

به نام

پروردگار یکتا

۹۴۴۳۳



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده پزشکی مهندس افضلی پور

پایان نامه:
جهت دریافت درجه دکترای پزشکی

عنوان:

بررسی میزان کمبود آنزیم G6PD در بیماران
مبتلابه آکنه

اساتید راهنما:

سرکار خانم دکتر سیمین سریزدی
سرکار خانم دکتر سعیده فرج زاده

کتابخانه تخصصی پزشکی
موسسه تخصصی پزشکی کرمان

پژوهش و نگارش:

علی زینلی حسین آبادی

۱۳۸۶ / ۱۷ / ۲۸

زمستان ۱۳۸۵

این پایان نامه در تاریخ ۸۵/۱۲/۲۱
در دفتر اساتید راهنما
تایپ و تکثیر دانا رایانه - تلفن: ۳۳۴۳۳۴

۹۴۴۳۳

تقدیم به:

مادر عزیزم

که سبزترین مهربانی‌ها، نقره‌ای‌ترین لبخندها

و زلال‌ترین اشکهایش را نثارم کرده‌اند.

بر دستان پرمهرش بوسه می‌زنم.

تقدیم به:

خواهران و برادر مهربانم

آنان که خاطره‌های قشنگ زندگیم با آنها سپری شد.
آنان که محبتشان همیشگی است و تجلی‌گاه آرزوهایم
آینده روشن آنهاست.

با تقدیر و تشکر از:

اساتید ارجمند

سرکار خانم دکتر سعیده فرج زاده

سرکار خانم دکتر سیمین سریزدی

که در تمامی مراحل این پایان نامه صمیمانه یاریم نمودند.

با سپاس فراوان از:

سرکار خانم زهرا ایرانمنش

آقای حمیدرضا مولایی

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱.....	خلاصه فارسی
۲.....	مقدمه
۴.....	روش کار
۵.....	روش انجام آزمایش
۶.....	نتایج
۸.....	بحث
۱۰.....	نتیجه‌گیری
۱۱.....	منابع
۱۲.....	خلاصه انگلیسی

خلاصه

مقدمه: عوامل گوناگونی در پاتوژنز آکنه ولگاریس مطرح می‌باشند. اخیراً کمبود آنزیم G6PD در پاتوژنز آکنه مطرح شده است.

هدف: بررسی میزان کمبود آنزیم G6PD در بیماران مبتلا به آکنه.

روش: در ۸۲ بیمار مبتلا به آکنه با شدت‌های مختلف (۱۱ مرد و ۷۱ زن)، میزان فعالیت G6PD در خون وریدی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت G6PD از روش فلورسنت لکه‌ای استفاده گردید.

نتایج: بین شیوع کمبود G6PD و این بیماری ارتباطی دیده نشد. همچنین هیچ رابطه‌ی معنی‌داری بین سن، جنس، مکان آکنه و شدت آکنه وجود نداشت ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: توصیه می‌شود مطالعه دیگری به صورت مورد شاهدی در حجم نمونه بیشتر انجام شود.

واژه‌های کلیدی: آکنه، گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز، آنتی‌اکسیدان و فلورسنت لکه‌ای

بررسی میزان کمبود آنزیم G₆PD در بیماران مبتلا به آکنه

مقدمه: بیماری آکنه یک بیماری التهابی مزمن واحد پیلوسباسه است (۱). با تخمین تعداد ضایعات و عوارض آن از قبیل ترشح، خونریزی و درد درجه شدت بیماری به صورت خفیف، متوسط و یا شدید تعیین می‌شود. چهار عامل اصلی در پاتوژنز بیماری مطرح شده که افزایش تولید سبوم از مهمترین آنهاست. سایر عوامل شامل abnormality فلور میکروبی و شاخی شدن مجرای پیلوسباسه و ایجاد التهاب می‌باشند (۲).

