

## بررسی اثرات هلیکوباکتریپیلوری بر روی مالون دی آلدئید (MDA)، گلوتاتیون احیا (GSH)، گلوتاتیون اکسید (GSSG) و توتال آنتی اکسیدانت (TAC) در بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری

آزیتا نوایی<sup>۱</sup>، دکتر محمد حسن خادم انصاری<sup>۲\*</sup>، دکتر یوسف رسمی<sup>۳</sup>، دکتر سینا خادم انصاری<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: 90/10/12 تاریخ پذیرش: 90/11/29

### چکیده

**پیش زمینه و هدف:** گاستریت التهاب معده است و عوامل متعدد باعث ایجاد گاستریت می‌شوند، یکی از عوامل اصلی ایجاد گاستریت مزمن ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری به صورت مزمن است که به شکل گونه‌های فعال اکسین می‌تواند واسطه مهمی در تخریب پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات هلیکوباکتریپیلوری بر روی مالون دی آلدئید (MDA)، گلوتاتیون احیا (GSH)، گلوتاتیون اکسید (GSSG) و توتال آنتی اکسیدانت (TAC) در بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری به صورت مزمن است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه بیوپسی معده ۱۵۰ نفر از بیماران مشکوک مبتلا به هلیکوباکتریپیلوری از طریق آندوسکوپی از جدار معده به دست آمد. تست اوره آز و PCR بر روی بیوپسی‌ها انجام گرفت، ۶۸ بیمار گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری در سنین بین ۵۰-۳۰ (زن و مرد) به عنوان گروه بیمار و تعداد ۶۸ نفر هلیکوباکتریپیلوری منفی با علایم گاستریت به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند.

**یافته‌ها:** میزان MDA به طور معنی‌دار در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت ( $p < 0/05$ ). میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد GSH و TAC در گروه بیمار به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد ( $p < 0/05$ ). هم چنین نتایج حاصل از آنالیز میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد GSSG افزایش معنی‌دار بین گروه بیمار و گروه کنترل از نظر GSSG نشان داد ( $p < 0/05$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عفونت به هلیکوباکتریپیلوری باعث تغییرات در سیستم اکسیداتیو استرس می‌شود که آن نیز سبب خطر ابتلا به سایر بیماری‌ها از قبیل اختلالات در چربی‌ها و بیماری‌های قلبی و عروقی را افزایش می‌دهد.

**کلید واژگان:** مالون دی آلدئید، گلوتاتیون احیا، گلوتاتیون اکسید، توتال آنتی اکسیدانت، هلیکوباکتریپیلوری

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره اول، ص ۷۸-۷۳، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۹۱۴۱۴۱۵۸۷۹

Email: mhansari1@umsu.ac.ir

### مقدمه

آمونیاک و دی اکسید کربن هیدرولیز می‌کنند (۱-۴). دانشمندان عامل ایجاد گاستریت مزمن و سرطان معده را فاکتورهای متعدد پاتوژنی می‌دانند (۵). در برخی از مطالعات محققان عوامل ژنتیکی را به عنوان پایه بیماری‌ها مطرح نموده‌اند (۴). برخی دیگر فاکتورهای محیطی و تعدادی نیز رژیم غذایی، مصرف سیگار و عفونت ناشی از هلیکوباکتریپیلوری را ذکر نموده‌اند (۴-۵).

هلیکوباکتریپیلوری یک باکتری گرم منفی نیمه هوازی است که با محیط اکولوژیک موکوس معده سازگار یافته است. هلیکوباکتریپیلوری با کمک تاژک‌های متعدد و با ترشح اوره آز و آنزیم‌های دیگر، فرصت می‌یابد تا در سطح مخاط معده، به سلول‌های اپی تلیال چسبیده و یا در لابه لای پرزهای معده رشد و تکثیر نماید. برجسته ترین خاصیت بیوشیمیایی این باکتری، تولید مقدار فراوان آنزیم اوره آز است که اوره را به

<sup>۱</sup> دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی، زنجان ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> استادیار گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۴</sup> دانشکده پزشکی عثمان قاضی، ترکیه

