
МЕДИКО–БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ

УДК: 616.342–002.44–022:616.985

РОЛЬ ВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ *HELICOBACTER PYLORI* В ФОРМИРОВАНИИ ОСЛОЖНЕНИЙ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

А.С. Сарсенбаева
e-mail: svetlana.vl@list.ru

Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования,
г. Челябинск, Россия

Статья поступила 1 июня 2005 г.

Введение

Анализ причин и факторов риска развития осложненного течения является принципиально важным направлением в изучении язвенной болезни (ЯБ). В свете современных концепций развития осложнений наибольший интерес представляет анализ агрессивной роли *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) — одной из наиболее часто встречающейся хронической инфекции человека [1, 6, 7, 15]. В последние десятилетия исследования возбудителей инфекций из рода *Helicobacter* в основном концентрировались на *H. pylori*. Тем не менее в течение этого периода было выделено несколько новых видов рода *H. pylori*, в основном от животных. Ни для одного из них не доказано причинной связи с заболеваниями, за исключением случаев септицемии [15]. Связь между ЯБ и *H. pylori* обосновывается тем, что, во-первых, у 95% пациентов с ЯБ были выявлены эти микроорганизмы, во вторых, при устранении *H. pylori* отмечается улучшение в клиническом течении ЯБ [3, 12, 13, 16].

H. pylori — единственный микроорганизм, у которого изучены и опубликованы две полные последовательности генома. Геном *H. pylori* содержит около 1600 генов, из которых 10 % предполагаются жизненно необходимыми. Существует ряд генов, продукты которых — белки *CagA*, *VacA*, *IceA*, *BabA*. — полагают факторами патогенности. Гены *H. pylori*, ассоциированные с цитотоксином А или островка патогенности *cag*, кодируют белки особой секреторной системы, функция которой состоит в доставке эффекторных молекул микроба в клетки макроорганизма. Они позволяют *H. pylori* модулировать метаболизм эпителиоцитов слизистой оболочки желудка, включая и экспрессию протоонкогенов. Инициированные *H. pylori* процессы фосфорилирования внутри эпителиоцитов приводят к изменению их цитоскелета и как следствие — к морфологическим изменениям клеток, а в ряде случаев к их гибели [4, 6].

Вопрос о том, что предопределяет развитие осложненных форм заболевания, является наиболее сложным и до настоящего времени не решен. Большинство авторов высказывает предположение, что характер течения заболевания зависит от внутривидового разнообразия штаммов *H. pylori*, степени обсемененности *H. pylori* СО желудка [7], а также от генетических особенностей макроорганизма, состояния его иммунной системы и ряда других факторов (курение, диета и пр.) [2, 7].

Цель настоящего исследования — анализ роли вирулентных штаммов *H. pylori* в формировании осложненных форм ЯБДК.

Методика исследования

Обследовано 93 больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) в фазе обострения. Больных с ЯБДК, осложненной кровотечением было 59 человек, неосложненного течения — 34. В группу исследования были включены только мужчины. Средний возраст больных с осложненным течением ЯБДК составил $40,8 \pm 3,54$ года. Больные с неосложненным течением ЯБДК были сопоставимы по возрасту ($41,3 \pm 4,79$ года) и длительности заболевания с основной группой. В 13 % случаев ЯБДК манифестировала с осложнения в виде кровотечения.

Всем больным проводилось комплексное общеклиническое лабораторное и инструментальное исследование. Пациентам проводилось эндоскопическое исследование с прицельной биопсией в 2 точках из СО антрального отдела желудка и в 2 точках из тела желудка. Для выявления *H. pylori* применялся гистологический метод и метод ПЦР. Степень обсемененности СО желудка *H. pylori* оценивали по критериям Л.И. Аруин с соавт. [2]. ДНК *H. pylori* в биоптатах определяли наборами реагентов «Хеликопол» НПФ «Литех» (Россия). Амплификацию проводили в программируемом термостате для проведения ПЦР — анализа ТПЧ–ПЦР–01–«Терцик». После 40 циклов продукты амплификации идентифицировали в 1,5 % агарозном геле в присутствии бромистого этидия со смесями праймеров CagA, VacA, IceA, BabA.

