

УДК: 616.33-002.44-022:579.835.12

ИНФЕКЦИЯ HELICOBACTER PYLORI: ИТОГИ 20-ЛЕТНЕГО ИЗУЧЕНИЯ ЕЕ ПАТОГЕННОСТИ

Г.Д. Фадеенко

Институт терапии АМН Украины

РЕЗЮМЕ

В статье обсуждены итоги двадцатилетнего изучения патогенности *Helicobacter pylori*. Приведены главные факторы патогенности и вирулентности *Helicobacter pylori*, а именно колонизация, адгезия, пенетрация, и возможный иммунный ответ макроорганизма при инфицировании его *Helicobacter pylori*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Helicobacter pylori*, патогенность, вирулентность

Весной 2003 г. исполнилось 20 лет с тех пор, когда впервые удалось выделить культуру бактерий *Helicobacter pylori* (*H.pylori*), а затем доказать причастность этих микроорганизмов к развитию заболеваний у человека. С того времени активное изучение *H.pylori* не прекращалось, а доказательств их патогенной роли становится все больше. Каков же итог научных изысканий за два прошедших десятилетия?

В данной публикации проанализированы результаты наиболее крупных исследований последних лет, посвященных изучению патогенетической роли *H.pylori* в развитии заболеваний.

Ранее проведенные эпидемиологические исследования определили чрезвычайную распространенность данных бактерий: инфицированность *H.pylori* у взрослого населения в различных регионах мира варьирует от 40% до 90%. В последствии было доказано, что *H.pylori* индуцирует воспаление в слизистой оболочке желудка практически у всех носителей, а *H.pylori*-индуцированные гастриты повышают риск развития язв желудка и двенадцатиперстной кишки, диспепсии, аденокарциномы и лимфопролиферативной опухоли желудка. Вместе с тем, как оказалось, лишь у небольшой части инфицированных носителей *H.pylori* возникают язвы и опухоли верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Данное обстоятельство стало причиной многочисленных споров и дискуссий. В результате *H.pylori* были отнесены к числу патогенных микроорганизмов, которые в зависимости от обстоятельств, могут вести себя, как комменсалы или симбионты. Другими словами, по выражению J. McGuigan (1996), *H.pylori* являются «изменчивым» патогеном («versatile pathogen») [1].

Исследования последних лет, направленные на изучение патогенеза *H. pylori*, определили, что степень риска заболевания определяют специфические взаимодействия между самим патогеном (*H.pylori*) и организ-

мом-носителем. Эти взаимодействия, в свою очередь, напрямую зависят от штамм-специфических бактериальных факторов и эффекторов, непосредственно индуцированных у носителя.

В настоящее время к главным факторам патогенности *H.pylori* относят как свойства самих бактерий (колонизация слизистой оболочки желудка, адгезивность к желудочному эпителию, внутриклеточную пенетрацию, цитотоксины, островки патогенности, специфическую реакцию на стресс), так и ответную реакцию макроорганизма на инфицирование (иммунный ответ, процессы апоптоза и пролиферации в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны, изменение моторной функции желудка) [3].

Колонизация слизистой оболочки желудка *H.pylori* обеспечена их продукцией уреазы, которая, расщепляя мочевины и за счет аммиака, нейтрализуя Н-ионы, защищает бактерии от действия соляной кислоты желудочного содержимого. В отличие от других бактерий, которые так же образуют уреазу (например, кишечной палочки, протей, клебсиеллы), у *H.pylori* уреазы располагается не только в цитоплазме, но и на поверхности клеток. Уреаза, вырабатываемая *H.pylori*, представляет собой никель-содержащий гексамер. В геномном кластере уреазы *H.pylori* обнаружено семь генов: *ureA*, *ureB* (кодируют структурные субъединицы уреазы), *ureE*, *ureF*, *ureG*, *ureH* (кодируют дополнительные белки, необходимые для сборки и включения ионов Ni^{2+}), *ureI* (кодирует канал уреазы для H^+ и является по существу транспортной системой для преремещения мочевины в цитоплазму бактерии [3]. Гены *ureA/B* формируют мембранный комплекс с *ureI*. Будучи сильным антигеном, уреазы, вырабатываемая *H.pylori* связывает антитела, потенциально вредные для бактерий, которые удаляются с поверхности бактериальных клеток в виде комплекса антиген-антитело. Недавно была обнаружена потенциально новая функция уреазы [4] – зависимость регуляции индуци-

белой синтазы оксида азота и высвобождения оксида азота от экспрессии *igeA*, что позволило выдвинуть гипотезу о том, что уреаз является не только необходимым компонентом для продукции аммиака, но и принимает участие в регуляции воспаления [4].