۱۰۰ میکرولیتر سرم، مقدار ۳۰ میکرولیتر از محلول Scavenger از کیت گلوتاتیون اکسید و احیاء اضافه شد و به همراه بقیه سرم‌ها در دمای ۸۰- تا روز آزمایش نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری میزان MDA به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس اندازه‌گیری غلظت ترکیب صورتی رنگ کروموزن صورت گرفت (۱۱). آزمایش TAC توسط کیت راندوکس (Randox laboratories, UK) انجام گردید. نمونه سرم با استفاده از دستگاه ۳۰۰۰ BT (Biotechnica Instruments, Italy) به طور اتوماتیک با برنامه دستگاه اندازه‌گیری گردید و جواب توتال آنتی اکسیدانت به صورت مقدار میلی مول در لیتر گزارش شد. محاسبات آماری از طریق SPSS16 انجام و عدد کم‌تر از ۰/۰۵ دارای ارزش می‌باشد.

### یافته‌ها

در این مطالعه مقادیر MDA و GSH و GSSG و TAC در نمونه‌های سرم بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکتریلوری به صورت مزمن و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت به هلیکوباکتریلوری مورد بررسی قرار گرفتند (جدول شماره ۱). نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که میزان MDA و GSH و GSSG و TAC در افراد بیمار در مقایسه با افراد کنترل متفاوت است. میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد MDA گروه بیمار ۳/۷۵  $\pm$  ۰/۱۵ میکرومول در لیتر و میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گروه کنترل ۰/۹۲  $\pm$  ۰/۰۴ میکرومول در لیتر می‌باشد که مقایسه آماری تفاوت معنی‌دار را بین این دو گروه از نظر MDA نشان می‌دهد ( $p < 0/05$ ). همان‌طور که از نمودار ترسیم شده نیز مشخص است میزان MDA در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش دارد (جدول ۱ و نمودار ۱). همچنین نتایج مربوط به آنالیز مقادیر به دست آمده GSH نشان می‌دهد که میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گروه بیمار ۰/۵۹  $\pm$  ۰/۰۳ میکرومول و میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گروه کنترل ۲/۱۴  $\pm$  ۰/۰۸ میکرومول می‌باشد، مقایسه آماری نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین این دو گروه است ( $p < 0/05$ ). نتایج حاصل حاکی از کاهش میزان گلوتاتیون احیاء در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل است (جدول ۱ و نمودار ۲). آنالیز مقادیر به دست آمده از GSSG نشان می‌دهد که میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گروه مبتلا به عفونت هلیکوباکتریلوری ۰/۲۶  $\pm$  ۰/۰۱ میکرومول و میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گروه کنترل ۰/۰۳  $\pm$  ۰/۰۵ میکرومول می‌باشد ( $p < 0/05$ ). نتایج حاصل از تحقیق انجام گرفته حاکی از افزایش میزان گلوتاتیون اکسید در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل است (جدول ۱ و نمودار ۳). هم‌چنین نتایج مربوط به آنالیز مقادیر به دست آمده TAC نشان می‌دهد که میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد در گروه بیمار

به طور عمده عامل ایجاد بیماری‌های معده‌ای نظیر گاستریت حاد فعال، بیماری اولسر پپتیک، آتروفی مخاط معده و آدنوکارسینوم معده، هلیکوباکتریلوری و تولید رادیکال‌های آزاد، اکسیداتیو استرس دانسته شده است (۸-۵، ۶). رادیکال‌های آزاد اکسیژن آسیب‌های وسیعی را از طریق حمله به اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها در سلول برجای می‌گذارند که برخی از این تغییرات در DNA منجر به سرطان می‌شود (۹).

گلوتاتیون احیاء یکی از مهم‌ترین آنتی اکسیدان‌های بدن است. حذف گلوتاتیون احیاء منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های بیوشیمیایی از طریق تشکیل پیوند کوالانت بین ماکرومولکول‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها است (۶). سیستم دفاعی بدن ما مولکول‌هایی تشکیل شده از آنتی اکسیدان‌ها را در اختیار دارد، حضور هر یک از ماده‌های تشکیل دهنده آنتی اکسیدان بر روی حالت توتال آنتی اکسیدانت تأثیر دارد. هر گونه ناهنجاری در این زمینه، مانند کاهش میزان توتال آنتی اکسیدانت سبب بیماری‌های مختلف می‌شود (۱۰). از آنجایی که تغییرات پارامترهای مالون دی آلدید، گلوتاتیون احیاء، گلوتاتیون اکسید و توتال آنتی اکسیدان باعث بروز بیماری‌های گاستریت به صورت حاد و مزمن می‌شوند، بنابراین تحقیق در این زمینه همواره یکی از اهداف محققان بوده است. هدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثر هلیکوباکتریلوری بر روی شاخص‌های اکسیداتیو استرس مثل مالون دی آلدید، توتال آنتی اکسیدان‌ها، گلوتاتیون اکسید و گلوتاتیون احیاء است.