Достоверность различий оценивали по критерию Пирсона (χ^2), достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Роль факторов риска ЯБДК в развитии осложнений оценивали по показателю относительного риска *RR* (отношения шансов). Значение *RR* > 1 указывало на повышенный риск развития осложнений при воздействии фактора.

Результаты и их обсуждение

Исходя из современной концепции этиологии и патогенеза ЯБ, постулирующей принципиальное значение микробной агрессии в инициации язвенного процесса, представляет особый интерес изучение роли *H. pylori* в развитии осложнений.

При осложненном течении ЯБДК инфекция *H. pylori* гистологическим методом выявлена в 92% случаев, при неосложненном в 88,3 %. В структуре обсемененности при осложненном течении дуоденальных язв достоверно преобладали случаи с высокой степенью обсемененности *H. pylori* — 73,5% (*RR*=9,4; $\chi^2=14,76$; $p<0,001$), в то время как у больных без осложнений преобладали случаи слабой степени обсемененности *H. pylori* — 70,6 %.

При помощи метода ПЦР положительный результат на ДНК *H. pylori* из биоптатов желудка у больных ЯБДК в обеих группах получен в 100 %.

У 93 % больных ЯБ ДК осложненного течения выделены вирулентные штаммы *H. pylori* (табл.). В группе больных с ЯБ ДК без осложнений вирулентные штаммы выявлены в 36 % (*RR*=3,0, $\chi^2=14,96$; $p<0,001$) и были представлены VacA (vacuolating-associated cytotoxin) геном (генотип m2) с исходно незначительной токсической активностью [6].

Распределение вирулентных генотипов *H. pylori*
у больных ЯБДК по результатам ПЦР

Варианты генотипов <i>H. pylori</i>	ЯБДК с осложнениями, (%)	ЯБДК без осложнений, (%)
CagA	—	—
VacA m2	—	36
VacA s1/s2	36	—
VacA s1/s2+ m1+m2	20	—
VacA s1/s2 + m2	12	—
VacA s1/s2+ CagA	7	—
VacA s1/s2 + iceA2	11	—
VacA m1 + CagA + iceA2	7	—
BabA	—	—

Вирулентные штаммы в группе осложненного течения болезни в 100 % были VacA-положительными, а в 25 % была выявлена комбинация генов VacA, CagA (cytotoxin-associated gene) Ice A (induced by contact with epithelium).

Опыты, проведенные *in vitro*, показывают, что под действием вакуолизирующего токсина эпителиоциты погибают в течение 2 дней. Действуя на АТФазу V-типа, vacA создает кислую среду внутри вакуолей и тем самым обеспечивает поступление из внутриклеточного пространства внутрь вакуолей различных веществ (аммиак и др.), которые накапливаются внутри вакуоли. Протонируясь, указанные вещества притягивают воду и вакуоли набухают. Вакуоли, сливаясь друг с другом, приводят к разрыву клеточной мембраны и разрушению клетки [11].

VacA-положительные штаммы имели вариабельные участки гена (VacA s регион и VacA m регион), с помощью которого можно идентифицировать аллельные типы.

У всех VacA — положительных штаммов в группе с осложнениями идентифицирован s1/s2 субтип. Особую значимость представляют данные о том, что большинство штаммов *H. pylori* с генотипом VacA s1 также имеют островок патогенности *cag*, что позволяет его расценивать как суррогатный маркер островка патогенности [4]. При осложнениях ЯБДК у всех больных регистрировались смешанные генотипы с мозаичной структурой гена, что по данным некоторых исследователей, характеризует высокий и средний уровень секреции цитотоксина, более выраженное воспаление, повреждение эпителиальных клеток желудка и активность гастрита [1, 4]. По данным литературы самая высокая доля смешанных генотипов в биоптатах по vacA гену составляет 50 %, но без учета клинического варианта геликобактерной инфекции [8]. Регистрация смешанных генотипов свидетельствует о присутствии более чем одного штамма в клиническом образце. В настоящее время дискуссионным является вопрос об увеличении риска серьезных клинических проявлений при инфицировании смешанной культурой *H. pylori* [6, 14].

