تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
ازکمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

ارتباط سوء هاضمه دیابتی در افراد آلوده به عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* با میزان نیتریک اکسید شیره معده، استرس اکسیداتیو و سطح هموگلوبین گلیکوزیله

احمد موحدیان
استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

نازیلا پورامینی
کارشناس پرستاری، مرکز آموزشی درمانی سینا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

صبا بردبار بناب
کارشناس ژنتیک، گروه زیست شناسی سلولی- ملکولی، دانشگاه آزاد اهر، ایران

ابراهیم فتاحی
استاد بیماری های گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

احمد میرزاآقازاده
استادیار آمار، دانشکده پیرایزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

امیر بهرامی
استاد غدد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

شیرین فتاحی
استادیار پاتولوژی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

همایون دولتخواه
دانشجوی بیوشیمی بالینی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

نویسنده مسئول: همایون دولتخواه

پست الکترونیک: dolatkhahh@gmail.com

تلفن : ۰۹۳۰۱۳۳۲۳۲۲

آدرس: دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

دریافت: ۹۲/۶/۹
ویرایش پایانی: ۹۳/۲/۱۹
پذیرش: ۹۳/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف : *در سال های اخیر دیابت ملیتوس به عنوان یکی از دلایل اصلی اختلالات دستگاه گوارش فوقانی شناخته شده است. از آنجایی که شیوع بالای آلودگی به هلیکوباکترپیلوری در افراد دیابتی گزارش شده است، در این مطالعه سطوح نیتریک اکسید شیره معده ، میزان استرس اکسیداتیو موکوس معده و درصد هموگلوبین گلیکوزیله مورد مطالعه قرار گرفت.*

روش بررسی: *۶۰ بیمار دیابتی آلوده به هلیکوباکتر پیلوری و ۶۰ بیمار دیابتی غیرآلوده به هلیکوباکترپیلوری و۶۰ فرد سالم و غیرآلوده به هلیکوباکترپیلوری به ترتیب بعنوان گروه مورد و گروه های شاهد یک و دو انتخاب شدند. میزان نیتریک اکسید شیره معده به روش رنگ سنجی، میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بیوپسی معده به روش رنگ سنجی و درصد هموگلوبین گلیکوزیله نیز با استفاده از روش کروماتوگرافی تعویض یونی اندازه گیری شد .*

یافته ها : *در مقایسه با دو گروه شاهد افزایش معنی دار و قابل توجهی در میانگین سطوح خونی HbA1c نیتریک اکسید شیره معده، فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز مخاط معده در گروه مورد مشاهده گردید($p<۰/۰۰۱$).*

نتیجه گیری : نتایج حاصله از این مطالعه نشان می دهد که سطوح بالایی از هموگلوبین گلیکوزیله در بیماران دیابتی مبتلا به آلودگی هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با گروه کنترل که آلوده به این باکتری نبودند، دیده می شود و فعالیت بالای آنزیم های آنتی اکسیدان در گروه مورد ممکن است نشان دهنده تولید بسیار بالایی از گونه های فعال اکسیژن را نشان داده و وجود حالت استرس اکسیداتیو را در این بیماران تایید نماید.

واژه های کلیدی: *دیابت ملیتوس، هلیکوباکتر پیلوری ، هموگلوبین گلیکوزیله، نیتریک اکسید، استرس اکسیداتیو*

آدرس مقاله
پورامینی ن، بردبار بناب ص، فتاحی ا، میرزاآقازاده ا، بهرامی ا، فتاحی ش، دولتخواه ه" ارتباط سوء هاضمه دیابتی در افراد آلوده به عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* با میزان نیتریک اکسید شیره معده، استرس اکسیداتیو و سطح هموگلوبین گلیکوزیله" مجله علوم آزمایشگاهی، زمستان ۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۵): ۷۰-۷۷

