



А.А. Нижевич¹, Э.Н. Ахмадеева¹, Е.С. Кучина¹, М.М. Туйгунов², В.У. Сатаев³

РЕГИОНАЛЬНЫЕ ГЕНОТИПЫ *HELICOBACTER PYLORI* СРЕДИ ДЕТЕЙ С ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Башкирский государственный медицинский университет

¹*Кафедра госпитальной педиатрии*

²*Кафедра микробиологии*

³*Кафедра детской хирургии с курсом ИПО*

Республика Башкортостан, 450000, г. Уфа, ул. Ленина 3. E-mail: pediatr@ufanet.ru

Цель: изучение региональных особенностей распределения генотипов *H. pylori*.

Материалы и методы: были изучены региональные особенности распределения генотипов *H. pylori* (гены Cag A, Vac A, Ice A, Bab A2) в клинических изолятах *H. pylori*, полученных от 91 пациента детского возраста (средний возраст 14.3 ± 1.6 лет), страдающих гастродуоденальной патологией, в Республике Башкортостан.

Результаты: маркер островка патогенности Cag A был выявлен у 42 пациентов (46.1%), Bab A2 - у 31 (34%), Vac A генотип S1 - у 59 (64.8%) и S2 - у 32 (35.2%), Ice A1 - у 72 (79.1%), Ice A2 - у 19 (20.9%).

Заключение: Среди пациентов с язвенной болезнью чаще встречались штаммы *H. pylori* позитивные по комбинации Cag A / Vac AS1 / Bab A2 генам.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, Cag A, Vac A, Bab A2, язвенная болезнь.

A.A. Nijevitch¹, E.N. Akhmadeeva¹, E.S. Kuchina¹, M.M. Tuygunov², V.U. Sataev³

REGIONAL GENOTYPES OF *HELICOBACTER PYLORI* IN CHILDREN WITH GASTRODUODENAL PATHOLOGY IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

Bashkirian State Medical University,

¹*Hospital Pediatrics Department*

²*Department of Microbiology*

³*Pediatric Surgery Department*

3 Lenina st., Ufa, 450000, Bashkortostan. E-mail: pediatr@ufanet.ru

Purpose: To investigate regional variants of *H. pylori* genotypes.

Materials and methods: Regional variants of *H. pylori* genotypes have been studied (Cag A, Vac A, Ice A, Bab A2) in clinical strains of *H. pylori*, obtained from 91 paediatric patients (mean age 14.3 ± 1.6 years), with gastroduodenal pathology in the Republic of Bashkortostan.

Results: Marker of pathogenicity island Cag A was revealed in 42 patients (46.1%), Bab A2 – in 31 (34%), Vac A genotype S1 – in 59 (64.8%) and S2 – in 32 (35.2%), Ice A1 – in 72 (79.1%), Ice A2 – in 19 (20.9%).

Summary: Among the patients with peptic ulceration, *H. pylori* strains, carrying markers of pathogenicity island Cag A / Vac AS1 in combination with Bab A2 were detected significantly more often.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Cag A, Vac A, Bab A2, peptic ulcer disease



Введение

Нelicobacter pylori (H. pylori) является ведущим этиопатогенетическим фактором возникновения у детей хронического гастрита, хронического дуоденита, язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) и мальтимфомы желудка [1]. H. pylori представляет собой бактерию, превосходно адаптированную к агрессивной среде желудка и защитным механизмам макроорганизма [1]. Хеликобактерии обладают способностью к адгезии к эпителиоцитам желудка, при контакте с которыми индуцируются продукты цитотоксичности (факторы патогенности) и тем самым создаются предпосылки для реализации патогенного потенциала микроорганизма [1, 2]. В геноме бактерии имеются гены, ассоциированные с повышенной вирулентностью H. pylori: Cag A, Vac A, Bab A2 и Ice A гены.

