر مینیم ، ماکزیم، میانگین و انحراف از معیار متغیر های FT4 و TSH به طور کلی نشان داده شده است. قابل ذکر است دامنه نرمال TSH برابر $0.1-3.5$ mIU/L و دامنه نرمال FT4 برابر $1.48-0.7$ ng/dl می باشد. در شکل ۲ مقادیر

جدول ۱. نتایج آزمون بررسی نرمال بودن داده ها

آزمون کلموگروف اسمیرنف			شاپیروویک			گروه ها	
Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	T4 آزاد	نرمال
0.163	60	0.001	0.912	60	0.001	TSH	
0.360	60	0.001	0.531	60	0.001	T4 آزاد	تالاسمی مینور
0.109	60	0.072	0.935	60	0.003	TSH	
0.136	60	0.001	0.929	60	0.002		

جدول ۲. نتایج آزمون من ویتنی

TSH	T4 آزاد	آزمون
1707/500	1747/500	من ویتنی
3577/500	3585/500	ویلکوسون
0.823	0.781	معناداری آسیمپتوتیک (دو طرفه)

جدول ۳. توزیع فراوانی سطح کیفی آنزیم G6PD در افراد مبتلا به بتا تالاسمی و افراد نرمال

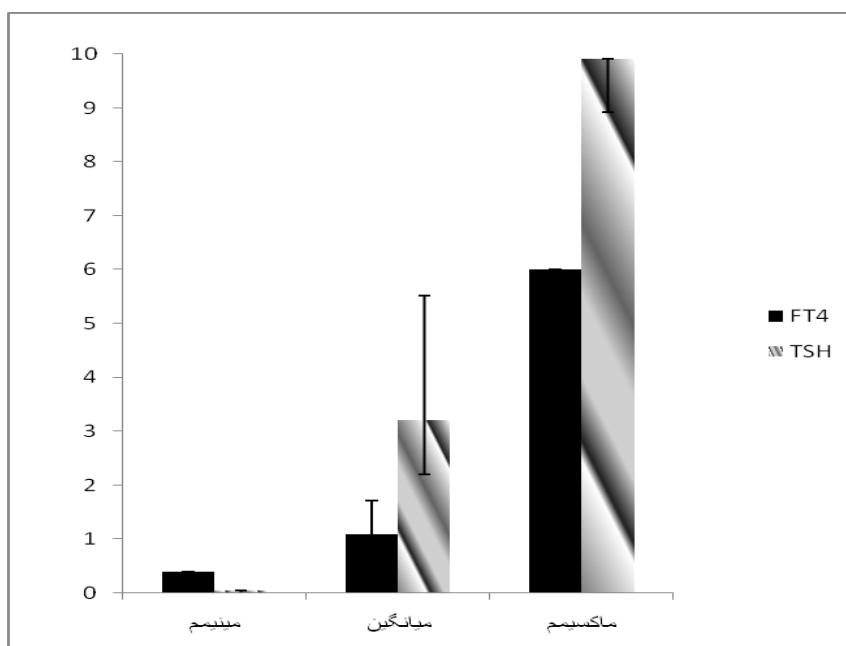
وضعیت تالاسمی	وضعیت G6PD	فراوانی	درصد فراوانی
ناقل تالاسمی بتا	کمبود	5	8.3%
	عدم کمبود	55	91.7%
نرمال	کمبود	5	8.3%
	عدم کمبود	55	91.7%

جدول ۴. توزیع فراوانی وضعیت تالاسمی در افراد دارای کمبود عملکرد آنزیم G6PD و افراد دارای فعالیت نرمال این آنزیم