### مواد و روش کار

تعداد ۱۵۰ بیمار مبتلا به گاستریت مشکوک به عفونت هلیکوباکتریلوری در سنین بین ۵۰-۳۰ سال (زن و مرد) مورد آندوسکوپی از جدار معده شدند. بخشی از بیوپسی معده ۲ تا ۳ میلی‌متر جهت PCR در سرم فیزیولوژی (۰/۹% NaCl) و بخش دیگر از همان نمونه جهت تست اوره آز در محیط مایع اوره آز قرار داده شدند. هم‌زمان با بیوپسی مقدار ۵ میلی لیتر خون گرفته شد و در یخ نگهداری گردید. سرم در سانتریفوژ یخچال دار ۴ درجه سانتی‌گراد در ۶۰۰۰g جدا گردید و در چند لوله به صورت مساوی تقسیم شد. ۶۸ بیمار مبتلا به هلیکوباکتریلوری مثبت با روش PCR و محیط اوره آز به عنوان بیمار و ۶۸ بیمار مبتلا به گاستریت و هلیکوباکتریلوری منفی به عنوان کنترل انتخاب شدند. اندازه‌گیری گلوتاتیون اکسید و گلوتاتیون احیاء (GSH/GSSG) در یک زمان به وسیله یک کیت آکسفورد بیومدیک (Oxford Bio Medical Research USA) انجام گردید. بعد از تهیه نمونه سرم برای اندازه‌گیری GSSG به صورت اولیه به

نمودار ۴). نتایج حاصل از آزمایش‌ها حاکی از همبستگی بین شاخص‌های GSSG با GSH و MDA با GSSG در گروه بیمار است در حالی که همبستگی بین هیچ یک از شاخص‌ها در گروه کنترل دیده نشد (جدول ۲).

۰/۹۲±۰/۰۴ میلی مول در لیتر و میانگین ± انحراف استاندارد در گروه کنترل ۱/۷۰±۰/۰۶ میلی مول در لیتر می‌باشد (p<۰/۰۵). همان طور که از نمودار ۴ نیز مشخص است میزان TAC در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است (جدول ۱ و

**جدول شماره (۱):** مقادیر MDA و GSH و GSSG و TAC در بیماران مبتلا به گاستریت با عفونت هلیکوباکتریلوری و غیر عفونت با

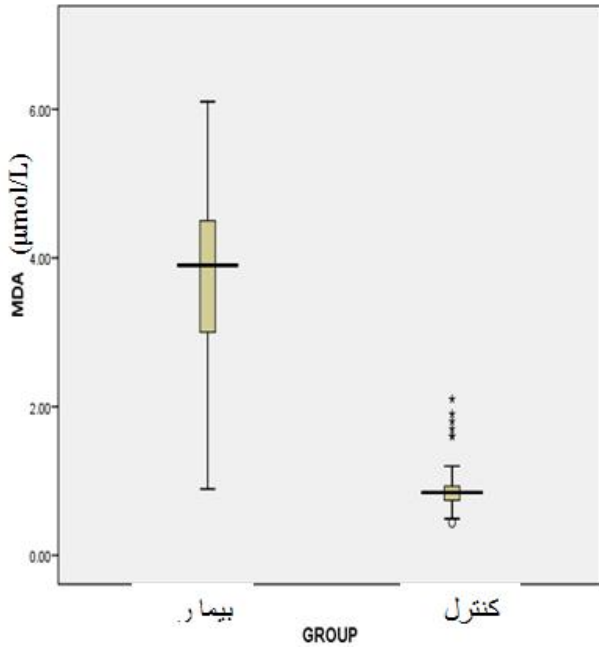
هلیکوباکتریلوری

	بیماران Mean±SE	کنترل Mean±SE	Pvalue
MDA (μmol/L)	۳/۷۵±۰/۱۵	۰/۹۲±۰/۰۴	۰/۰۰۱
GSH (μmol)	۰/۵۹±۰/۰۳	۲/۱۴±۰/۰۸	۰/۰۰۱
GSSG (μmol)	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۰۵±۰/۰۰۳	۰/۰۰۱
TAC (μmol/L)	۰/۹۲±۰/۰۴	۱/۷۰±۰/۰۶	۰/۰۰۱