مقدمه

در سال های اخیر دیابت ملیتوس به عنوان عامل اصلی بی نظمی در اعمال دستگاه معدی-روده ای عنوان گردیده است (۱). با توجه به اینکه *هلیکوباکتر پیلوری* نیز باعث ایجاد بسیاری از موارد سوء هاضمه (Dyspepsia) می باشد، افزایش شیوع آلودگی به *هلیکوباکتر پیلوری* در افراد دیابتی گزارش شده است(۲). تاخیر در تخلیه معده و کاهش عملکرد قسمت آنترال معده از عوارض مهم سوء هاضمه در دیابت می باشد. نقش آلودگی *هلیکوباکتر پیلوری* در سوء هاضمه دیابتی در اصل به هیپرگلیسمی نسبت داده می شود. هیپرگلیسمی ممکن است آلودگی به *هلیکوباکتر پیلوری* را تحریک نماید و یا یک آلودگی خفیف و خاموش بدون علائم آشکار را دوباره فعال نموده و علائم سوء هاضمه را در دیابت ایجاد نماید. آلودگی به *هلیکوباکتر* در بیماران دیابتی که از لحاظ متابولیکی کنترل نشده اند، آلودگی متداول بوده و در ناحیه آنتروم معده این افراد *هلیکوباکترپیلوری* کلونیزه می شود (۳). با این حال چندین مطالعه شیوع هلیکوباکتر پیلوری را در بیماران دیابتی و نقش احتمالی آلودگی را در کنترل متابولیک بررسی کرده اند (۴،۳،۱). بعضی مطالعات ارتباط بین آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری و بیماری دیابت را رد نموده اند و از رابطه بین کنترل متابولیک و آلودگی هلیکوباکترپیلوری پشتیبانی نکردند(۵). در حالیکه مطالعات دیگر آلودگی هلیکوباکتر پیلوری در بیماران دیابتی و کنترل گلیسمی را در بیماران دیابتی تیپ ۱ در مقایسه با بیماران غیردیابتی نشان دادند. از این گذشته رابطه ای بین هلیکوباکترپیلوری، انسولین و سطح گلوکز سرم نشان داده شده است (۶،۴،۳،۱). براساس مطالعات انجام شده، ممکن است تنظیم گلیسمی در بیماران دیابتی زمانی مفید باشد که آلودگی به هلیکوباکترپیلوری ریشه کن شود، که این مسئله به وسیله کاهش در سطح هموگلوبین گلیکوزیله تا سطح تقریبا یکسان با گروهی که هرگز به *هلیکوباکتر پیلوری* آلوده نبودند، مشخص می شود(۶). افراد مبتلا به دیابت و آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری*، هموگلوبین گلیکوزیله بالاتری نسبت به افراد غیر آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* دارند و ریشه کنی عفونت می تواند سطح هموگلوبین گلیکوزیله را دراین افراد کاهش دهد. نیتریک اکسید رادیکال گازی چند منظوره ای است که به پروتئین های دارای آهن و مس با تمایل زیاد می چسبد(۷). این رادیکال از سلول های مختلف مانند سلول های آندوتلیال وریدی، نرون ها، نوترفیل ها و ماکروفاژها تولید می شود و از طرفی همه ایزوزیم های لازم برای سنتز NO° در موکوس معده وجود دارند(۹،۸). از این گذشته همچنین در شیره معده NO° از طریق احیای غیرآنزیمی نیتریت ناشی از بزاق و غذا به وجود می آید. بنابر این غلظت های فیزیولوژیکی NO° در شیره معده نسبتاً بالا می باشد($5\mu M \sim$)(۱۰). گزارش شده که *هلیکوباکتر پیلوری* به مقدار زیادی رادیکال سوپراکسید ($O^{\circ -}$) تولید می کند که با NO° شیره معده واکنش داده که این واکنش ممکن است در مکانیسمی مشارکت نماید که به *هلیکوباکتر پیلوری* امکان دهد که در برابر NO° شیره معده مقاومت یابد و درواقع عملکرد باکتریسیدال NO° شیره معده را تغییر دهد و بدین طریق امکان رشد و کلونیزه شدن این باکتری در ناحیه آنتروم معده فراهم گردد(۹-۱۵). بنابراین هدف ما از این مطالعه ارتباط عفونت با *هلیکوباکتر پیلوری* برروی کنترل هیپرگلیسمی و اختلالات گوارشی در بیماران دیابتی و گروه های شاهد بود.

روش بررسی

بیماران دیابتی مراجعه کننده به کلینیک فوق تخصصی غدد و متابولیسم مرکز آموزشی درمانی سینا تبریز که دارای علائم گوارشی بودند، توسط پزشک فوق تخصص اندوکرینولوژی شناسایی و جهت بررسی و آندوسکوپی به بخش آندوسکوپی مرکز آموزشی درمانی امام رضا (ع) ارجاع شدند. در مطالعه حاضر بیماران دیابتی در دو گروه جداگانه در قالب یک گروه، بیماران دیابتی تیپ ۱ و بیماران دیابتی تیپ ۲ بررسی شدند و هر گروه نیز با گروه شاهد خود از نظر سن، جنس، سابقه بیماری و سطح درآمد همسان شدند. بدین صورت که ۶۰ بیمار دیابتی آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* (۲۸ نفر مرد و ۳۲ نفر زن) با میانگین سنی ۱۲/۹۵±۳۹/۵۲ سال به عنوان گروه مورد و ۶۰ بیمار دیابتی غیرآلوده (۲۹ نفر مرد و ۳۱ نفر زن) با میانگین سنی۸/۶۴±۴۱/۲۷ سال به عنوان گروه