Большинство *H. pylori* при колонизации организма находятся в свободном состоянии, но около 20% присоединяется к эпителиальным клеткам желудка. Именно благодаря адгезии *H. pylori* к эпителиальным клеткам желудка, создаются предпосылки к реализации их патогенного потенциала. Адгезия происходит за счет взаимодействия лигандов *H. pylori* с соответствующими рецепторами желудочного эпителия. У *H. pylori* выявлено несколько адгезинов, определяющих выбор хозяина. Из них наиболее изучены белки *bab* (*blood-group associated binding adhesion*), каждый ген которых – *babA* и *babB* присутствует в виде нескольких аллелей [5]. В качестве рецепторов адгезины *H. pylori* используют остатки сиаловых кислот, гликолипиды, сульфогруппы гликопротеинов, фосфолипиды, фукозу Льюис-подобных антигенов. Кроме того, микробы также могут прилипать к белкам соединительной ткани (коллагену, ламинину, витронектину). За последний год идентифицировано несколько новых *H. pylori* лигандов организма-носителя. Так, в качестве рецептора *H. pylori* был определен сиатил-димерный *Lewis(x)* [(*Le(x)*)] гликофинголипид, при этом было показано, что бактериальная колонизация индуцировала экспрессию сиатил-*Le(x)* антигенов в слизистой оболочке желудка человека и обезьян [6]. Необходимый для связывания адгезин *H. pylori*, был идентифицирован как *SabA*. Поскольку антигены сиатил-*Le(x)* являются установленными антигенами опухоли и маркерами дисплазии желудка, было подтверждено предположение о том, что адгезия *H. pylori* вполне вероятно играет основную роль в индукции канцерогенеза [6]. *BabA* – мембран-связанный адгезин, кодируется штамм-селективным геном *babA1*, который связывается с антигеном группы крови *Le(b)*, присутствующим на мембранах клеток эпителия желудка. Как было показано, этому способствует структура *Le(b)* гликоформ муцина. Разнообразие гликоформ муцина может объяснять различия в восприимчивости к *H. pylori* у людей [7, 8, 9].

Помимо колонизации и адгезии к числу факторов вирулентности *H. pylori* относится их способность к пенетрации (клеточной инвазии). Это свойство бактерий проникать в эпителиальные клетки в последние годы исследовалось путем использования диффе-

ренциальной контрастной видео- и иммунофлюоресцентной микроскопии [10]. *H. pylori* обнаруживались внутри больших цитоплазмических вакуолей; после эволюции вакуолей они вновь появлялись во внеклеточном окружении, при этом внутри вакуолей они не обнаруживались. Данный факт свидетельствует о свободном высвобождении *H. pylori* из внутривакуолярной ниши. Как раз этим могут объясняться трудности, связанные с уничтожением (эрадикацией) *H. pylori*. Согласно сообщениям, на ультраструктурном уровне, *H. pylori* проникает в клетки посредством механизма, подобного застежке-молнии (интернализированные бактерии связаны внутри фаголизосом со сгустками нитевидного актина) [11].

Изучение патогенных свойств *H. pylori* выявило, что вирулентность этих бактерий во многом определяется способностью выделять токсины. В настоящее время наиболее изучен цитотоксин А, вызывающий вакуолизацию эукариотических эпителиальных клеток, путем образования пор в их цитоплазматической мембране (*vacA*). Около 50% изолятов *H. pylori* выделяют токсин с вакуолизирующей активностью, а штамм-специфические различия в способности индуцировать вакуолизацию, имеют место вследствие вариаций последовательностей внутри *vacA*. Помимо вакуолизации, цитотоксин *vacA* оказывает и другие биологические эффекты, которые могут влиять на клинический исход инфицирования. Именно с экспрессией *vacA* в наибольшей степени связаны развитие язвенной болезни и аденокарциномы желудка, что было подтверждено на генетических моделях [12]. Именно токсиногенные штаммы *H. pylori* ингибируют развитие фагосом после захвата бактерий макрофагами [13] и увеличивают проницаемость сосудов, адгезию лейкоцитов, агрегацию тромбоцитов и вазоконстрикцию микроциркуляторного русла слизистой оболочки желудка (в эксперименте) [14].