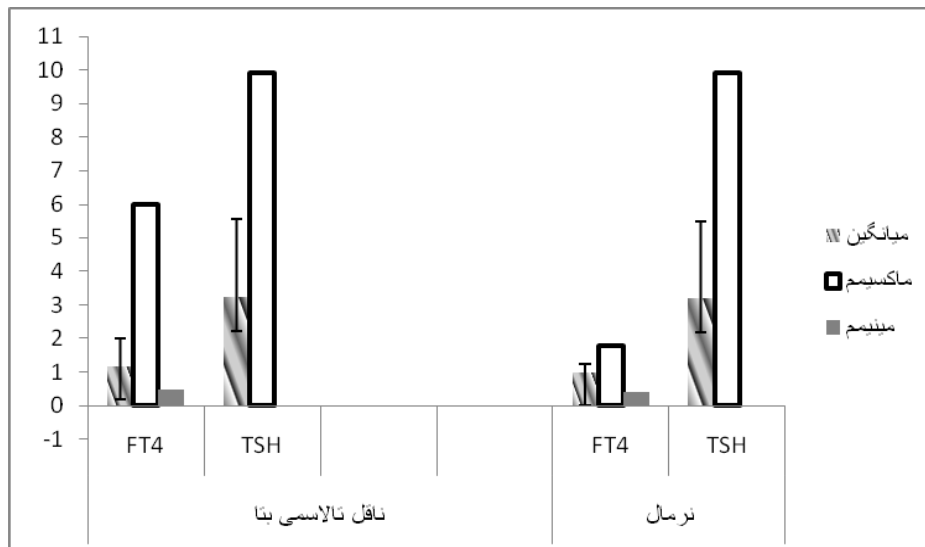
وضعیت تالاسمی		وضعیت G6PD		
نرمال	ناقل تالاسمی بتا			
۵۵	۵۵	فراوانی	نرمال	G6PD
۵۰	۵۰	درصد فراوانی در گروه		
۴۵/۸۵	۴۵/۸۵	درصد فراوانی در کل		
۵	۵	فراوانی	کمبود عملکرد	
۵۰	۵۰	درصد فراوانی در گروه		
۴/۱۵	۴/۱۵	درصد فراوانی در کل		

جدول ۵. مقادیر مینیمم، ماکزیمم، میانگین و انحراف از معیار متغیرهای T4 آزاد (ng/dl) و TSH (mIU/L) به تفکیک دو گروه

گروه‌ها	تعداد	کمترین مقدار	بیشترین مقدار	میانگین	انحراف از معیار
T4 آزاد	۶۰	۰/۴۰	۱/۸۰	۰/۹	۰/۲۶
نرمال TSH		۰/۰۰۵	۹/۹۲	۳/۱۹	۲/۳
تالاسمی مینور T4 آزاد	۶۰	۰/۵۰	۰/۶	۱/۱۸	۰/۸۳
TSH		۰/۲۰۰	۹/۹۲	۳/۲۲۸	۲/۳۴



شکل ۱. مقادیر مینیمم، ماکزیمم، میانگین و انحراف از معیار متغیرهای FT4 (ng/dl) و TSH (mIU/L)



شکل ۲. مقادیر مینیمم، ماکزیمم، میانگین و انحراف از معیار متغیرهای FT4 (ng/dl) و TSH (mIU/L) به تفکیک دو گروه

بحث

نیز نرمال شد. درمقابل میزان G6PD در بیماران هیپوتیروئید به صورت معنی داری از گروه کنترل کمتر بود که ولیکن در محدوده ی نرمال قرار داشت و همچنین مشاهده شده است که با افزایش میزان هورمون های تیروئیدی میزان فعالیت آنزیم G6PD در اریتروسیت ها نیز افزایش می یابد و بالعکس که با کاهش فعالیت هورمون های تیروئیدی میزان فعالیت آنزیم G6PD اریتروسیتی نیز کاهش یافته است (۳۰).

در مطالعه ای دیگری که بر روی رت ها انجام شد، بعد از انجام تیروئیدکتومی به صورت معنی داری میزان فعالیت G6PD در اریتروسیت ها کاهش یافت که پس از تجویز هورمونهای تیروئیدی، میزان فعالیت G6PD به حالت نرمال خود برگشت (۳۱).

در مطالعه ای دیگر جهت بررسی میزان اثر سطح هورمونهای تیروئیدی بر روی میزان فعالیت G6PD از موش های ۳۰ و ۶۰ روزه استفاده شد. این موش ها به صورت القایی با پروپیل تیوبوراسیل هیپوتیروئید شدند که طی آن میزان G6PD در موش های ۳۰ روزه در قلب، مغز و کبد تغییری نکرد در حالیکه در موش های ۶۰ روزه افزایش یافته و در کبد موش های ۶۰ روزه کاهش یافت (۳۲).

این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه ی میزان فعالیت آنزیم G6PD و سطح هورمون های TSH و FT4 در ناقلین تالاسمی بتا (تالاسمی بتا مینور) و افراد نرمال انجام گرفت، مطالعات ما نشان داد ارتباط معنی داری بین سطح فعالیت این آنزیم و دو هورمون مرتبط با غده تیروئید TSH و FT4 و بیماری تالاسمی وجود ندارد.

