

Оценка риска развития патологических состояний, вызванных циркулирующими штаммами *H. pylori*

Д. К. Каримова, Г. Н. Собирова, М. М. Каримов

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации, Ташкент, Узбекистан

Ключевые слова: хеликобактерная инфекция, EPIYA, CagA-штаммы, канцерогенез, гастрит, язвенная болезнь

В последние годы ряд исследователей указывает на увеличение распространенности заболеваний гастродуоденальной зоны, а также их утяжеление, в первую очередь это рост числа заболеваний с деструкцией слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) — микроаэрофильная спиралевидная бактерия, колонизирующая желудок человека, в настоящее время является основным этиологическим агентом атрофического гастрита и язвенной болезни желудка [19]. Эпидемиологические исследования также показали, что хроническая инфекция *H. pylori* критически связана с развитием рака желудка [9]. Индивидуально выделенные *H. pylori* подразделяются на CagA-положительные и отрицательные штаммы на основании наличия или отсутствия Cag-острова патогенности (Cag PAI), геномной области, кодирующей бактериальную секреторную систему IV типа (TFSS) и ее эффектора CagA. Накопленные данные показали, что инфекция CagA-позитивными штаммами, которые вводят CagA в эпителиальные клетки желудка через TFSS, играет решающую роль в канцерогенезе желудка [18].

Изучению биологических свойств *H. pylori* посвящено большое количество исследований, но, несмотря на накопленные знания, остается много неясных вопросов, особенно касающихся факторов патогенности и развития клинических проявлений. Продолжающиеся и будущие исследования должны помочь расшифровать значение инфекции *H. pylori* в патогенезе заболеваний желудочно-кишечного тракта и внежелудочных проявлений. Кроме того, CagA — это полиморфный ген, который представлен разным количеством повторяющихся последовательностей, расположенных в 3' регионе. Каждый повторяющийся регион CagA содержит Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) профили, включающие фосфорилирование тирозина. Число EPIYA-мотивов (побуждений, движущих сил) зависит от уровней CagA фосфорилизации и цитопротекторных изменений в эпителиальных клетках восточноазиатских групп

H. pylori и в группах европейского происхождения. Согласно гипотезе, пытающейся объяснить соотношение между числом мотивов EPIYA и атрофией слизистой оболочки желудка, число мотивов связано с выраженностью атрофии слизистой оболочки желудка, хотя статистически различия не являются значимыми. Известна и противоположная точка зрения: вероятно, большинство групп *H. pylori* содержат то же число мотивов [1].

Согласно расшифрованным EPIYA-последовательностям профиля, различают 4 сегмента: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C, EPIYA-D, которые определяются аминокислотной последовательностью, каждый из которых содержит EPIYA-A повторяющийся регион. Геномная последовательность CagA, кодирующая область EPIYA-repeat, часто рекомбинируется и тем самым создает структурный полиморфизм, который позволяет классифицировать на несколько подтипов [23]. Но профили EPIYA-последовательностей отдельных CagA имеют географические особенности, чем можно объяснить различия в распространенности рака желудка в различных странах. CagA *H. pylori*-позитивные штаммы циркулируют во всем мире, за исключением Восточно-Азиатских стран, таких как Япония, Китай и Корея. EPIYA-A — повторяющийся регион CagA гена западных изолятов *H. pylori* — ассоциирован с EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C сегментами (A-B-C тип CagA). EPIYA-C сегмент вариабельно повторяется (до 3 раз) в тандеме среди различных CagA-штаммов. CagA-штаммы, выделенные из восточно-азиатских изолятов *H. pylori*, также содержат EPIYA-A и EPIYA-B сегменты, но без повторения EPIYA-C сегмента, вместо которого они имеют EPIYA-D сегмент, уникальный для этого региона. Соответственно, EPIYA-A повторяющийся регион CagA гена восточно-азиатских изолятов *H. pylori* находится в ассоциации с EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-D сегментами (A-B-D тип CagA) [20]. Западные CagA-штаммы, имеющие повторяющийся EPIYA-C сегмент, чаще ассоциированы с развитием

предраковых изменений и раком желудка [10]. Данные, полученные при изучении роли повторяющегося региона, позволяют предположить, что штаммы *H. pylori*, имеющие эти повторяющиеся последовательности, менее устойчивы к действию соляной кислоты, на что указывает их присутствие при атрофическом гастрите, при котором снижена ее секреция.

