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

آزیتا نوابی[1]، دکتر محمد حسن خادم انصاری[2]*، دکتر یوسف رسمی[3]، دکتر سینا خادم انصاری[4]

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 بـه عفونـت هلیکوباکترپیلوری به صورت مزمن است که به شکل گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند واسطه مهمی در تخریب پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA باشد. هـدف از ایـن تحقیق بررسی اثرات هلیکوباکترپیلوری بر روی مالون دی آلدهید (MDA)، گلوتـاتیون احیـا (GSH)، گلوتـاتیون اکسـید (GSSG) و توتـال آنتـی اکسـیدانت (TAC) در بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری به صورت مزمن است.

مواد و روش کار: در این مطالعه بیوپسی معده ۱۵۰ نفر از بیماران مشکوک مبتلا به هلیکوباکترپیلوری از طریق آندوسکوپی از جدار معده به دست آمد. تست اوره آز و PCR بر روی بیوپسی ها انجام گرفت، ۶۸ بیمار گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری در سنین بین ۵۰-۳۰ (زن و مرد) به عنوان گروه بیمار و تعداد ۶۸ نفر هلیکوباکترپیلوری 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 ($p<۰/۰۵$). میانگین ± انحراف استاندارد GSH و TAC در گروه بیمار به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد ($p<۰/۰۵$). هم چنین نتایج حاصل از آنالیز میانگین ± انحراف اسـتاندارد GSSG افـزایش معنی‌دار بین گروه بیمار و گروه کنترل از نظر GSSG نشان داد ($p<۰/۰۵$).

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

کلید واژگان: مالون دی آلدهید، گلوتاتیون احیا، گلوتاتیون اکسید، توتال آنتی اکسیدانت، هلیکوباکترپیلوری

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

هلیکوباکترپیلوری یک باکتری گـرم منفـی نیمـه هـوازی است که با محیط اکولوژیک موکوس معده سازگار یافته اسـت. هلیکوباکترپیلوری با کمک تاژک های متعدد و با ترشح اوره آز و آنزیم‌های دیگر، فرصت می یابد تا در سطح مخاط معده، بـه سلول‌های اپی تلیال چسبیده و یا در لابـه لای پرزهـای معـده رشد و تکثیر نماید. برجسته ترین خاصـیت بیوشـیمیایی ایـن باکتری، تولید مقدار فراوان آنـزیم اوره آز است کـه اوره را بـه آمونیـاک و دی اکسـید کـربن هیـدرولیز مـی‌کنـد (۴-۱). دانشمندان عامل ایجاد گاسـتریت مـزمن وسـرطان معـده را فاکتورهای متعدد پاتوژنی می‌دانند (۵). در برخی از مطالعات محققان عوامل ژنتیکی را به عنوان پایه بیمـاری‌هـا مطـرح نموده‌اند (۴). برخی دیگر فاکتورهای محیطی و تعدادی نیز رژیـم غـذایی، مصـرف سـیگار و عفونـت ناشـی از هلیکوباکترپیلوری را ذکر نموده‌اند (۵-۴).

[1] دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی، زنجان ایران

[2] دانشیار گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

[3] استادیار گروه بیوشیمی وتغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[4] دانشکده پزشکی عثمان قاضی، ترکیه

به طور عمده عامل ایجاد بیماری‌های معده‌ای نظیر گاستریت حاد فعال، بیماری اولسر پپتیک، آتروفی مخاط معده و آدنوکارسینوم معده، هلیکوباکترپیلوری و تولید رادیکال‌های آزاد، اکسیداتیو استرس دانسته شده است(۸-۲،۵،۶). رادیکال‌های آزاد اکسیژن آسیب‌های وسیعی را از طریق حمله به اسیدهای نوکلئیک، پروتین ها و لیپیدها در سلول برجای می‌گذارند که برخی از این تغییرات در DNA منجر به سرطان می‌شود (۹).

گلوتاتیون احیاء یکی از مهم‌ترین آنتی اکسیدان های بدن است. حذف گلوتاتیون احیا منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های بیوشیمیایی از طریق تشکیل پیوند کوالانت بین ماکرومولکول ها و پراکسیداسیون لیپیدها است(۶). سیستم دفاعی بدن ما مولکول‌هایی تشکیل شده از آنتی اکسیدان ها 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 آلدهید، گلوتاتیون احیا، 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 هلیکوباکترپیلوری بر روی شاخص‌های اکسیداتیواسترس مثل مالون دی آلدهید، توتال آنتی اکسیدان‌ها، گلوتاتیون اکسید و گلوتاتیون احیاء است.