در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی، به ویژه نوع ماژور، استرس اکسیداتیو ناشی از تجمع آهن و همولیز مزمن می تواند عملکرد غده درون ریز از جمله تیروئید را تحت تاثیر قرار دهد. آنزیم G6PD با تولید NADPH در مسیر پنتوز فسفات، نقش مهمی در خنثی سازی رادیکال های آزاد دارد. کاهش فعالیت این آنزیم می تواند آسیب اکسیداتیو را تشدید کرده و سلول های تیروئیدی را نسبت به استرس اکسیداتیو آسیب پذیر تر کند. مطالعات نشان داده اند که اختلال در تعادل اکسیداتیو ممکن است در بروز یا تشدید کم کاری تیروئید در بیماران تالاسمی نقش داشته باشد. (۲۲)

طبق مطالعه ای در بیماران هایپر تیروئید میزان G6PD در گلبولهای قرمز به صورت معنی داری بیشتر بود که طی درمان به صورت تدریجی میزان G6PD کاهش یافته و پس از یک الی دو ماه از یوتیروئید شدن میزان G6PD گلبول های قرمز

وجود ندارد پس نتیجه گرفته شد که نیاز به بررسی بیشتر بیماریهای اتوایمیون تیروئید در بیماران بتا تالاسمی مینور وجود ندارد (۳۶).

با توجه به نتایج متناقض به دست آمده از مطالعات مختلف، شاید با در نظر گرفتن حجم نمونه بیشتر در مطالعه، بررسی طیف بیشتری از هورمون‌های مربوط به غده تیروئید و سنجش کمی فعالیت آنزیم G6PD بتوان بررسی دقیق‌تری برای اثبات وجود ارتباط بین نقص G6PD و هورمون‌های مربوط به غده تیروئید انجام داد. لذا مطالعات گسترده‌تر با حجم نمونه بیشتر جهت یافتن ارتباط دقیق پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر بین فعالیت آنزیم G6PD و هورمون‌های مربوط به غده تیروئید و بیماری تالاسمی بتا ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. مطالعات گسترده‌تری با حجم نمونه بیشتر در جهت یافتن ارتباط دقیق آنها پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

در این تحقیق ابتدا تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز برای این مطالعه در رابطه با داده‌های انسانی گرفته شد (کد اخلاق: IR.SUMS.MED.REC.1398.371) و همچنین معیارهای محرمانگی داده‌ها نیز رعایت گردید. این مقاله از پایان نامه مقطع دکترای عمومی پزشکی سروش رضائی گرجائی با کد گرنت ۱۶۹۶۷ معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شیراز استخراج گردیده است.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: همه نویسندگان
- (۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: همه نویسندگان

طبق مطالعه‌ای که در شمال هند بر روی ۱۵۰ بیمار بستری در بیمارستان به علت تالاسمی که ۱۱۸ نفر مرد و ۳۲ نفر زن بودند، مشاهده شد که میزان بروز کمبود فعالیت G6PD در بیماران بتا تالاسمی همانند جمعیت عمومی می‌باشد ولیکن همچنان پیشنهاد میشود که این بیماران از استفاده از داروها و غذاهای اکسیدان خودداری کنند (۳۳).

بیماری تالاسمی و بیماری کمبود G6PD هر دو بیماری‌های ژنتیکی هستند که می‌توانند موجب آنمی همولیتیک شوند. در مطالعه‌ای که در بیماران تالاسمی همراه با کمبود G6PD در مقایسه با بیماران تالاسمی بدون کمبود G6PD انجام شد، مشاهده شد که میزان اختلال در گلبول قرمز و همچنین میزان شدت آنمی در بیماران تالاسمی با یا بدون کمبود G6PD تفاوتی نداشتند (۸).

طی مطالعه‌ای که در شیراز جهت مقایسه اندکس‌های خونی گلبول قرمز در بیماران مبتلا به تالاسمی مینور که همزمان کمبود G6PD نیز دارند در مقایسه با بیماران مبتلا به تالاسمی مینور که از لحاظ G6PD نرمال هستند، مشاهده شد که تفاوتی بین اندکس‌ها در این دو گروه وجود ندارد؛ پس جهت غربالگری بتا تالاسمی مینور در افراد مبتلا به G6PD اقدام بیشتری نیاز نیست و از همان تست‌های معمول یعنی CBC و الکتروفورز هموگلوبین میتوان استفاده کرد (۳۴).