Проведен ряд исследований по изучению предикторов предраковых заболеваний. Так, в исследовании Y. Yamaoka et al. (2011) показано, что заболеваемость раком желудка наиболее высока в странах Восточной Азии, но она также высока и в некоторых странах Южной Америки, таких как Колумбия и Перу, где преимущественно циркулируют *CagA*-штаммы. Однако при сравнительном изучении частоты встречаемости повторяющегося EPIYA-C сегмента установлено, что два EPIYA-C сегмента имеют 57% изолятов *H. pylori* из Колумбии и только 4% изолятов из США, где частота рака желудка является одной из самых низких [24].

В другом исследовании изучалось, способствует ли наличие вариаций *CagA* EPIYA в штаммах *H. pylori*, которые являются положительными, развитию заболевания в слизистой оболочке желудка. В это исследование было включено 157 *H. pylori*-позитивных пациентов, из которых 40,8% (64/157) были инфицированы *CagA*-позитивными штаммами, которые были проанализированы на наличие *CagA* EPIYA-ABC, EPIYA-ABCC и EPIYA-ABCCS. Пептические язвы достоверно чаще встречались у пациентов, инфицированных штаммами, содержащими *CagA* EPIYA-ABCC/ABCCS, чем у пациентов со штаммами *CagA* EPIYA ABC ($P=0,044$). В заключении было подчеркнuto, что количество повторений EPIYA-C влияет на развитие гастродуоденальных поражений, подчеркивая важность и полезность оценки последовательности гена *CagA* при принятии решений о терапевтическом вмешательстве у пациентов, инфицированных *H. pylori* [22]. Таким образом, распространенность EPIYA-C сегмента в популяции может быть одним из факторов, объясняющих наличие географических различий в распространенности рака желудка [2].

Отмечено ряд экспериментальных работ, посвященных изучению патогенности *H. pylori*. Были опубликованы исследования, где в качестве моделей *in vivo* для изучения вирулентности *H. pylori* использовались грызуны. Однако штаммы *H. pylori*, адаптированные у грызунов, часто теряют функциональные TFSS и, таким образом, не могут предоставить *CagA* [4]. Макаки также были использованы в качестве экспериментальной модели для инфекции *H. pylori* [8]. Но, опять же, исследования с нечеловеческими приматами отнимают много времени, утомительны, трудоемки и чрезвычайно дороги по стоимости, что затрудняет оценку степени вирулентности для отдельных *CagA*-позитивных штаммов с использованием нечеловеческих приматов. В последнее время стало возможным генерировать органоспецифические трехмерные культуры клеток, известные как «органойды» [1]. Органойды желудка, образующиеся из изолированной слизистой

оболочки желудка, представляют собой сферы эпителиального клеточного слоя с просветом внутри, которые могут быть инфицированы *H. pylori* [21]. Желудочные органойды также были разработаны из эмбриональных стволовых клеток [17]. Органойды, полученные из эмбриональных клеток, могут быть более подходящими, чем органойды, полученные из желудочно-кишечных крипт, для изучения взаимодействия хозяина и патогена, поскольку они включают три различных компонента: слой эпителиальных клеток, мезенхимальные клетки и слизистую пластинку мускулатуры.

В работе Kana Hashi et al. был выделен штамм *H. pylori* (Hp_TH2099), естественно заражающий желудок макаки, что указывает на зоонозную особенность инфекции *H. pylori*. Анализ последовательности всего генома показал, что Hp_TH2099 принадлежит к кластеру HpAsia2 и обладает ABC-типом западного *CagA*, который содержит до сих пор не сообщенные вариации как в последовательностях EPIYA-C, так и в последовательностях мультимеризации *CagA*. В отличие от стандартного штамма *H. pylori*, инфицирование мышинных клеточных желудочных органойдов Hp_TH2099 не вызывало *CagA*-зависимой деструкции эпителия. Таким образом, выделенный из макаки *H. pylori* показал низкую вирулентность из-за ослабленной активности *CagA* через множественные замены в последовательностях, участвующих в связывании с SHP2 и PAR1b [13].

В 2018 г. группой ученых под руководством Manal Diab было опубликовано, что отсутствие более вирулентного восточно-азиатского генотипа *CagA*, который является самым сильным фактором риска канцерогенеза желудка, может объяснить очень низкий уровень рака желудка среди населения Египта по сравнению с другими частями мира. Однако они подчеркнули, что этот вывод требует дальнейших молекулярных исследований с использованием секвенирования всего генома и большего количества образцов для определения точного нехарактерного генотипа *CagA* для выявления фактического риска развития гастродуоденальных заболеваний в Египте [15]. Также исследователи отметили, что их показатель сопоставим с предыдущими исследованиями из Иордании и Ливана [12, 14]. Тем не менее, он также был ниже, чем в предыдущих исследованиях из стран Южной и Восточной Азии (более 90%) [6].