В нашем исследовании не установлено какой-либо ассоциации между BabA (blood group antigen-binding adhesin) геном *H. pylori*, другими генами патогенности и клиническими вариантами ЯБДК.

Выявленное значение *H. pylori* в патогенезе ЯБ подтверждает необходимость пересмотра факторов риска ЯБ и ее осложнений. Ранее к факторам риска развития пептической язвы относили семейную предрасположенность, возраст, пол, расу, прием алкоголя, курение, стресс. Однако ни один из перечисленных выше факторов не устоялся как основной в патогенезе пептической язвы и ее осложнений, тогда как роль обнаружения вирулентных штаммов *H. pylori* становится все более очевидной.

Заключение

В результате проведенного исследования установлено принципиальное значение для формирования осложнения ЯБДК фактора вирулентности *H. pylori*. При осложненном течении ЯБДК достоверно чаще, чем при неосложненном варианте в биоптатах из СО антрального отдела желудка выявлялись вирулентные штаммы *H. pylori* (93 % против 36 %, $RR=3,0$, $p<0,001$). Превалирующими вирулентными штаммами при осложненном течении ЯБДК были VacA-положительные штаммы с s1/s2 субтипом и высокой долей смешанных генотипов по vacA гену.

Список литературы

1. Аруин Л.И. *Helicobacter pylori*: каким образом один возбудитель вызывает разные болезни // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2004. № 1. С. 36—41.
2. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит. Амстердам, 1993. 362 с.
3. Исаев Г.Б. Роль *Helicobacter pylori* в клинике язвенной болезни // Хирургия. 2004. №4. С.64—68.
4. Исаков В.А. Молекулярно-генетические основы патогенности *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. 2002. №6. С. 82—86.
5. Корниенко Е.А. Антонов П.В., Нажиганов О.Н. с соавт. О причинах вариабельности *Helicobacter pylori* — ассоциированных гастродуоденальных заболеваний у детей // Рус. мед. журн. 2003. Т. 11. № 13. С. 782—786.
6. Говорун В.М., Момыналиев К.Т., Смирнова О.В. и др. Современные подходы к молекулярной диагностике и типированию клинических изолятов *Helicobacter pylori* в России // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2002. № 3. С. 57—65.

7. Циммерман Я.С. Хронический гастрит и язвенная болезнь // Очерки клинической гастроэнтерологии. Пермь: Перм. гос. мед. академия, 2000. Вып. 1. 256 с.
8. Covacci A., Falrow S., Berg D. E., Rappuoli R. Did the interitance of a pathogenicity island modify the virulence of *Helicobacter pylori*? // Trends microbial. 1997. Vol. 5. P. 205—208.
9. Dixon M.F. Recent advances in gastritis // Curr. Diagn. Pathol. 1994. № 1. P. 80—89.
10. Faber K. Chronic gastritis: its relation to achylia and ulcer // Lancet. 1997. Vol. 2. P. 902—907.
11. Figura N. *Helicobacter pylori* exotoxins and gastroduodenal diseases associated with cytotoxic strain infection // Aliment Pharmacol Ther. 1996. Vol. 10. P. 79—96.
12. Graham D.Y. The epidemiology of *Helicobacter pylori* in Peruvian children between 6 and 30 months of age // American J. Gastroenterol. 1995. Vol. 89. № 12. P. 2196—2200.
13. Graham D.Y. *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer: a model // Gastroenterology. 1997. Vol. 113. P. 1983—1991.
14. Graham J. E., Peek R. M., Uma Krishna, and Timothy L. Cover. Global analysis of *Helicobacter pylori* Gene Expression in Human gastric mucosa // Gastroenterology. 2002. Vol. 123. P. 1637—1648
15. Henriksson A.E., Edman A.C., Nilsson I. *Helicobacter pylori* and the relation to other risk factors in patients with acute bleeding peptic ulcer // Scand. J. Gastroenterol. 1998. Vol. 33, № 10. P. 1030—1033.
16. Sonnenberg A., Townsend W.F. Costs of duodenal ulcer therapy with antibiotics // Arch. Intern. Med. 1987. Vol. 155. P. 922—928.