یکی از شایع‌ترین اختلالات اندوکراین در بیماران مبتلا به تالاسمی بتا ماژور، هیپوتیروئیدی می‌باشد که طی مطالعه انجام شده نیز این مطلب تایید شد و این شیوع بالاتر بیانگر اهمیت غربالگری هیپوتیروئیدی در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور مخصوصاً زمانی که دچار کوتاهی قد باشند را می‌رساند (۳۵). از آنجاییکه در برخی مطالعات گزارش شده است که شیوع برخی بیماری‌های اتوایمیون در بیماران بتا تالاسمی مینور بیشتر است، مطالعه طراحی شد که طی آن میزان شیوع بیماریهای اتوایمیون تیروئید در بیماران بتا تالاسمی مینور بررسی شد و مشاهده شد که تفاوتی بین شیوع بیماریهای اتوایمیون تیروئید در بیماران بتا تالاسمی مینور و افراد نرمال

(۳) تائید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: همه نویسندگان

References

- Shah SS, Stone EF, Francis RO, Karafin MS. The global role of G6PD in infection and immunity. *Frontiers in Immunology*. 2024;15:1393213. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1393213>
- Kwok MK, Leung GM, Yeung SLA, Schooling CM. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and metabolic profiling in adolescence from the Chinese birth cohort: "Children of 1997". *International Journal of Cardiology*. 2019;281:146-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2019.01.100>
- Richardson SR, O'Malley GF. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470315/>
- Luzzatto L, Bancone G, Dugué P-A, Jiang W, Minucci A, Nannelli C, et al. New WHO classification of genetic variants causing G6PD deficiency. *Bulletin of the World Health Organization*. 2024;102(8):615. <https://doi.org/10.2471/BLT.23.291224>
- Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet journal of rare diseases*. 2010;5:1-15. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-5-11>
- Evangelidis P, Venou T-M, Fani B, Vlachaki E, Gavrilaki E. Endocrinopathies in hemoglobinopathies: what is the role of iron? *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(22):16263. <https://doi.org/10.3390/ijms242216263>
- Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genetics in medicine*. 2010;12(2):61-76. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed>
- Pornprasert S, Phanthong S. Anemia in patients with coinherited thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Hemoglobin*. 2013;37(6):536-43. <https://doi.org/10.3109/03630269.2013.819558>
- Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical classification, screening and diagnosis for thalassemia. *Hematology/Oncology Clinics*. 2018;32(2):193-211. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2017.11.006>
- Venou T-M, Barmpageorgopoulou F, Peppas M, Vlachaki E. Endocrinopathies in beta thalassemia: a narrative review. *Hormones*. 2024;23(2):205-16. <https://doi.org/10.1007/s42000-023-00515-w>
- Viguerie N, Langin D. Effect of thyroid hormone on gene expression. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2003;6(4):377-81. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000078998.96795.e7>
- Shulhai A-M, Rotondo R, Petraroli M, Patianna V, Predieri B, Iughetti L, et al. The role of Nutrition on thyroid function. *Nutrients*. 2024;16(15):2496. <https://doi.org/10.3390/nu16152496>
- Núñez A, Bedregal P, Becerra C, Grob L. Neurodevelopmental assessment of patients with congenital hypothyroidism. *Revista Medica De Chile*. 2017;145(12):1579-87. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872017001201579>
- Lassman M, O'brien R, Pearson H, Wise J, Donabedian R, Felig P, et al. Endocrine evaluation in thalassemia major. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1974;232(1):226-37. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1974.tb20589.x>
- Flyn D, Fairmen A, Jackson D, Clayton B. Hormonal changes in thalassemia major. *Arch Dis Child*. 1976;57:828. <https://doi.org/10.1136/adsc.51.11.828>
- Magro S, Puzzon P, Consarino C, Galati M, Morgione S, Porcelli D, et al. Hypothyroidism in patients with thalassemia syndromes. *Acta haematologica*. 1990;84(2):72-6. <https://doi.org/10.1159/000205032>
- Grundy R, Woods K, Savage M, Evans J. Relationship of endocrinopathy to iron chelation status in young patients with thalassaemia major. *Archives of disease in childhood*. 1994;71(2):128-32. <https://doi.org/10.1136/adsc.71.2.128>
- Greengard O. Hormonal regulation of enzyme synthesis in differentiating mammalian tissues. Harvard Medical School, Boston, Mass.(USA); New England Deaconess Hospital ..., 1974. <https://doi.org/10.2172/4220794>
- Orosz F, Wágner G, Ortega F, Cascante M, Ovádi J. Glucose conversion by multiple pathways in brain extract: theoretical and experimental analysis. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;309(4):792-7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.08.072>
- Haghighi B, Mesripour A, Mesripour M. The Effects of Hypo-and Hyperthyroidism on Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Activities in Regions of Rat Brain. 2005.