مواد و روش کار

تعداد ۱۵۰ بیمار مبتلا به گاستریت مشکوک به عفونت هلیکوباکترپیلوری 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 (۰/۹Nacl%) و بخش دیگر از همان نمونه جهت تست اوره آز در محیط مایع اوره آز قرار داده شدند. هم زمان 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 هلیکوباکترپیلوری مثبت با روش PCR و محیط اوره آز به عنوان بیمار و ۶۸ بیمار مبتلا به گاستریت و هلیکوباکترپیلوری منفی به عنوان کنترل انتخاب شدند. اندازه‌گیری گلوتاتیون اکسید و گلوتاتیون احیا (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 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 کروموژن صورت گرفت (۱۱). آزمایش TAC توسط کیت راندوکس (Randoxlaboratories,UK) انجام گردید. نمونه سرم با استفاده از دستگاه BT -۳۰۰۰ (Biotochnica Insteruments,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 GSHوGSSG و TAC در نمونه‌های سرم بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری به صورت مزمن و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت به هلیکوباکترپیلوری مورد بررسی قرار گرفتند (جدول شماره ۱). نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که میزان MDA و GSH و GSSG و TACدر افراد بیمار در مقایسه با افراد کنترل متفاوت است. میانگین ± انحراف استاندارد MDA گروه بیمار ۳/۷۵±۰/۱۵ میکرومول در لیتر و میانگین ± انحراف استاندارد گروه کنترل۰/۹۲±۰/۰۴ ۰ میکرومول در لیتر می‌باشد که مقایسه آماری تفاوت معنی‌دار را بین این دو گروه از نظر MDA نشان می‌دهد (p<۰/۰۵). همان طور که از نمودار ترسیم شده نیز مشخص است میزان MDA در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش دارد (جدول ۱ و نمودار۱). همچنین نتایج مربوط به آنالیز مقادیر به دست آمده GSH نشان می‌دهد که میانگین ± انحراف استاندارد گروه بیمار ۰/۵۹±۰/۰۳ میکرومول و میانگین ± انحراف استاندارد گروه کنترل ۰/۰۸ ±۲/۱۴ میکرومول می‌باشد، مقایسه آماری نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین این دو گروه است (p<۰/۰۵)، نتایج حاصل حاکی از کاهش میزان گلوتاتیون احیاء در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل است (جدول۱ و نمودار۲). آنالیز مقادیر به دست آمده از GSSG نشان می‌دهد که میانگین±انحراف استاندارد گروه مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری ۰/۰۱± ۰/۲۶ میکرومول و میانگین ± انحراف استاندارد گروه کنترل ۰/۰۰۳±۰/۰۵ میکرومول می‌باشد (p<۰/۰۵)، نتایج حاصل از تحقیق انجام گرفته حاکی از افزایش میزان گلوتاتیون اکسید در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل است (جدول۱و نمودار۳). هم چنین نتایج مربوط به آنالیز مقادیر به دست آمده TAC نشان می‌دهد که میانگین ± انحراف استاندارد در گروه بیمار