G6PD آنزیم کلیدی مسیر پنتوز فسفات است. NADPH ایجادشده توسط آنزیم در محافظت تعادل اکسیدانت / آنتی‌اکسیدانت سلول نقش مهمی دارد و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۳) و NADPH باعث احیاء گلوکاتایون می‌شود و گلوکاتایون احیاءشده در همه سلولها دارای اهمیت کلیدی است. زیرا در حفظ گروه‌های سولفیدریل، پروتئین‌های مختلف و بطور کلی در پیشگیری از تخریب نقش دارد. این امر به ویژه در متابولیسم RBC (گلبول قرمز) اهمیت دارد که ناقلین فطری اکسیژن هستند و در معرض آسیب ناشی از رادیکالهای آزاد O₂ (اکسیژن) قرار دارند. رادیکالهای آزاد O₂ به آب‌اکسیژنه (H₂O₂) تبدیل می‌شوند که بسیار سمی است. سم‌زدایی H₂O₂ و تبدیل آن به H₂O (آب)، تحت تأثیر گلوکاتایون پراکسیداز می‌باشد (۳).

برای سم‌زدایی هر مولکول H₂O₂، یک مولکول گلوکاتایون احیاء شده، اکسید شده و به فرم اکسیده گلوکاتایون تبدیل می‌شود. بنابراین گلوکاتایون احیاءشده زمانی می‌تواند از عهده نقش خود برآید که بطور مداوم توسط آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز مجدداً تولید گردد (۴).

در نتیجه کمبود G6PD که مهمترین آنزیم آنتی‌اکسیدانت است، سبب ناتوانی گلبولهای قرمز در تولید گلوکاتیون احیاء شده می‌گردد. بنابراین سلول در مقابل مواد اکسیدان شدیداً آسیب‌پذیر شده و هموگلوبین درون گلبولهای قرمز رسوب می‌کند و منجر به لیزاین سلولها می‌گردد (۴).

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان تغییر یافته موجود در اریتروسیت‌ها در بیماران مبتلا به آکنه می‌تواند یک پاسخ محیطی ارگانیسم به استرس اکسیداتیو افزایش یافته باشد و این نشان‌دهنده این است که استرس اکسیداتیو (منظور G6PD) می‌تواند در پاتوژنز آکنه نقش داشته باشد (۵).

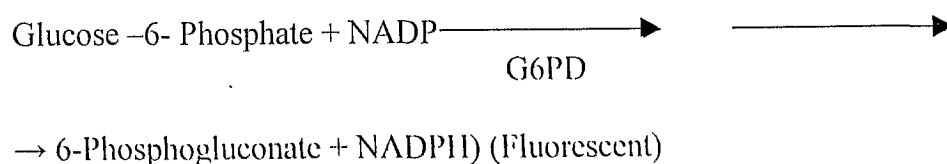
با توجه به این که درمان موفقیت‌آمیز بیماری مستلزم درک صحیح و عمیق و شناخت کامل از پاتوژنز بیماری است و از آنجایی که مطالعات کافی در مورد ارتباط آکنه با کمبود G6PD انجام نشده است، ما در این تحقیق سعی داشته‌ایم با بررسی میزان کمبود G6PD در افراد مبتلا به آکنه به درک صحیح‌تری در مورد علت بیماری برسیم که قاعدتاً می‌تواند در انتخاب درمانهای بعدی نیز راه‌گشا باشد.

روش کار

تعداد ۸۲ بیمار مبتلا به آکنه با شدت‌های مختلف وارد مطالعه شدند. در کلیه افراد بیمار نقص آنزیم G6PD در خون توسط فلورسانت لکه‌ای بررسی شد. تست فلورسانت لکه‌ای به عنوان اختصاصی‌ترین و قابل اعتمادترین روش معرفی شده است (Specificity = ۹۹٪) (۶).

نمونه خون از سیاهرگ ساعد گرفته شده و داخل لوله CBC که حاوی Ethylen Di-Amyne Tetra Acetic Acid بوده، جمع‌آوری گردید و مقدار سطح آنزیم‌های اکسیدان در اریتروسیت‌ها در ۸۲ بیمار بررسی گردید و ارتباط بین شدت و توزیع ضایعات آکنه اندازه‌گیری و سطح این آنزیم در خون بررسی شد. کیت اندازه‌گیری فعالیت G6PD به روش فلورسانت لکه‌ای از کیمیاپژوهان، مرکز تحقیق و تولید کیت‌های آزمایشگاهی ایران تهیه گردید.