Vac A (vacuolating – associated cytotoxin) ген имеет 2 региона: S (сигнальный) и m (срединный). S и m регионы включают 2 аллельных варианта: S1 и S2 и m1 и m2. Аллельный субтип Vac A S1 m1 продуцирует большое количество цитотоксина, в отличие от Vac A S2 m2 субтипа [2]. Белок, кодируемый геном Cag A (cytotoxin – associated gene), интегрируется непосредственно в эпителиоциты желудка, модулируя экспрессию генов IL – 8, вызывающих выраженные воспалительные изменения в слизистой оболочке желудка [2, 3]. Протеин Bab A, кодируемый Bab A2 геном (blood group antigen – binding adhesin), определяет плотность колонизации H. pylori на эпителиоцитах желудка [2]. Продукт Ice A гена индуцируется непосредственно при контакте бактерии с эпителиоцитом (induced by contact with epithelium) и возможно определяет тяжесть инфильтрации и эпителиальных повреждений слизистой оболочки желудка в некоторых этнических группах [2].

В настоящее время были высказаны обоснованные предположения о связи ряда вирулентных факторов H. pylori с формированием клинического исхода болезни в детском возрасте от гастрита до язвенной болезни [4, 5].

Цель исследования – определение региональных генотипов H. pylori у детей с гастродуоденальной патологией в Республике Башкортостан.

Материалы и методы

Изучаемая группа пациентов включала 91 ребенка в возрасте от 12 до 17 лет (63 девочки, 28 мальчиков, средний возраст 14.3 ± 1.6 лет) с различными формами гастродуоденальной патологии, обратившихся в Республиканскую детскую клиническую больницу г.Уфы с жалобами на хроническое диспепсическое расстройство. Всем указанным детям проводилось эндоскопическое исследование (фиброгастроскоп «Olympus GIF XP 20», Япония) с забором 4 фрагментов биопсийного материала из антрального отдела и тела желудка. Два биопсийных фрагмента были использованы для гистологического исследования, а два других – для выделения культуры H. pylori.

Гистологическое исследование проводилось с использованием окраски гематоксилином и эозином, а также с использованием модифицированной окраски по Giemsa.

Культивирование H. pylori проводилось на агаре «Columbia» с добавлением 5% эритроцитов барана и антибиотиков для подавления контаминантной микрофлоры

(ванкомицин – 10 мг/л, триметоприм – 5 мг/л, амфотерицин В – 10 мг/л). В изучаемую группу были включены только те пациенты, у которых удалось получить культуру H. pylori (n = 91).

Во всех случаях для экстракции и очистки ДНК H. pylori использовался набор реагентов НПО Литех «Хеликопол» (Москва). Для генотипирования штаммов H. pylori в отношении Cag A, Vac A, Ice A и Bab A также использовался набор реагентов НПО Литех (Москва). Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного χ^2 теста.

Результаты

При эндоскопии ЯБДК была выявлена у 39 пациентов (42.8 %), в комбинации с ЯБЖ – у 3 детей (3.3 %). У остальных пациентов был зарегистрирован хронический гастрит (ХГ) с поражением антрального отдела и/или тела желудка.

Cag A – позитивный генотип H. pylori был выявлен у 42 пациентов (46.1%). У 29 из них была выявлена ЯБДК (31.9%), у 2 – ЯБЖ (2%), у остальных – лимфодуоденальный и/или эрозивный вариант ХГ.

Позитивный Vac A генотип был выявлен во всех изолятах, однако значительно чаще выявлялся Vac A S1 субтип Vac A гена – у 59 пациентов (64.8%). В то же время Vac A S2 субтип Vac A гена выявлялся лишь у 32 детей (35.2%). Практически все (100%) Cag A позитивные штаммы (n=42) были позитивны по субтипу Vac A S1. Большинство выделенных референс-штаммов были позитивны по Ice A1 генотипу (n=72; 79.1%), остальные были Ice A2 позитивны (n=19; 20.9%). Подавляющее большинство пациентов, позитивных по Ice A1 фенотипу, принадлежали к группе ХГ (51 ребенок, 56.04%). Ice A2 генотип одинаково часто встречался в обеих клинических группах (10; 10.99% при ХГ, при наличии ЯБ – у 9 детей, 9.89%). Очень интересные данные получены в отношении генотипа Bab A2. Позитивный результат при исследовании выделенных культур по наличию Bab A2 гена был получен в 31 случае (34%). Среди пациентов, выделявших штаммы, позитивные по Bab A2 генотипу, значительная часть также относилась к пациентам с ЯБДК (n=22; 24,1%). В то же время число пациентов с ХГ ассоциированным с выделением Bab A2 гена было значительно меньше (n=9; 9.8%).