Более 40 генов вирулентности *H. pylori* собраны в одном из сегментов хромосомы бактерии, вследствие чего данный участок получил название «островок патогенности». Его маркером считается иммунодоминантный белок с молекулярной массой 120-140 кД, кодируемый цитотоксин-ассоциированным геном А – *cagA*. Кроме того, островок патогенности содержит гены систем секреции типа III и IV – обязательных атрибутов вирулентности. «Островок патогенности» у присутствует у 60-70% штаммов *H. pylori*. Именно с *cagA* ассоциируется развитие аденокарциномы желудка. *CagA* транслоцируется в эпителиальные клетки организма-

носителя, где подвергается Src-зависимой тирозин-фосфорилиции и активизирует эукариотическую фосфатазу (SHP-2), приводя к дефосфорилиции протеины эпителиальных клеток хозяина с их последующими морфологическими изменениями. Последовательности *cagA*, которые преобладают в Восточно-азиатских штаммах *H. pylori*, отличаются от таковых, обнаруженных в большинстве изолятов западных стран. Кроме того, Восточно-азиатские *cagA*, содержащие уникальный участок тирозин-фосфорилиции, проявляет более сильное SHP-2 связывание и более выраженную способность изменять клеточную морфологию, чем западные *cagA* [15]. Данным обстоятельством можно объяснить различную частоту заболеваемости раком желудка, наблюдаемую в этих регионах мира. За последний год были проведены исследования эффектов компонентов *cag* «островок патогенности» на реакцию организмов-носителя. Были обнаружены различия в клеточном ответе, которые непосредственно зависели от свойств генов *cag*. Все мутантные штаммы *H. pylori* колонизировали с меньшей эффективностью, чем «дикие» штаммы, за исключением изогенного *cagA*-негативного производного, что позволило предположить о непосредственном влиянии на раннюю фазу колонизации желудка *H. pylori* секреторного аппарата «островка патогенности» *cag* [16]. Ряд проведенных экспериментов по изучению эффектов *cag*-положительных штаммов *H. pylori* вне желудочного эпителия показал, что *cag*-положительные штаммы вызывали образование больших гомотипных макрофагоподобных клеточных агрегатов [17]. Антитела к anti-*cagA* реагировали с компонентами гладкомышечных клеток, фибропластами и эндотелиальными клетками внутри препаратов стенок артериальных сосудов, что позволило предположить вероятность связывания системных антител к *cagA* с антигенами внутри сосудистой стенки и возможность влияния на развитие атеросклероза у лиц, инфицированных *cag*-положительными штаммами *H. pylori* [18].

Воспаление, индуцированное *H. pylori*, может приводить к различным формам повреждений и разрушению эпителиальных клеток. Вместе с тем, активированные воспалительным процессом, нейтрофилы генерируют реактивные радикалы кислорода и азота, которые могут вызывать оксидативное повреждение ДНК, или разрушение самих клеток. Однако, эти реактивные радикалы не повреждают ткани организма-носителя, но имеют разрушительный потенциал для инфицирующих бактерий. Данный факт по-

служил тому, что ряд исследований последних лет были сосредоточены на изучении способности *H. pylori* противостоять стрессу со стороны окружающей среды. В результате чего были выявлены ряд генов, вовлеченных в сопротивление *H. pylori* против оксидативного стресса: *ahpC* – кодирует белок, который катализирует восстановление органических перекисей до спиртов, *parA* – кодирует железо-связанный белок, активизирующий нейтрофилы. Инактивация данных генов приводила в эксперименте к выраженному нарушению способности *H. pylori* к инфицированию. Результаты проведенного эксперимента свидетельствует о том, что сопротивление оксидативному стрессу является критическим фактором для успешной колонизации [19].