شاهد یک انتخاب شدند. از میان افراد مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی نیز ۶۰ فرد سالم و غیرآلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* (۳۰ نفر مرد و ۳۰ نفر زن) با میانگین سنی ۱۵/۳۳±۳۴/۸۷ به عنوان گروه شاهد دو انتخاب شدند. پس از ارجاع، توسط پزشک متخصص گوارش از این بیماران آندوسکوپی به عمل آمد و سه نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم معده، ۲ سانتیمتر مانده به پیلور و یک نمونه شیره معده و یک نمونه خون در ویال های حاوی ماده ضد انعقاد گرفته شد بیماران غیردیابتی و غیرآلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* که با علائم سوء هاضمه به بخش آندوسکوپی مراجعه نموده بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. یک نمونه بیوپسی جهت تست اوره آز سریع و یک نمونه بیوپسی دیگر جهت بررسی پاتولوژیکی و وجود گاستریت مزمن فعال و نیز وجود و یا عدم وجود *هلیکوباکتر پیلوری* به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال شد. در صورتی آلودگی به *هلیکوباکتر پیلوری* مثبت تلقی شد که هر سه مورد (اوره آز ، وجود باکتری در نمونه پاتولوژی و وجود گاستریت مزمن فعال) مثبت شدند. با توجه به منابع موجود، روش استفاده از بیوپسی جهت تشخیص قطعی سوء هاضمه و آلودگی به *هلیکوباکتر پیلوری*(یعنی تست سریع اوره آز ، وجـود گاسـتریت مـزمن فـعال و وجود باکتری در آنتروم معده) یک روش استاندارد طلائی می باشد، لذا از این روش استفاده گردید.نمونه بیوپسی سوم بعد از هموژنیزه شدن توسط دستگاه هموژنایزر، جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز توسط کیت راندوکس به روش رنگ سنجی مورد استفاده قرار گرفت (۱۶،۱۵). نتایج فعالیت آنزیم ها برحسب میلی گرم پروتئین نمونه های بیوپسی گزارش گردید(۱۸،۱۷). برای آزمایش HbA1C از نمونه خون تام به روش کروماتوگرافی تعویض یونی توسط کیت بیوسیستم استفاده گردید (۱۹) و از شیره معده بیماران برای سنجش میزان رادیکال NO به روش رنگ سنجی گریس استفاده شد (۲۰-۲۲). میانگین متغیر مورد بررسی در هر گروه جداگانه مشخص و توسط آنالیز واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) و مقایسه های چندگانه (یعنی Tukey HSD) با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ مقایسه شدند. در این آزمون ها $p < ۰/۰۵$ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

مـیانگین سنـی گروه های شـاهد یک و دو با گروه مـورد از نظر آماری تـفاوت معنـی داری نـداشـت(گروه شاهد یک با گروه مورد۰/۳۸۶ =p و گروه شاهد دو با گروه مورد ۰/۰۷۵ = p).

جدول ۱- اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین سنی در دو گروه کنترل یک و گروه مورد

سن	n	Mean ±SD (سال)	t	P value	CI٪۹۵
گروه کنترل یک	۶۰	۴۱/۲۷±۸/۶۴			
گروه مورد	۶۰	۳۹/۵۲±۱۲/۹۵	۰/۸۷۰	۰/۳۸۶	از ۲/۲۳- تا ۵/۷۳

جدول۲- اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین سنی در دو گروه کنترل دو و گروه مورد

سن	n	Mean ±SD (سال)	t	P value	CI٪۹۵
گروه کنترل دو	۶۰	۳٤/۸۷±۱۵/۳۳			
گروه مورد	۶۰	۳۹/۵۲±۱۲/۹۵	-۱/۷۹۵	۰/۰۷۵	از ۹/۷۸- تا ۰/٤۸

جدول ۳- اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین سطوح نیتریک اکسید شیره معده، هموگلوبین گلیکوزیله خون و فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بافت معده درسه گروه مورد مطالعه