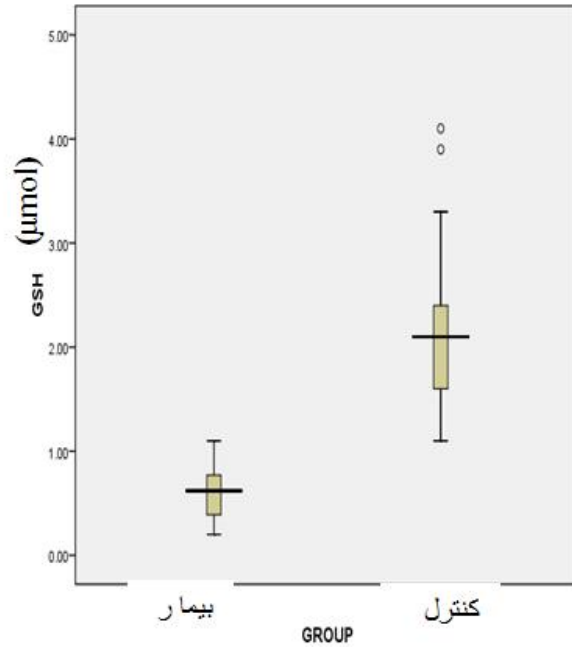
**جدول شماره (۲):** نتایج تعیین همبستگی (×) و عدم همبستگی (×) بین شاخص‌های MDA با GSSG و GSSG با GSH در گروه بیمار و

گروه کنترل

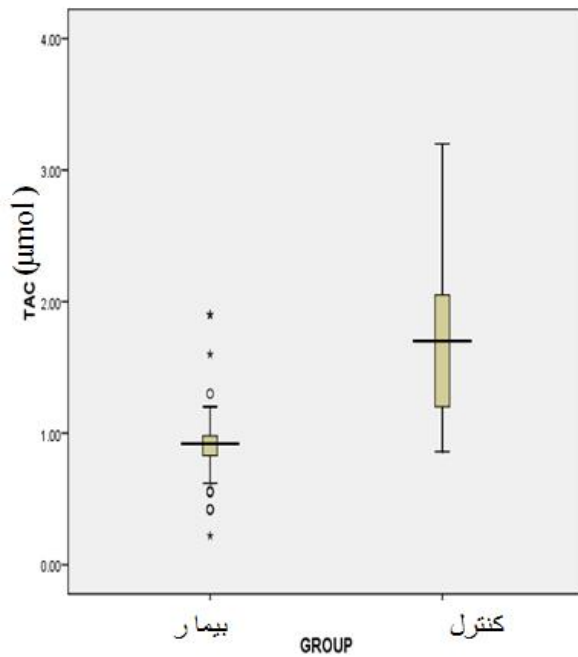
عدم همبستگی	همبستگی	
×	-	MDA و TAC گروه بیمار
×	-	MDA و TAC گروه کنترل
-	×	GSH و GSSG گروه بیمار
×	-	GSH و GSSG گروه کنترل
×	×	GSSG و MDA گروه بیمار
×	-	GSSG و MDA گروه کنترل
×	-	GSH و MDA گروه بیمار
×	-	GSH و MDA گروه کنترل