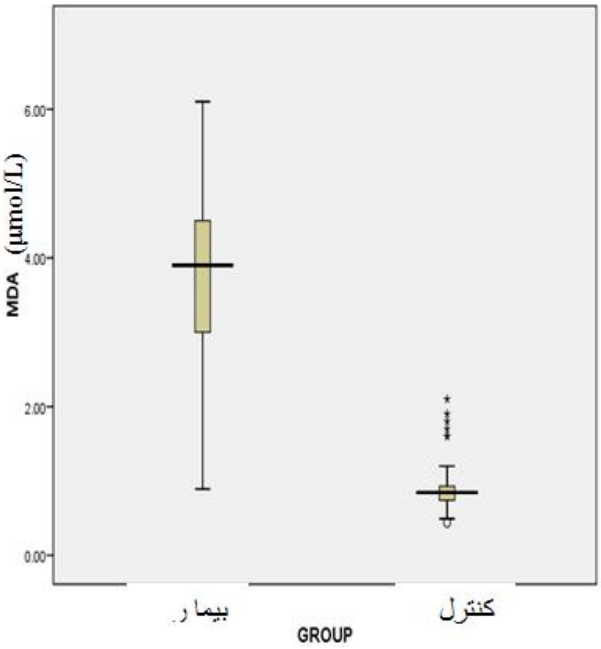
۰/۹۲±۰/۰۴ میلی مول در لیتر و میانگین ± انحراف استاندارد در گروه کنترل ۱/۷۰±۰/۰۶ میلی مول در لیتر می‌باشد (p<۰/۰۵)، همان طور که از نمودار ۴ نیز مشخص است میزان TAC در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است (جدول۱ و نمودار۴). نتایج حاصل از آزمایش‌ها حاکی از همبستگی بین شاخص‌های GSSG با GSH و MDA با GSSG در گروه بیمار است در حالی که همبستگی بین هیچ یک از شاخص‌ها در گروه کنترل دیده نشد (جدول۲).

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

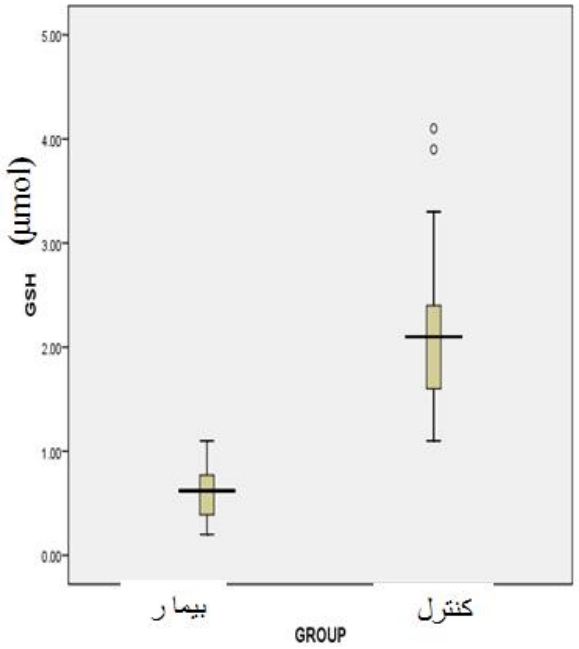
	بیماران Mean±SE	کنترل Mean±SE	Pvalue
MDA (µmol/L)	۳/۷۵±۰/۱۵	۰/۹۲±۰/۰۴	۰/۰۰۱
GSH (µmol)	۰/۵۹±۰/۰۳	۲/۱۴± ۰/۰۸	۰/۰۰۱
GSSG (µmol)	۰/۲۶ ± ۰/۰۱	۰/۰۵ ± ۰/۰۰۳	۰/۰۰۱
TAC (µmol/L)	۰/۹۲±۰/۰۴	۱/۷۰± ۰/۰۶	۰/۰۰۱

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

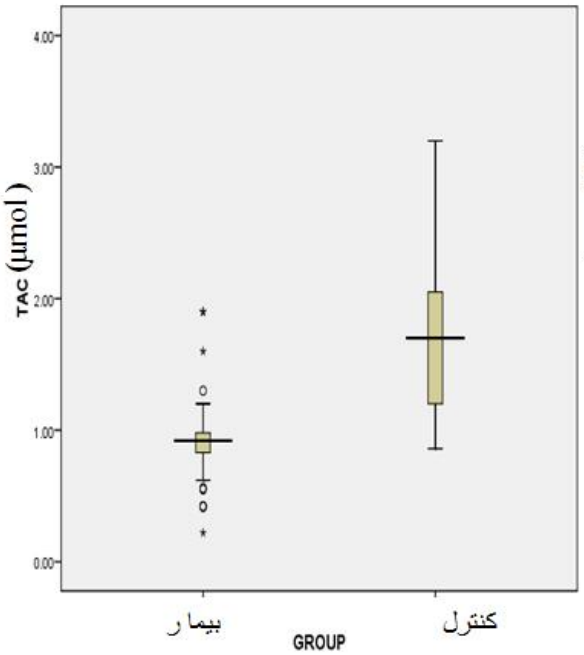
	همبستگی	عدم همبستگی
MDA و TAC گروه بیمار	-	×
MDA و TAC گروه کنترل	-	×
GSSG و GSH گروه بیمار	×	-
GSSG و GSH گروه کنترل		×
MDA و GSSG گروه بیمار	×	×
MDA و GSSG گروه کنترل	-	×
MDA و GSH گروه بیمار	-	×
MDA و GSH گروه کنترل	-	×