گروهها / فاکتورهای مورد بررسی	n	نیتریک اکساید Mean ± SD (μM/L)	هموگلوبین گلیکوزیله Mean ± SD (٪)	فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز Mean ± SD (U/mgProtein)	فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز Mean ±SD (U/mgProtein)	p-Value
گروه کنترل یک(افراد غیردیابتی و غیرآلوده به هلیکوباکترپیلوری)	۲۰	۵/۲۲ ± ۰/۱۷۵	۵/۲۵ ±۰/۲۶	۶/۰۷ ± ۰/۵۸	۸/۴۰± ۱/۱۳	
گروه کنترل دو(بیماران دیابتی و غیرآلوده به هلیکوباکترپیلوری)	۲۰	٤/۲۱ ± ۰/۱۷۵	۷/۲۶ ± ۰/۲۶	۶/۲۷ ± ۰/۵۸	۷/۷۱± ۱/۱۳	< ۰/۰۰۰۱
گروه مورد(بیماران دیابتی و آلوده به هلیکوباکترپیلوری)	۲۰	۱/٤۵ ± ۰/۱۷۵	۱۰/۵۸ ± ۰/۲۶	*۱۵/۰۳ ± ۰/۵۸*	۱۹/۷۹ ± ۱/۱۳	

با استفاده از مقایسه های چندگانه (یعنی آزمون Tukey HSD) مشخص گردید که میزان نیتریک اکساید شیره معده در گروه کنترل اول با گروه کنترل دوم وگروه مورد و همچنین گروه کنترل دوم با گروه مورد از نظر آماری تفاوت معنی داری دارند. در بیماران دیابتی و آلوده به *هلیکوباکترپیلوری* (گروه مورد) میزان درصد هموگلوبین گلیکوزیله به طور معنی داری با دو گروه کنترل (بیماران دیابتی غیرآلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* و افراد غیردیابتی و غیرآلوده به *هلیکوباکترپیلوری*) اختلاف داشت و افزایش قابل توجهی نشان داد. در بیماران دیابتی و آلوده به *هلیکوباکترپیلوری*(گروه مورد) میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز درموکوس معده به طور معنی داری زیادتر از افراد دو گروه کنترل یک و دو بود. اما بین دو گروه شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نگردید.

بحث

هلیکوباکتر پیلوری یکی از شایع ترین دلایل عفونت مزمن در جهان می باشد. دراین مطالعه در نظر گرفته شد که آلودگی با *هلیکوباکتر پیلوری* ممکن است در بیماران دیابتی برروی تنظیم قند خون به واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو توسط این باکتری تاثیرگذار باشد (۳،۱). در بیماران دیابتی که از نظر متابولیکی تنظیم نشده اند، شیوع *هلیکوباکتر پیلوری* نسبتاً بالاست. در سال های اخیر، نتایج بسیار متناقضی در مطالعات برخی از محققان درباره ارتباط بین آلودگی به *هلیکوباکتر پیلوری* و دیابت ملیتوس گزارش شده است. در مطالعه Sargyn و همکاران این ارتباط تایید شده است(۳) اما Xia و همکاران نتوانستند هیچ رابطه ای بین عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* و تنظیم گلیسمی پیدا کنند (۵). دراین مطالعه تفاوت معنی داری بین سطوح خونی هموگلوبین گلیکوزیله در بیماران دیابتی آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* و دو گروه تنظیم به دست آوردیم. این نتایج نشان می دهد که شاهد هیپرگلیسمی در بیماران آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* به آسانی بیمارانی که آلوده نمی باشند، نیست (۱). حدود ۹۰ درصد از دلایل ایجاد اختلالات گوارشی مربوط به *هلیکوباکتر پیلوری* می باشد. در تمامی موارد، این آلودگی می تواند باعث التهاب معده و افزایش ورم معده شود که بعنوان یک عامل خطر برای ایجاد زخم معده و اثنی عشر، آدنوکارسینومای دیستال معده و تحریک پرولیفراسیون معده در نظر گرفته می شود(۲۴،۲۳). توصیه شده است که این آلودگی پس از تشخیص، بلافاصله تحت درمان قرار گیرد. (۲۵،۹). برخی از باکتری ها از جمله *هلیکوباکتر پیلوری* برای مقابله با اثرات کشنده نیتریک اکسید، مکانیسم های تدافعی در برابر این رادیکال گازی به کار می برند. Gobert و همکاران (۲۵) اشاره کرده اند که آنزیم آرژیناز با آنزیم نیتریک اکسید سینتاز پستانداران برای سوبسترای مشترک L- آرژینین رقابت می کنند، که اسیدآمینه ضروری برای