В таблице 1 приведены данные относительно распространенности Cag A антигена и субтипов Vac A гена среди детей изучаемой группы.

У всех пациентов было проведено сопоставление морфологических изменений с наличием Cag A и субтипов Vac A генотипа (таблица 2).

Согласно данным таблицы 1, среди пациентов с ЯБ, позитивных по субтипу Vac AS1, преобладали дети, инфицированные Cag A+ штаммом H. pylori ($\chi^2=29.89$; $p<0.001$), а среди пациентов с ХГ преобладали дети с Cag A- фенотипом. В то же время среди пациентов с ХГ при наличии Vac AS2 аллельного субтипа преобладали дети с Cag A- фенотипом ($\chi^2=35.29$; $p<0.001$).

Исходя из данных таблицы 2, среди пациентов с «активным» гастритом (нейтрофильная инфильтрация и +/- микроабсцессы) преобладали пациенты с Cag A+/ Vac AS1+ фенотипом.



Таблица 1

Распределение генотипов Cag и субтипов Vac A гена среди штаммов *H. pylori* у детей с ЯБДК и ХГ

Субтипы Vac A гена	Cag A+ (n=42)		Cag A- (n=49)	
	ЯБ	ХГ	ЯБ	ХГ
Vac AS1	26*	13	3*	10
Vac AS2	3	0*	7	29*
Всего	29	13	10	39

* - $p < 0.001$

Таблица 2

Гистологическая картина биопсийного материала слизистой оболочки желудка в зависимости от наличия/отсутствия Cag A гена и субтипов Vac A гена

Морфологическая картина	Число пациентов (n=91)	Cag A+ (n=42)	Vac AS1 (n=59)	Cag A- (n=49)	Vac AS2 (n=32)
«Активный» ХГ	28	25*	46*	3*	3*
«Неактивный» ХГ	63	17*	13*	46*	29*

* - $p < 0.001$

Обсуждение

Факторы патогенности *H. pylori* и представляют собой важное звено патогенеза язвенной болезни человека. Несколько лет тому назад было показано, что в европейской популяции штаммы *H. pylori*, продуцирующие Cag A, способны к выработке больших количеств цитотоксических субстанций и тесно ассоциированы с «активным» гастритом и дуоденальным изъязвлением [6]. Было доказано, что данный цитотоксический эффект был опосредован сверхмощной активацией нейтрофильных гранулоцитов (составляющих морфологический субстрат «активного» гастрита, сопровождающегося интенсивной инфильтрацией слизистой оболочки желудка нейтрофилами). Этот эффект был ассоциирован с индукцией IL 8 - ведущего фактора хемотаксиса лейкоцитов и, как следствие, с активацией нейтрофилов в организме человека инфицированного Cag A+ штаммом *H. pylori*. Vac A ген также как и Cag A ген является суррогатным маркером т.н. островка патогенности бактерии, гены которого кодируют белки IV секреторной системы бактерии транспортирующие эффекторные молекулы микроба в клетки макроорганизма [2]. Роль других факторов патогенности, в частности гена Ice A и гена Bab A2, на сегодняшний день окончательно не разъяснена и во многом противоречива. Ряд ис-

следований из Юго-Восточной Азии ставят под сомнение возможность влияния данных групп генов на течение и исход гастродуоденальной патологии [2, 7]. В то же время другие исследования показывают наличие связи Cag A, Vac AS1 и Bab A2 генов с ЯДБК (в 100% случаев) в сравнении с ХГ, не сопровождающимся с язвообразованием (43%) [2].

Ранее опубликованные данные [4, 5] подтверждают связь язвообразования в детском возрасте с генотипом бактерии и в частности с Cag A геном. Более того, поскольку Vac AS1 фенотип, как правило, ассоциирован с Cag A позитивным статусом штамма [3], то теоретически Vac A S1 субтип также должен быть ассоциирован с повышенной частотой язвенной болезни.