Иммунный ответ макроорганизма является важной составляющей для патогенности инфекции *H. pylori*. В распознавание патогена вовлечены поверхностные клеточные рецепторы, которые способны распознавать такие специфические компоненты патогена, как липопротеины, липополисахариды, бактериальные ДНК и передавать эту информацию по внутриклеточным сигнальным каскадам для продукции регуляторных цитокинов. Морфологическим критерием гастрита, индуцированного *H. pylori*, является нейтрофильная инфильтрация. Стимуляция эндотелиальных клеток бактериями *H. pylori* способствует вовлечению в процесс нейтрофилов благодаря активации адгезии VCAM-1, ICAM-1, E-селектина и PL-8 [20]. Изучение роли реактивного кислорода и азота на иммунный ответ при инфицировании *H. pylori*, показало, что они способствуют ограничению воспалительного ответа, ассоциированного с инфекцией, и, возможно, в ограничении способности организма хозяина снижать бактериальную нагрузку [21].

Известно, что инфекция *H. pylori* индуцирует апоптоз в эпителиальных клетках. Механизмы, регулирующие этот ответ, были изучены в последние годы [22, 23]. Согласно сообщениям, апоптоз эпителиальных клеток ассоциируется с *ex vivo* высвобождением провоспалительных цитокинов TNF- α и IFN- γ линиями Т-клеток, специфичными к *H. pylori* и клонами [24]. При этом увеличение апоптоза происходит при наличии *H. pylori cagA*-положительных токсигенных штаммов [25].

Воспаление, индуцированное *H. pylori*, может приводить и к нарушению нервной регуляции желудочно-кишечного тракта, а так же способствовать функциональной диспепсии за счет нарушения моторной активности верхних отделов пищеварительного

канала. Описан експеримент, в котором инфицирование мышей *H. pylori* приводило к увеличению антральной релаксации, что сочеталось со снижением высвобождения ацетилхолина [26]. У инфицированных мышей наблюдалось повышение плотности субстанции P (SP), кальцитонин ген-связанного пептида (CGRP), вазоактивного кишечного пептида (VIP) в желудочных ганглиях и SP и CGRP в спинном мозге [26]. Дисфункция холинергических нервов постепенно ухудшалась по мере увеличения макрофагальной и мононуклеарной инфильтрации или бактериальной колонизации. Эрадикация *H. pylori* приводила к нормализации функциональных и морфологических нарушений (за исключением повышенной плотности SP и CGRP), что дает предпосылки для более детального изучения нарушений двигательной функции, индуцированной *H. pylori* у человека.

Патогенность *H. pylori* стала основой для разработки лечебных подходов к заболеваниям, которые ассоциируются с этой инфекцией, сформулированные международными соглашениями: Маастрихтскими Консенсусами 1996 и 2000 г.г. В свете этих соглашений, базисная терапия этих заболеваний заключается в эффективном уничтожении (полной эрадикации) инфекции *H. pylori*.

Таким образом, огромное количество опубликованных исследований, посвященных патогенной роли *H. pylori* в развитии заболеваний у человека (только за последний год опубликовано более 1300), определили и подтвердили важность этого микроорганизма для развития таких заболеваний у челове-

ка, как хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, MALT-лимфомы, аденокарциномы желудка. Кроме того, *H. pylori* стала рассматриваться в качестве уникальной модели хронической инфекции у человека. Приспособляемость *H. pylori* в окружающей среде выражается в их способности прилипать к желудочному эпителию и модулировать экспрессию собственных вирулентных факторов. Согласно современным представлениям, *H. pylori* также может выживать внутри эпителиальных клеток, тем самым, уклоняясь от иммунной реакции инфицированного организма. Эти открытия последних лет не только выявили механизмы, по которым *H. pylori* может манипулировать иммунным ответом хозяина, но также могут дать фундаментальные представления о патогенезе других заболеваний, которые развиваются в рамках воспалительных реакций, индуцированных иными патогенами пищеварительного тракта.