رشد باکتری ها می باشد. بنابراین آنزیم آرژیناز می تواند تولید نیتریک اکسید را تنظیم و اثرات بیولوژیک این رادیکال گازی را در شیره معده در خنثی نماید. در مطالعه حاضر، میزان بسیار پایین نیتریک اکسید شیره معده بیماران مبتلا به *هلیکوباکتر پیلوری*، به ویژه بیمارانی که علاوه بر آلودگی مبتلا به دیابت ملیتوس بودند، دیده شد،که با نتایج برخی از مطالعات مطابقت دارد (۲۶،۲۵،۶). دیابت موجب آسیب به اندوتلیال و اختلالات عروقی می شود (۲۷) که ممکن است در نتیجه افزایش فشار خون ناشی از عدم تنظیم ژن کد کننده ایزوفرم اندوتلیالی نیتریک اکسید سینتاز باشد. در نتیجه باعث کاهش سنتز رادیکال نیتریک اکسید در بیماران دیابتی شود. دراین مطالعه سطوح بسیار پایین نیتریک اکسید شیره معده در گروه مورد با نتایج مطالعات Gobert و همکاران(۲۶) Condellic (۱)، Gonzalez و همکاران (۲۸) مطابقت داشت. نتایج این مطالعه و سایر مطالعات بیانگر این است که *هلیکوباکتر پیلوری* این قابلیت را دارد که میزان نیتریک اکسید شیره معده را کاهش داده و بطور موفقیت آمیزی در مخاط معده ساکن شود. غلظت بسیار کم نیتریک اکسید شیره معده در بیماران دیابتی باعث می شود که یک محیط بسیار ایده آل برای *هلیکوباکتر پیلوری* ایجاد شود. یکی دیگر از عوامل سمی بالقوه که باعث تحریک موکوس معده توسط هلیکوباکتر پیلوری در معده می شود، تولید رادیکال های سمی اکسیژن توسط نوتروفیل های فعال شده توسط این باکتری می باشد که یک واکنش شیمیوتاکسی برای مقابله با *هلیکوباکترپیلوری* می باشد(۲۹). التهاب های ناشی از تهاجم *هلیکوباکتر پیلوری* باعث تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) می شود که تعادل ظرفیت تام آنتی اکسیدانی را در بافت معده به هم زده و در نتیجه سلول های بیشتری آسیب می بینند (۳۱،۳۰). از طرف دیگر *هلیکوباکتر پیلوری* مقادیر قابل توجهی رادیکال سوپراکسید تولید می کند که با نیتریک اکسید شیره معده مقابله نماید که در نتیجه با واکنش متقابل رادیکال سوپراکسید با نیتریک اکسید، رادیکال بسیار سمی پراکسی نیتریل تولید خواهد شد (۳۲). به طور معمول رادیکال های آزاد توسط سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی از بافت های مختلف بدن حذف می شوند. از مهمترین سیستم های آنتی اکسیدانی آنزیمی دو آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) می باشند(۳۴،۳۵). در این مطالعه ، فعالیت بسیار بالای هر دوی این آنزیم ها در مخاط معده هر دو گروه بیماران آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* مشاهده شد و این افزایش در گروه بیماران دیابتی بسیار بیشتر بود. این نتایج حاکی از آن دارد که دو آنزیم SOD و GPX به عنوان یک آنتی اکسیدان علیه گونه های فعال اکسیژن نقش بازی می کنند و تولید این گونه های فعال در افراد دیابتی بسیار بیشتر از افراد غیر دیابتی آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* می باشد(۳۵،۳۴). گزارش های که در مورد اثرات *هلیکوباکتر پیلوری* روی فعالیت آنزیم های SOD و GPX در مخاط معده منتشر شده است، بسیار متضاد می باشد (۳۴،۳۳،۳۱) که ممکن است این عدم تطابق در نتایج به دلیل تفاوت در گونه های باکتری و طول مدت آلودگی باشد. در این مطالعه ، فعالیت افزایش یافته این آنزیم ها در مخاط معده افراد آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری*، بسیار محتمل است در نتیجه افزایش بیان این آنزیم ها بوسیله گونه های فعال اکسیژن مشتق شده از ماکروفاژهای فعال شده توسط *هلیکوباکتر پیلوری* در مخاط معده (۳۵) و یا آنزیم های رها شده از سلول های مخاط معده آسیب دیده باشد (۳۱).

مشابه نتایج سایر مطالعات، افزایش هم زمان در فعالیت هر دوی این آنزیم ها در کلیه بیماران آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* وجود داشت. فعالیت بالای آنزیم های آنتی اکسیدانی در شیره معده یا مخاط معده در بیماران دیابتی آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* ممکن است نشان دهنده تولید بیشتری از گونه های فعال اکسیژن در این بیماران باشد.