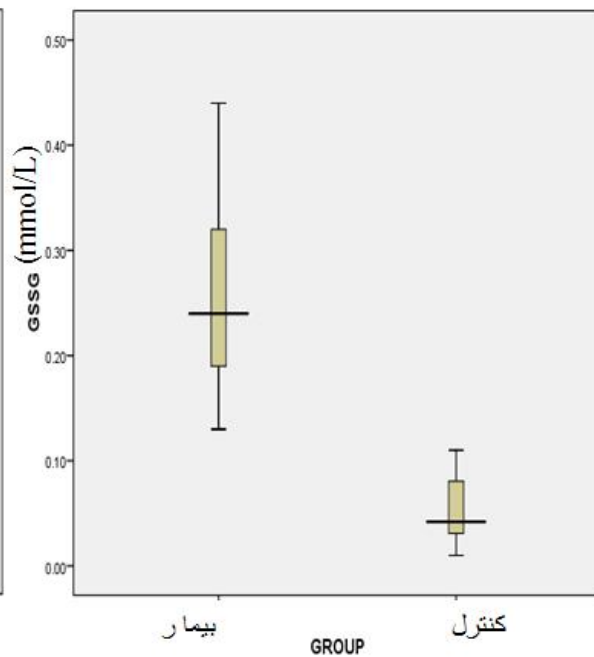
نمودار شماره (۱): دیاگرام مالون دی آلدئید (MDA) در بیماران مبتلا به گاستریت عفونت با هلیکوباکتریپیلوری (بیمار) و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری (کنترل)



نمودار شماره (۲): دیاگرام گلوتاتیون احیاء (GSH) در بیماران مبتلا به گاستریت عفونت با هلیکوباکتریپیلوری (بیمار) و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری



نمودار شماره (۳): دیاگرام گلوتاتیون اکسید (GSSG) در بیماران مبتلا به گاستریت عفونت با هلیکوباکتریپیلوری (بیمار) و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری



نمودار شماره (۴): دیاگرام توتال آنتی اکسیدانت (TAC) در بیماران مبتلا به گاستریت عفونت با هلیکوباکتریپیلوری (بیمار) و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت هلیکوباکتریپیلوری

## بحث

گاستریت و اسید آسکوربیک موکوس معده انجام داد، در مطالعه او میزان لومینانس و مالون دی آلدئید در بیوپسی‌های بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری بالاتر از افرادی با هیستولوژی طبیعی بود. کاهش میزان مالون دی آلدئید در افراد تحت درمان نشان دهنده کاهش اختلالات متابولیسم چربی‌ها است (۱۵). تحقیقات ترک دوغان و همکاران در سال ۱۹۹۸ ارتباط بین لیپیدپراکسیداسیون و سرطان ناحیه فوقانی (GI) نشان داد، سطح لیپید پراکسیداسیون (MDA) در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش داشت که این یافته آن‌ها در خصوص مالون دی آلدئید با یافته‌های ما مطابقت دارد، آن‌ها پراکسیدان لیپید را علت بارز سرطان نتیجه گیری کردند (۱۶). کاهش سطح آنتی اکسیدان و افزایش اکسیداتیواسترس در بدن به طور واضح با افزایش خطر ابتلا به سرطان همراه است. کاهش آنتی اکسیدان‌ها از جمله گلوکوتاتیون که یکی از مهم‌ترین آنتی اکسیدان بدن می‌باشد اختلالات سلولی را به همراه دارد (۱۴،۷). مطالعات مایتی و همکاران در سال ۱۹۹۸ مشخص کرد که گلوکوتاتیون نقش مهمی در محافظت سلولی دارد (۷). اندرسون در سال ۲۰۰۸، میزان TAC را در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری با افرادی که تحت درمان دارویی هستند مقایسه نمود. او با انجام تحقیق اثرگذاری داروهای صناعی بر روی آنتی اکسیدان‌های خون نشان داد که TAC به طور معنی‌دار در نمونه‌های هلیکوباکتریپیلوری مثبت کم‌تر از افراد سالم است و میزان TAC بعد از مصرف داروهای صناعی در نمونه‌های بیمار افزایش می‌یابد (۱۷).