آنزیم G6PD در محیط تامپونی مناسب باعث احیای NADP و تبدیل آن به NADPH می‌گردد و NADPH به وجود آمده زیر لامپ ماوراءبنفش (U.V) با طول موج ۳۶۵ نانومتر ایجاد فلورسانس می‌کند. شدت این فلورسانس در خون افراد سالم زیاد و در خون بیماران مبتلا به نقص آنزیم G6PD کم و یا منفی است.



نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS11.5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از تست های آماری Chi-Square (مربع کای) و درجه اطمینان ۹۵ درصد و خطای ۰/۰۵ جهت مقایسه نتایج با متغیرهای مربوطه استفاده شد.

روش انجام آزمایش

ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محلول همولیزات کیت را با ۲۰ میکرولیتر خون تام مخلوط کرده و ۱۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار می دهیم. سپس از همولیزات تهیه شده با سمپلر ۲۰ میکرولیتری یک قطره از نمونه خون را روی کاغذ صافی موجود در کیت چکانیده و صبر می کنیم که به خودی خود کاملاً خشک شود. سپس لکه خشک شده را زیر لامپ فلئورسنت بررسی می نمایند.

نتایج آزمایش به صورت زیر می باشد:

فعالیت آنزیمی	بازتاب نوری
کافی (Sufficient)	فلوئورسانس قوی
ضعیف نسبی (Partially deficient)	فلوئورسانس ضعیف
بسیار ضعیف (Severely deficient)	فلوئورسانس منفی

نتایج

در این مطالعه ۸۲ بیمار مبتلا به آکنه خفیف، متوسط و شدید (۱۱ نفر مرد و ۷۱ نفر زن) با میانگین سنی 25 ± 3 مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه سنی بیماران ۱۶ تا ۵۱ سال بوده و محل ضایعات آکنه در بیماران متغیر و روی صورت، پشت، بازو و ساعد پراکنده بود. بیشترین محل ابتلا به آکنه صورت و کمترین محل پشت بوده است. در این مطالعه بیشترین گروه سنی دارای ضایعات آکنه افراد ۱۹ ساله بودند که تمام نتایج آزمایشگاهی آنها نرمال بود.

از ۸۲ بیمار ۷۷ نفر دارای نتایج آزمایشگاهی طبیعی (۱۰ مرد و ۶۷ زن) و ۴ نفر (زن) Sub deficient و ۱ نفر (مرد) deficient بوده است. در مطالعه انجام شده بر روی نوزادان متولد شده در بیمارستان بنت‌الهدی شهر بوشهر که در مجله بیماریهای کودکان ایران در سال ۱۳۸۲ چاپ گردید، مشخص شد که شیوع کمبود این آنزیم ۵/۷ درصد بوده است (۷) که در سایر نقاط کشور نیز میزان شیوع تفاوت معنی‌داری با این میزان ندارد، بر این مبنا تفاوت معنی‌داری بین G6PD deficiency در افراد گروه بیمار با جمعیت نرمال دیده نشد (۷).

هیچ ارتباط معنی‌داری بین سن و مکان ضایعه وجود نداشت ($P=0/715$) و هیچ ارتباط معنی‌داری بین سن و شدت ضایعه ($P=0/320$) و سن و نتایج آزمایشگاهی ($P=0/090$) پیدا نشد. همچنین هیچ ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و شدت ضایعه ($P=0/234$) و بین جنسیت و مکان ضایعه ($P=0/325$) وجود نداشت.