نتیجه گیری

نتایج حاصله از این مطالعه نشان می دهد که سطوح بالایی از هموگلوبین گلیکوزیله در بیماران دیابتی مبتلا به آلودگی *هلیکوباکتر پیلوری* در مقایسه با گروه شاهد که آلوده به این باکتری نبودند، دیده می شود و فعالیت بالای آنزیم های آنتی اکسیدان در گروه مورد ممکن است

نشان دهنده تولید بسیار بالایی از گونه های فعال اکسیژن را نشان داده و وجود حالت استرس اکسیداتیو را در این بیماران تایید نماید. بنابراین، به منظور کاهش استرس اکسیداتیو و شاهد مناسب میزان گلوکز خون با استفاده از شاخص هموگلوبین گلیکوزیله، درمان ریشه کنی هلیکوباکترپیلوری در بیماران دیابتی از روش های درمانی بسیار مهم و ضروری می باشد.

تشکر و قدردانی

بـدین وسـیله از کلیه همـکاران بخش آندوسکوپی مرکز آمـوزشی، درمـانی و تحقیقاتی امام رضا (ع)، بخش آندوسکوپی مرکز آموزشی درمانی سینا و گروه بیوشیمی و آزمایشگاه های بالینی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز خصوصـاً آقایان پروفسور مـحمد نوری و مقصود شاکرکه ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، نهایت تقدیر و سپاس را داریم. همچنین بدینـوسیله یاد اسـتاد بزرگـوار مرحوم پروفسور دکتر محمد رهبانی نوبر که راهنمایی های ارزنده این عزیز از دست رفته چراغ راه ما در انجام این تحقیق بود را گرامی میداریم.

References

1. Candelli M, Rigante D, Marietti G, Nista EC, Crea F, Bartolozzi F, et al. *Helicobacter Pylori, gastrointestinal symptom and metabolic control in young type I diabetes mellitus patients.* Pediatrics. 2003; 111(4): 800-803.

2. De Block CE, De Leeuw IH, Pelckmans PA, Callens D, Máday E, Van Gaal LF. *Delayed gastric empting and gastric autoimmunity in type I diabetes.* Diabetes Care. 2002; 25(5): 912-917.

3. Sargýn M, Uygur-Bayramicli O, Sargýn H, Orbay E, Yavuzer D, Yayla A. *Type 2 diabetes mellitus affects eradication rat of H.Pylori.* World J Gastroenterol. 2003; 9(5): 1126-1128.

4. Zelenková J, Soucková A, Kvapil M, Soucek A, Vejvalka J, Segethová J. *H. Pylori and diabetes mellitus.* Casopis Lekaru Ceskych. 2002; 141(18): 575-577.

5. Xia HHX, Talley NJ, Kam EPY, Young LJ, Hammer J, Horowitz M. *H. Pylori infection is not associated with diabetes mellitus, or with upper gastrointestinal symptoms in diabetes mellitus.* Am J Gastroenterol. 2001; 96(4): 1039-1049.

6. Bayraktutan U. *Free radicals, diabetes and endothelial dysfunction.* Diabetes, Obesity and Metabolism. 2002; 4(4): 224-233.

7. Inoue M, Nishikawa M, Sato EF, Ah-Mee P, Kashiba M, Takahara Y and Utsumi K. *Cross-talk of NO, super oxide and molecular oxygen, a majesty of aerobic life.* Free Radical Res. 1999; 31(4): 251-260.

8. Takahara Y, Nakahar H, Okada S, Yamaoka K, Hamazaki K, Yamazato A, Inoue M, Utsumi K. *Oxygen concentration regulates NO-dependent relaxation of aortic smooth muscles.* Free Radical Res. 1999; 30(4): 287-294.

9. Ansari M, Rahbani-Nobar M, Dolatkhah H, Fattahi E, Aghazade AM, Mojtabaii-Motlag S. *Comparison of levels of nitric oxide, superoxide dismutase and glutathione peroxidase of gastric juice in infected and non-infected patients with Helicobacter Pylori.* Acta Medica Iranica. 2006; 44(3): 159-166.

10. Brown JF, Tepperman BL, Hanson PJ, Whittle BJR, Moncada S. *Differential distribution of nitric oxide synthase between cell fractions isolated from the Rat gastric mucosa.* Biochem biophys Res. 1992; 184(2): 680-685.

11. Calatayud S, Barrachine D, Esplugues JV. *Nitric oxide: relation to integrity, injury and healing of gasteric mucosa.* Microse Res Tech. 2001; 53(5): 325-335.