Полученные нами данные подтверждают данную тенденцию, отмеченную среди взрослых пациентов с язвенной болезнью [8, 3]. Среди пациентов детского возраста, страдающих ЯБДК, превалируют Cag A+ / Vac A S1+ позитивные штаммы *H. pylori*. На тесную связь язвообразования в детском возрасте с фенотипом Cag A / Vac A S1 указывают и другие отечественные исследования, проведенные в г. Санкт - Петербурге [4]. Определенный интерес вызывают и данные относительно другого фактора вирулентности *H. pylori* – Bab A2 гена. В нашем исследовании этот фенотип так же как и Cag A и Vac A генотипы оказался связанным с формированием язвенной болезни в детском возрасте. Мы согласны с мнением Э.Р. Насыбуллиной и соавт. [9] о том, что по-видимому после адгезии, опосредованной продуктом гена Bab A2, интенсивность воздействия других факторов патогенности (Cag A, Vac A) намного возрастает, что объясняет высокий корреляционный параллелизм между генотипом Bab A2 и генами, кодирующими суррогатные маркеры островка патогенности. Ряд авторов в своих клинических исследованиях подтверждают эту европейскую концепцию, демонстрируя в качестве облигатного для ЯБДК генотипа *H. pylori*, комбинацию Cag A / Vac AS1 / Bab A2 генов [2], как уже указывалось выше.

Заключение

Исходя из полученных нами данных, можно сделать вывод о том, что Cag A ген, присутствующий в штамме *H. pylori*, инфицирующем организм ребенка, является мощным фактором вирулентности микроорганизма, ассоциированным с формированием ЯБДК. Морфологические признаки воспаления существенно более выражены в случае инфицирования эпителиоцитов желудка Cag A позитивным штаммом *H. pylori* [8, 3]. Комбинация Cag A / Vac AS1 / Bab A2 генов *H. pylori* является облигатной для ЯБДК. Профиль региональных генотипов в Республике Башкортостан в целом близок к региональным генотипам *H. pylori* обнаруженным у взрослых пациентов в Приволжском регионе РФ [9].

Выражение признательности. Авторы от всей души благодарят профессоров Leen-Jan Van Doorn, Wink de Boer (Нидерланды) и John Atherton (Великобритания) за помощь, оказанную при проведении исследований и написании этой статьи.



ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Кириллов В.А. О некоторых механизмах персистенции *Helicobacter pylori*. Журн. микробиол. 2002, 2:89-94.
2. Исаков В.А. Молекулярно – генетические основы патогенности *H. pylori*. Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2002,12,6:82-85.
3. Umit H., Tezel A., Bukavaz S., et al. The relationship between virulence factors of *Helicobacter pylori* and severity of gastritis in infected patients. Dig. Dis. Sci. 2009, 54(1):103-10.
4. Мишкина Т.В., Александрова В.А., Суворов А.Н. Влияние различных генотипов *H. pylori* на клинико – эндоскопические и морфологические проявления хронических гастродуоденальных заболеваний у детей и подростков. Педиатрия 2007, 86,5:28-32.
5. Alarcon T., Martinez M., Urruzuno P. et al. Prevalence of Cag A and Vac A antibodies in children with *Helicobacter pylori* – associated peptic ulcer compared to prevalence in pediatric patients with active and non – active chronic gastritis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2000,7,5:842-844.
6. Kusters J.G., Arnoud H.M. van Vliet, Kuipers E.J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. Clin Microbiol Rev. 2006 July; 19(3): 449–490.
7. Kato S., Sugiyama T., Kudo M. et al. Cag A antibodies in Japanese children with nodular gastritis or peptic ulcer disease. J. Clin. Microbiol. 2000;28,1:68-70.
8. Tham K.T., Peek R.M.Jr., Atherton J. et al. *Helicobacter pylori* genotypes, host factors and gastric mucosal histopathology in peptic ulcer disease. Hum. Pathol. 2001,32,3:264-273.
9. Насыбуллина Э.Р., Абдулхаков Р.А., Чернова О.А., Горшков О.В., Чернов В.М. Распределение генотипов *H. pylori* среди пациентов с гастродуоденальной патологией. Эксп. клин. гастроэнтерол. 2004,1(спец. выпуск):126-132.

ПОСТУПИЛА: 24.04.2013