جدول ۱- نتایج آزمایش G6PD در افراد مورد مطالعه

نتیجه آزمایش			
تعداد کل	ضعیف شدید	ضعیف نسبی	طبیعی
۸۲	۱	۴	۷۷

جدول ۲- پراکندگی جنسیت و شدت ضایعه در افراد مورد مطالعه

تعداد کل	شدت ضایعه			جنس
	شدید	متوسط	خفیف	
۱۱	۴	۷	۰	مرد
۷۱	۱۷	۴۸	۶	زن
۸۲	۲۱	۵۵	۶	تعداد کل

بحث

رادیکال‌های آزاد اکسیژن مولکول‌های سمی هستند و نقش حساسی را در اکثر بیماری‌های التهابی پوستی بازی می‌کنند (۸). پروپیونی باکتریوم آکنه باعث رهایی برخی فاکتورهای شیمیوتاکتیک و در نتیجه تجمع نوتروفیل‌ها می‌گردد. سلول‌های اپی‌تلیال فولیکولر بعد از رهایی برخی از فاکتورهای التهابی مانند آنزیم‌های لیزوزیم و در نتیجه عمل فاگوسیتوز آسیب می‌بینند (۸).

رادیکال‌های آزاد اکسیژن از نوتروفیل‌های فعال در بافت التهابی رها می‌شوند. این اکسیدانت‌ها به DNA یا لیپیدهای غشایی حمله کرده و به بافتهای سالم آسیب می‌رسانند. Squalene که خاص Sebum انسانی است، سطح پوست را از پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می‌کند، در حالیکه تولیدات پراکسیداسیون لیپیدی منجر به اثرات Comedogenic می‌شوند و باعث بازشدن یا بسته‌شدن Comedone در غلظت‌های بالا می‌گردند (۹).

اثر آنتی‌اکسیدان داروهایی مانند تتراسیکلین، اریترومايسين، مینوسیکلین و مترونیدازول که برای درمان آکنه استفاده شده‌اند، به اثبات رسیده و به خاطر اثربخشی بیشتر آنها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، ترجیح داده می‌شوند (۱۰). Benzoyl Peroxide موضعی جهت درمان آکنه توانایی القاء واکنش التهابی توسط استرس اکسیداتیو علاوه بر فعالیت ضدباکتریایی دارد (۱۰).

بر مبنای هیپوتز فوق در ارتباط با بررسی شیوع G6PD deficiency در بیماران مبتلا به آکنه تنها یک مطالعه در سال ۲۰۰۵ انجام شده که در این مطالعه به بررسی اثر استرس اکسیداتیو در ۴۳ بیمار مبتلا به آکنه و ۴۶ کنترل پرداخته و نشان داده شد که G6PD در گروه بیمار بطور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل می‌باشد. در این مطالعه بیشترین محل ابتلا آکنه در صورت (۹۹٪) و به میزان کمتر در پشت بدن (۶۰٪) و قفسه‌سینه (۱۵٪) بود (۱).

در مطالعه ما از ۸۲ نفر بیمار که مورد بررسی قرار گرفتند، آکنه به صورت غالب در صورت و به میزان کمتر در قسمت‌های دیگر بدن وجود داشته که با مطالعه قبلی از این جهت همخوانی دارد، اما در مطالعه ما بر خلاف مطالعه قبلی بین کمبود G6PD و این بیماری ارتباطی مشاهده نگردید. این اختلاف ممکن است ناشی از دلایل زیر باشد:

- ۱- روش آزمایشگاهی بکاربرده شده در مطالعه قبلی با مطالعه حاضر متفاوت است. در مطالعه قبلی از روش Beutler استفاده شده که از روش فلورسانت در مطالعه حاضر دقیق‌تر می‌باشد.
 - ۲- در مطالعه قبلی جهت مقایسه از گروه کنترل استفاده شده، اما در مطالعه حاضر گروه کنترل وجود نداشت و برای مقایسه از شیوع G6PD deficiency در جمعیت نرمال طبق مطالعات قبلی که در ایران انجام شده بود، استفاده شد که دقت مطالعه حاضر را کم می‌نماید.
 - ۳- حجم نمونه در مطالعه انجام شده قبلی کمتر از مطالعه حاضر بوده است.
- در مطالعه حاضر به دلیل محدودیت امکانات و نداشتن گروه کنترل نتوانستیم بطور کامل به هدف خود در این پژوهش برسیم، اما با توجه به نتایج حاصله، امید داریم که در آینده بتوان گام‌های مؤثرتری در این زمینه برداشت.