12. Park AM, Nagata K, Sato EF, Tamura T, Shimono K and Inoue M. *Mechanism of strong resistance of H. Pylori respiration it nitric oxide.* Archive of Biochemistry and Biophysics. 2003; 411(1): 129-135.

13. Nagata K, Yu H, Nishikawa M, Kashiba M, Nakamura A, Sato EF, Tamura T and Inoue M. *H. Pylori generate super oxide radicals and modulates nitric oxide metabolism.* J Biol Chem. 1998; 273(23): 14071-14073.

14. Nakamura A, Park AM, Nagata K, Sato EF, Kashiba M, Tamura T, Inoue M. *Oxidative cellular damage associated with transformation of H. Pylori from a bacillary to a coccoid form.* Free Radical Biol. 2000; 28(11): 1611-1618.

15. Gotz JM, Van Kan CI, Verspaget HW, Biemond I, Lamers CB and Veenendaal RA. *Gastric mucosal superoxide dismutases in H.Pylori infection.* Gut. 1996; 38(4): 502-506.

16. Paglia DE and Valentine WN. *Studies on the quantitative and qualitative charachtristication of erythrocyte GPX.* J Lab Clin Med. 1967; 70: 158.

17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall. *The original method.* J Biol Chem. 1951; 193: 265-275.

18. Bensadoun A, Weinstein D. *Another useful modification of the original Lowry method that can be useful when the solution contains interfering contaminants.* Anal Biochem. 1976; 70: 241-248.

19. Moiz B, Hashmi M R and Sadaf S. *Performance evaluation of ion exchange and affinity chromatography for HBA_{1c} estimation in diabetic patients with HbD: A study of 129 samples.* doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.06.015.

20. Green LC, Wagner DA, Glogowski J and et al. *Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids*. Anal Biochem. 1982; 126: 131-138.

21. Sun J, Zhang X, Broderick M and Fein H. *Measurment of nitric oxide production in biological systems by using Griess Reaction Assay.* Sensors. 2003; 3(8): 276-284.

22. Nims RW, Darbyshire JF, Saavedra JE, Christodoulou D, Hanbauer I, Cox GW, et al. *Colorimetric method for the determination of nitric oxide concentration in neutral aqueous solutions*. Methods. 1995; **7**(1): 48-54.

23. Dunn B E, Cohen H and Blaser MJ. *Epidemiology of H.Pylori infection.* Clinical Microbiology Reviews. 1997; 10: 702-741.

24. Kidd M, Modlin IM. *A century of Helicobacter pylori. Pardigms lost - paradigms regained*. Digestion. 1998; 59(1): 1-15.

25. Gobert AP, McGee DJ, Akhtar M, Mendz GL, Newton JC, Cheng Y, et al. *H. Pylori arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: A strategy for bacterial survival.* PNAS. 2001; 24(98): 13844-13849.

26. Gobert AP, Daulouede S, Lepoivre M, Boucher JL, Bouteille B, Buguet A, Cespuglio F, Veyret B, Vincendean P. *L-Arginine availability modulates local nitric oxide production and parasite killing in experimental trypanosomiasis.* Infect Immun. 2000; 68(8): 4653-7.

27. Hamed SA, Amine NF, Galal GM, Helal SR, Tag El-Din LM, Shawky OA, et al. *Vascular risks and complications in diabetes Mellitus: The role of Helicobacter Pylori infection.* Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. 2008; 17(2): 86-94.

28. Gonzalez D, Isales A, Del Mar Abad-Hernandez CM, Gonzalez-Sarmiento M, Sangueza R, Rodriguez-Commes O. *Expression of inducoble nitric oxide synthase in breast cancer correlates with metastatic disease.* Mod Pathol. 1997; 10(7): 645-649.

29. Gobert AP, Cheng Y, Wang JY, Boucher JL, Iyer RK, Cederbaum SD, et al. *Helicobacter Pylori induces macrophage apoptosis by activation of arginase II.* The Journal of Immunology, 168: 4692-4700, 2002.

30. Naito Y, Yoshikawa T. *Molecular and cellular mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced inflammation and oxidative stress.* Free Radical Biol Med. 2002; 33(3): 323-336.

31. Suzuki H, Miura S, Imaeda H, Suzuki M, Han JY, Mori M, et al. *Enhanced levels of chemiluminescence and platelet activating factor in urease-positive gastri c ulcer.* Free Radic Biol Med. 1996; 20(3): 449-454.

32. Olczak AA, Olson JW, Maier RJ. *Oxidative – stress resistance mutants of Helicobacter Pylori.* J Bacteriol. 2002; 184(12): 3186-3193.