<https://ibj.pasteur.ac.ir/article-1-474-en.pdf>

21. Björkman U, Ekholm R. Generation of H₂O₂ in isolated porcine thyroid follicles. *Endocrinology*. 1984;115(1):392-8.

<https://doi.org/10.1210/endo-115-1-392>

22. Dore MP, Fanciulli G, Pes GM. Is glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency a risk factor for autoimmune thyroid disease? A retrospective case-Control study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023;20(3):2709.

<https://doi.org/10.3390/ijerph20032709>

23. Moustafa SA. Effect of glutathione (GSH) depletion on the serum levels of triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), and T₃/T₄ ratio in allyl alcohol-treated male rats and possible protection with zinc. *International journal of toxicology*. 2001;20(1):15-20.

<https://doi.org/10.1080/109158101750103332>

24. Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2020;136(11):1225-40.

<https://doi.org/10.1182/blood.2019000944>

25. Farasat T, Liaqat A, Mughal T. Assessment of thyroid hormones level in premenopausal and postmenopausal females. *J App Pharm*. 2010;1(3):165-78.

<https://doi.org/10.21065/19204159.3.33>

26. Moosazadeh M, Amiresmaili M, Aliramezany M. Prevalence of G6PD deficiency in Iran, a meta-analysis. *Acta medica Iranica*. 2014;256-64.

<https://acta.tums.ac.ir/index.php/acta/article/view/4655>

27. Beutler E, Blume K, Kaplan J, Löhr G, Ramot B, Valentine W. International Committee for Standardization in Haematology: recommended screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. *British journal of haematology*. 1979;43(3):465-7.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1979.tb03774.x>

28. Kaplan M, Leiter C, Hammerman C, Rudensky B. Comparison of commercial screening tests for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in

the neonatal period. *Clinical chemistry*. 1997;43(7):1236-7.

<https://doi.org/10.1093/clinchem/43.7.1236>

29. Albuquerque KV, Miller AA, Roeske JC. Implementation of electronic checklists in an oncology medical record: initial clinical experience. *Journal of Oncology Practice*. 2011;7(4):222-6.

<https://doi.org/10.1200/JOP.2011.000237>

30. Viherkoski M, Lamberg B-A. The glucose-6-phosphate dehydrogenase activity (G-6-PD) of the red blood cells in hyperthyroidism and hypothyroidism. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1970;25(2):137-43

<https://doi.org/10.3109/00365517009049195>

31. Nehal M, Baquer N. Changes in hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in red cells during hypo and hyperthyroidism. *Biochemistry International*. 1989;19(1):193-9.

32. Yilmaz S, Ozan S, Benzer F, Canatan H. Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*. 2003;21(4):325-30.

<https://doi.org/10.1002/cbf.1031>

33. Kaur P, Brar RK, Suri AK, Kaur N. G6PD deficiency and Thalassemia: Is there any correlation? An institutional study from Northern India.

<https://doi.org/10.20936/jmrp/07/01/04>

34. Shahriari M, Khalgh Em. Effect Of G6pd Deficiency On Hematological Indices In Beta Thalassemia Minor. 2004;59-64.

35. Eshragi P, Tamaddon A, Zarifi K, Mohammadhasani A, Aminzadeh M. Thyroid function in major thalassemia patients: Is it related to height and chelation therapy? *Caspian journal of internal medicine*. 2011;2(1):189.

<http://caspijim.com/article-1-99-en.html>

36. Benli AR, Yildiz SS, Cikrikcioglu MA. An evaluation of thyroid autoimmunity in patients with beta thalassemia minor: A case-control study. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2017;33(5):1106.

<https://doi.org/10.12669/pjms.335.13210>