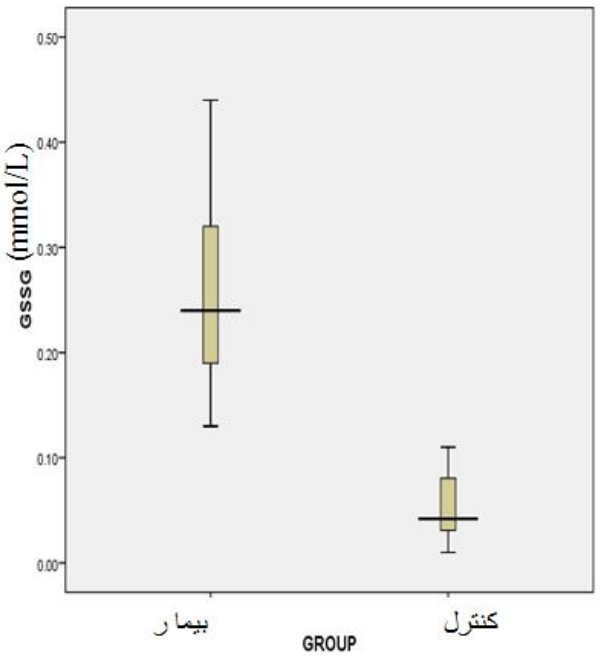
نمودار شماره (۱): دیاگرام مالون دی آلدهید (MDA) در بیماران مبتلا به گاستریت عفونت با هلیکوباکترپیلوری (بیمار) و بیماران مبتلا به گاستریت بدون عفونت هلیکوباکترپیلوری (کنترل)



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



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



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

بحث

هلیکوباکترپیلوری 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 هلیکوباکترپیلوری در کشورهای در حال توسعه شایع‌تر از کشورهای توسعه یافته است (۴). در تحقیق حاضر اثر هلیکوباکترپیلوری بر روی شاخص‌های اکسیداتیو استرس MDA و GSH و GSSG و TAC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. یافته‌های ما مبنی بر اثرات هلیکوباکترپیلوری بر روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو MDA و GSSG و GSH و TAC در بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری به صورت مزمن نشان داد که میزان مالون دی آلدهید و گلوتاتیون اکسید در گروه بیماران افزایش می‌یابد و میزان توتال آنتی اکسیدان و گلوتاتیون احیاء در این بیماران کاهش یافته است. کاهش گلوتاتیون احیاء به عنوان یکی از آنتی اکسیدان های 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 آلدهید این است که تغییرات سطح مالون دی آلدهید بازتاب اثرات رادیکال‌های آزاد و ناهنجاری‌های ایجاد شده در بدن می‌باشد (۱۳،۷-۱۴). در یک در سال ۱۹۹۸ مطالعه‌ای بر روی آسیب‌های ناشی از اکسیژن فعال و ارتباط آن با پاتولوژی گاستریت و اسید آسکوربیک موکوس معده انجام داد، در مطالعه او میزان لومینانس و مالون دی آلدهید در بیوپسی‌های بیماران گاستریت مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری بالاتر از افرادی با هیستولوژی طبیعی بود. کاهش میزان مالون دی آلدهید 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 آلدهید 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 گلوتاتیون 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 گلوتاتیون نقش مهمی در محافظت سلولی دارد (۷). اندرسون در سال ۲۰۰۸، میزان TAC را در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری با افرادی که تحت درمان دارویی هستند مقایسه نمود. او با انجام تحقیق اثرگذاری داروهای صناعی بر روی آنتی اکسیدان های خون نشان داد کهTAC به طور معنی‌دار در نمونه‌های هلیکوباکترپیلوری مثبت کم‌تر از افراد سالم است و میزان TAC بعد از مصرف داروهای صناعی در نمونه‌های بیمار افزایش می‌یابد (۱۷).

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, Rahimipour 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.