33. Noguchi K, Kato K, Moriya T, Suzuki T, Saito M, Kikuchi T, et al. *Analysis of cell damage in H. Pylori associated gastritis.* Pathology International. 2002; 52(2): 110-118.

32. Olczak AA, Olson JW, Maier RJ. *Oxidative-stress resistance mutants of Helicobacter Pylori.* J Bacteriol. 2002; 184(12): 3186-3193.

33. Noguchi K, Kato K, Moriya T, Suzuki T, Saito M, Kikuchi T, et al. *Analysis of cell damage in H. Pylori associated gastritis.* Pathology International. 2002; 52(2): 110-118.

34. Rumley AG, Paterson JP. *Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry.* Ann Clin Biochem. 1998; 35: 181-200.

35. Shirin H, Pinto JT, Liu LU, Merzianu M, Sordillo EM, Moss SF. *Helicobacter pylori decreases gastric mucosal glutathione*. Cancer Lett. 2001; 164(2): 127-133.

36. Ueda IP, Miyata T, Hashimoto T, Yamada H, Izuhara Y, Sakai H, et al. *Implication of altered Redox regulation by antioxidant enzymes in the increased plasma pentosidine and advanced glycation end product in uremia.* Biochem & Biophys Res Commun. 1998; 245(3): 785-790.

37. Jung HK, Lee KE, Chu SH, Yi SY. *Reactive oxygen species activity, mucosal lipoperoxidation and glutathione in H. Pylori infected gastric mucosa*. J Gastro Hepatology. 2001; 16(12): 1336-1340.

38. Felley CP, Pignatelli B, Van Melle GD, Crabtree JE, Stolte M, Diezi J, et al. *Oxidative stress in gastric mucosa of asymptomatic humans infected with H.Pylori: Effect of bacterial eradication.* Blackwell Sci Ltd Helicobacter. 2002; 6(7): 342-348.

Glycated Hemoglobin, Gastric Juice Nitric Oxide and Oxidative Stress in Diabetic Patients Infected by *Helicobacter pylori*

Movahedian, A. (PhD)
Professor of Clinical Biochemistry, Pharmaceutical Sciences Research Centre, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Puramini, N. (BSc)
BSc of Nursing, Sina Hospital Educational Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Bordbar-Bonab, S. (BSc)
BSc of Genetic, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ahar Branch, Iran

Fattahi, E. (MD)
Professor of Liver and Gastrointestinal Diseases, Tabriz Gastrointestinal and Liver Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Mirza-Aghazadeh, A. (PhD)
Assistant Professor of Statistics, Dept. of Basic Sciences, Faculty of Para Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Bahrami, A. (MD)
Professor of Endocrinology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Fattahi, SH. (MD)
Assistant Professor of Pathology, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Dolatkhah, H. (MSc)
PhD Student of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Dolatkhah, H.

Email: dolatkhahh@gmail.com

Received: 31 Aug 2013
Revised: 9 May 2014
Accepted: 10 May 2014

Abstract

Background and Objective: Recently, diabetes mellitus has been known as one of the main cause of upper gastrointestinal symptoms. Since a high prevalence of *H. pylori* in diabetic patients has been reported, we aimed to evaluate the level of gastric juice Nitric Oxide (NO°), Oxidative Stress and Glycated Hemoglobin.

Material and Methods: In case group, the participants were 60 diabetic patients infected with *H. pylori*, and in control groups 60 diabetic patients without *H. pylori* and 60 healthy individuals. The level of NO° in gastric juice was measured calorimetrically and the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) in gastric biopsy was determined using standard methods. The percentage of Glycated Hemoglobin *(HbA1C*) was measured by ion exchange chromatography.

Results: In case group compared to controls, significantly increased level of blood HbA1C, nitric oxide in gastric juice, activity of SOD and GPX in the gastric mucosa were observed ($p<0.0001$).

Conclusion: A significant increase of glycated hemoglobin in diabetic patients with *H. pylori* and high activity of antioxidant enzymes in the case group may indicate a high production of reactive oxygen species and the presence of oxidative stress in these patients.

Key Words: Diabetes Mellitus, *H. pylori* Infection, Glycated Hb, Nitric Oxide, Oxidative Stress

This paper should be cited as: Movahedian A, Puramini N, Bordbar-Bonab S, Fattahi E, Mirza-Aghazadeh A, Bahrami A, Fattahi SH, Dolatkhah H. [Glycated Hemoglobin, Gastric Juice Nitric Oxide and Oxidative Stress in Diabetic Patients Infected by *Helicobacter pylori*]. mljgoums. 2015; 8(5): 70-77[Article in Persian]