По своему значению для медицины выделение *H. pylori* и доказательство их патогенной роли приравняется к открытию австралийского антигена, созданию пенициллина и вакцины против полиомиелита. Благодаря полученным знаниям и разработанным стандартам лечения, такие распространенные заболевания, как хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в подавляющем большинстве случаев могут быть не только теоретически, а практически полностью излечены, а профилактика опухолей желудка – стала реально действенной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mc Guigan J. // *Digestive Diseases*. 1996. Vol. 14 (5). P. 289-303.
2. Lamarque D., Peek R.M. // Blackswell publishing Ltd, *Helicobacter*. 2003. V.8. Suppl. 1. P.21-30
3. Voland P., Weeks D.L., Marcus E.A. et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2003. № 284. P. 96-106.
4. Gobert A.P., Mersey B.D., Cheng Y. et al. // *J. Immunol*. 2002. № 168. P. 6002-6006.
5. Pride D., Meinersmann R., Blaser M. // *Infect. Immun*. 2001. Vol.69 (2). P. 1160-1171.
6. Mahdavi J., Sonden B., Hurtig M. et al. // *Science*. 2002. № 297. P.573-578.
7. Linden S., Nordman H., Hedenbro J. et al. // *Gastroenterology*. 2002. Vol. 123. P. 1923-1930.
8. Teneberg S., Leonardsson I., Karlsson H. et al. // *J. Biol. Chem*. 2002. Vol. 277. P. 1909-1919.
9. Vinal L.E., King M., Novelli M. et al. // *Gastroenterology*. 2002. Vol. 123. P. 41-49.
10. Amieva M.R., Salama N.R., Tompkins L.S. et al. // *Cell Microbiol*. 2002. Vol. 4. P. 677-690.
11. Kwok T., Backert S., Schwarz H. et al. // *Infect Immun*. 2002. Vol. 70. P. 2108-2120.
12. Fujikawa A., Shirasaka D., Yamamoto S. et al. // *Nat. Genet*. 2003. Vol. 33. P. 375-381.
13. Zheng P.Y., Jones N.L. // *Cell Microbiol*. 2003. Vol. 5. P. 25-40.
14. Kalia N., Bardhan K.D., Atherton J.C. et al. // *Gut*. 2002. Vol. 51. P. 641-647.
15. Higashi H., Tsutsumi R., Fujita A. et al. // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002. Vol. 99. P. 14428-14433.
16. Marchetti M., Rappuoli R. // *Microbiology*. 2002. Vol. 148. P. 1447-1456.
17. Moese S., Selbach M., Meyer T.F. et al. // *Infect Immun*. 2002. Vol. 70. P. 4687-4691.
18. Franceschi F., Sepulveda A.R., Gasbarrini A. et al. // *Circulation*. 2002. Vol. 106. P. 430-434.
19. Olczak A.A., Seyler R.W., Olson J.W. et al. // *Infect Immun*. 2003. Vol. 71. P. 580-583.
20. Innocenti M., Thoreson A.C., Ferrero R.L. et al. // *Infect. Immun*. 2002. Vol. 70. P. 4581-4590.
21. Blanchard T.G., Yu F., Hsieh C.L. et al. // *J. Infect Dis*. 2003. Vol. 187. P. 1609-1615.
22. Potthoff A., Ledig S., Martin J. et al. // *Helicobacter*. 2002. № 7.P. 367-377.
23. Maeda S., Yoshida H., Mitsuno Y. et al. // *Gut*. 2002. Vol. 50. P. 771-778.

24. Lehmann F.S., Terracciano L., Carena I. et al. // Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002. Vol. 283. P. 481-488.
25. Neu B., Randlkofer P., Neuhofer M. et al. // Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002. Vol. 283. P. 309-318.
26. Bercik P., De Giorgio R., Blennerhassett P. et al. // Gastroenterology. 2002. Vol. 123. P. 1205-1215.

ІНФЕКЦІЯ HELICOBACTER PYLORI: ІТОГИ 20-РІЧНОГО ВІВЧЕННЯ ЇЇ ПАТОГЕНОСТІ

Г.Д. Фадєєнко
Інститут терапії АМН України

РЕЗЮМЕ

У статті обговорено ітоги двадцятирічного вивчення патогеності *Helicobacter pylori*. Приведені головні фактори патогеності та вірулентності *Helicobacter pylori*, а саме колонізація, адгезія, пенетрація, та можлива імунна відповідь макроорганізму при інфікуванні його *Helicobacter pylori*.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *Helicobacter pylori*, патогеність, вірулентність

HELICOBACTER PYLORI INFECTION: THE RESULTS OF 20- YEARS STUDY OF ITS PATHOGENICITY

G.D. Fadeenko
Institute of Therapy of AMS of Ukraine

SUMMARY

In the paper the main results of twenty years of investigations of *Helicobacter pylori* pathogenicity are elucidated. The main pathogenetic and virulence factors have been presented (colonization, adhesion, penetration) and possible immune responses of the organism at *Helicobacter pylori* infection.

KEY WORDS: *Helicobacter pylori*, pathogenicity, virulence