پیشنهاد می‌شود برای مطالعات آتی به موارد زیر توجه شود:

- ۱- این مطالعه در حجم نمونه بیشتر انجام شود.
- ۲- از روش آزمایشگاهی دقیق‌تر حتی الامکان استفاده شود.
- ۳- از افراد غیر مبتلا به آکنه به عنوان گروه کنترل استفاده شود.

نتیجه‌گیری

توصیه می‌شود مطالعات دیگری با داشتن گروه شاهد، در حجم نمونه بیشتر و با استفاده از تست‌های آزمایشگاهی دقیق‌تر انجام شود.

موسسه تحقیقات گیاهپزشکی
تهران

References

1. Arican O, Ergul, Belge Kurutas, Sezai sasmaz. Oxidative stress in patients with Acne vulgaris. *Mediators inflamm*; 2005 (6): 380-384.
2. Cunliff WJ., Simpson, NB. Disorder of sebaceous gland in Rook text book of dermatology. Champion Rh, Burton J.L., Bu RNS DA; 6 th Ed, Black Well Science, London, 1998; PP: 1927-1984.
3. Cagler Y, Kaya M. Belge E. Meteuos. Ultrastructural evaluation of the effect of enhistol histopathol. 2003; 18(3): 703-708.
4. Basak PY, Gultekin F, Kilnic I, Delibas N. The effect of benzyl peroxide and benzoyl peroxide/ erythromycin combination on the antioxidative defence system in papulopustular acne: *Eur j Dermatol* 2002 Jan-Feb; 12(1): 53-7.
5. Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS. Kesici D, Delibas N. The role of oxidants in vitiligo. *J Dermatol*. 2003; 30(2): 104-108.
6. Wolf BHM. Weaning RS et al. *Clin Chim Acta* (1987) 168; 129.
7. موحد، علی؛ شکراله، فرخی. بررسی فراوانی نسبی کمبود آنزیم G₆PD در نوزادان متولد شده در بیمارستان بنت‌الهدی شهر بوشهر. *مجله بیماری‌های کودکان ایران*، ۱۳۸۲، دوره ۱۳، بهار، شماره ۱، ص ۵۵-۵۳.
8. Oztas MO, Balk M. Ogus E, Bozkurt M, Ogus III, Ozer N. The role of free oxygen actiopathogenesis of rosacea. *Clin Exp Dermatol*. 2003; 28 (2): 188-192.
9. Briganti S, Picardo Ms. Antioxidant activity, Lipid peroxidation and skin diseases. *W J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2003; 17(6): 663-669.
10. Akamatsu H, Horio T, Hattori K. Increased hydrogen peroxide generation by neutron inflammation, *Int J Dermatol*. 2003; 42(5): 366-369.

Abstract

Background: Various factors are involved in the pathogenesis of Acne vulgaris. Recently G6PD deficiency has been proposed in the pathogenesis of acne.

Aim: The evaluation of G6PD deficiency in patient with acne vulgaris.

Methods: The activity of G6PD enzyme has been measured in venous blood of 82 patients with different severity of acne vulgaris. Fluroscent tamp method has been used in order to determine the activity of G6PD enzyme.

Results: There was no statistically meaningful relation between G6PD deficiency in patients with normal population. No statistically meaningful relation was found between age and sex of patients, site of involvement and acne severity with G6PD deficiency.

Conclusion:. Another study with case control design and lager sample has been recommended.

Key Words: Acne - G6PD, Antioxidant, fluorescent, Spot test

ارتباط آکنه با G₆PD

اسم و فامیل:

شماره پرونده:

جنس

سن

محل درگیری:

۱- خفیف

۲- متوسط : شدت آکنه:

۳- شدید

نتایج آزمایشات:

نوع درمان:

۹۶۴۴۴