هلیکوباکتریپیلوری از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی به شمار می‌رود و یکی از عوامل پاتوژن انسانی است که نصف جمعیت انسانی با این باکتری گرم منفی آلوده می‌شوند (۱۲،۲). عفونت هلیکوباکتریپیلوری در کشورهای در حال توسعه شایع‌تر از کشورهای توسعه یافته است (۴). در تحقیق حاضر اثر هلیکوباکتریپیلوری بر روی شاخص‌های اکسیداتیو استرس MDA و GSH و GSSG و TAC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. یافته‌های ما مبنی بر اثرات هلیکوباکتریپیلوری بر روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو MDA و GSSG و GSH و TAC در بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری به صورت مزمن نشان داد که میزان مالون دی آلدئید و گلوکوتاتیون اکسید در گروه بیماران افزایش می‌یابد و میزان توتال آنتی اکسیدان و گلوکوتاتیون احیاء در این بیماران کاهش یافته است. کاهش گلوکوتاتیون احیاء به عنوان یکی از آنتی اکسیدان‌های اصلی بدن و کاهش توتال آنتی اکسیدان در بیماران حاکی از آن است که سطح پایین آنتی اکسیدان‌ها منجر به تجمع و افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد می‌شود و مقدار آسیب توسط محصول پراکسیدان لیپید را افزایش می‌دهد. استنباط محققان از مطالعات انجام گرفته بر روی بیوپسی‌های بیماران مبتلا به گاستریت و التهاب معده جهت سنجش مالون دی آلدئید این است که تغییرات سطح مالون دی آلدئید بازتاب اثرات رادیکال‌های آزاد و ناهنجاری‌های ایجاد شده در بدن می‌باشد (۱۴-۱۳،۷). در یک در سال ۱۹۹۸ مطالعه‌ای بر روی آسیب‌های ناشی از اکسیژن فعال و ارتباط آن با پاتولوژی

## References

1. Marshall B, Warren J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1(8390):1311-15.
2. Kusters J, Vliet A, Ernst K. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(3): 449-90.
3. Xia H, Keane C, Omorain C. Pre formed urease activity of *Helicobacter pylori* as determined by a viable cell count technique clinical implications. *J Med Microbiol* 1994; 40(6):435-39.
4. Brown L. *Helicobacter pylori* Epidemiology and Routes of Transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22(2):283-97.
5. Adisa J, Musa A, Yima U, Egbujo E. *Helicobacter pylori* associated gastritis in North Eastern Nigeria. *Int Sci Res J* 2011; 3(1): 30.
6. Santra A, Chowdhury A, Chaudhuri S, Das Gupta J, Banerjee PK, Mazumder DN. Oxidative stress in gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. *Indian J Gastroenterol* 2000; 19(1): 21-3.
7. Demir S, Yilmaz M, Koseoglu M, Akalin N, Aslan D, Aydin A. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk J Gastroenterol* 2003; 14(1): 39-43.
8. Khadem Ansari MH, Rasmi Y, Manafi M, Rahimpour A, Ghadermarzi E. The evaluation of *helicobacter pylori* infection and cardiovascular

- diseases risk factors with atherosclerosis. *Urmia Med J* 2010; 21(1): 17-23. (Persian)
9. Shariatzade SMA, Sadeghi AR. Free radicals and their relation to Lypofuscin as a cell aging factor. *Urmia Med J* 1999; 10(2): 145-7. (Persian)
  10. Kusano C, Ferrari B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol* 2008; 7(1):1-15.
  11. Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 2002; 311:76-9.
  12. Styer C, Hansen L, Cooke C, Gundersen A, Choi S, Berg D et al. Expression of the BabA Adhesin during Experimental Infection with *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2010; 78(4): 1593-600.
  13. Santosh K, Tiwari G, Manoj G, Vishwas S, Sivaram G, Saikant R et al. Relevance of *Helicobacter pylori* genotypes in gastric pathology and its association with plasma malondialdehyde and nitric oxide levels. *Inflammopharmacol* 2010; 18:59-64.
  14. Salim A. Role of free radical scavengers in the management of refractory duodenal ulceration: a new approach. *J Surg Res* 1994; 56: 45-52.
  15. Drake M, Mapstone P, Schorah J, White L, Chalmers M, Dixon F et al. Reactive oxygen species activity and lipid peroxidation in *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut* 1998; 42(6): 768-71.
  16. Turkdogan M, Seker O, Hekim H. Lipid peroxidation and upper gastrointestinal cancers. *East J Med* 1998; 3 (2): 39-42.
  17. Hutt P, Andreson H, Kullisaar T, Vihalemm T, Unt E, Kals J et al. Effects of a synbiotic product on blood antioxidative activity in subjects colonized with *Helicobacter pylori*. *Lett Appl Microbiol* 2008; 48:797-800.