В популяции достаточно много людей, инфицированных *H. pylori*. Однако лишь у 10–15% из них развивается язвенная болезнь или рак желудка. Так, благодаря генетической устойчивости некоторых людей, в частности постоянных жителей Африки, высокая обсемененность *H. pylori* не приводит к развитию язв двенадцатиперстной кишки и желудка; среди постоянных жителей Индонезии язвенная болезнь у китайцев, постоянно проживающих в этой стране, развивается в 8 раз чаще, чем у коренных жителей этой страны. Это несоответствие отражается на распространенности *CagA*-позитивного штамма *H. pylori* и может быть связано с различием изучаемых популяций или

генетических разновидностей исследуемых изолятов в разных географических зонах. Понимание молекулярно-генетического механизма канцерогенеза, индуцированного *H. pylori*, имеет очень большое значение для разработки новых стратегий борьбы с возникновением рака желудка. Частота рака желудка, причиной которого непосредственно является *H. pylori*, различается в различных популяциях, наибольший процент (75%) таких раков отмечают в Японии, а наименьший процент (около 10%) отмечен в европейских популяциях [16]. Следует отметить, что в настоящее время выявление рака желудка в 80% случаев происходит на IV стадии, когда вероятность успешного лечения крайне мала, что делает разработку ранней системы диагностики рака желудка хеликобактерной этиологии очень важной. Штаммы, имеющие одновременно EPIYA-A и B-мотивы или содержащие один EPIYA-C-мотив, обуславливают более чем семикратное увеличение

риска развития рака желудка по сравнению с CagA-негативными штаммами [5]. Штаммы, содержащие два или более EPIYA-C-мотивов, обуславливают более чем 30-кратное повышение риска [11]. Больше число EPIYA-C или D мотивов ассоциируется с увеличением риска кишечной метаплазии, предзлокачественных изменений [7].

Таким образом, определение типа и количества EPIYA-мотивов в карбоксильном конце участка CagA-белка *H. pylori*, полученной из клинических изолятов, имеет важное прогностическое значение в оценке риска развития патологических состояний, связанных с инфекционным процессом, вызванным циркулирующими штаммами *H. pylori*. Увеличение количества EPIYA-мотивов служит прогностическим фактором неблагоприятного развития заболеваний желудочно-кишечного тракта. Количество и тип EPIYA-мотивов могут быть использованы как дополнительные критерии с целью определения групп риска по развитию рака желудка.

Литература:

1. Васильев Ю. В. Патогенетические аспекты *Helicobacter pylori*. *Международный медицинский журнал*. 2007. № 1. С. 53–64.
2. Исаева Г. Ш., Валиева Р. И. Биологические свойства и вирулентность *Helicobacter pylori*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018. № 20 (1). С. 14–23.
3. Akkerman N., Defize L. H. Dawn of the organoid era: 3D tissue and organ cultures revolutionize the study of development, disease, and regeneration. *Bioessays*. 2017. Vol. 39, No 4. Epub 2017 Feb 21.
4. Barrozo R. M. Functional plasticity in the type IV secretion system of *Helicobacter pylori*. *PLoS Pathog*. 2013. Vol. 9. P. e1003189.
5. Batista Sérgio A. Higher number of *Helicobacter pylori* CagA EPIYA C phosphorylation sites increases the risk of gastric cancer, but not duodenal ulcer. *BMC Microbiology*. 2011. Vol. 11. P. 61.
6. Chomvarin C. Prevalence of *Helicobacter pylori* VacA, CagA, CagE, I and BabA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. *Int. J. Infect. Dis*. 2008. Vol. 12. P. 30–36.
7. Correa P., Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 2007. Vol. 133. P. 659–672.
8. Dubois A. Transient and persistent experimental infection of nonhuman primates with *Helicobacter pylori*: implications for human disease. *Infect. Immun*. 1996. Vol. 64. P. 2885–2891.
9. Forman D. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ*. 1991. Vol. 302. P. 1302–1305.
10. Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *J. Gastroenterol*. 2009. Vol. 44, No 4. P. 239–248.
11. Hatakeyama M. Structure and function of *Helicobacter pylori* CagA, the first-identified bacterial protein involved in human cancer. *Proceedings of the Japan Academy. Series B. Physical and Biological Sciences*. 2017. Vol. 93, No 4. P. 196–219.
12. Hussein N. R. *Helicobacter pylori* and gastric cancer in the Middle East: a new enigma? *World J. Gastroenterol*. 2010. Vol. 16, No 26. P. 3226–3234.
13. Kana Hashi. Evaluating the origin and virulence of a *Helicobacter pylori* cagA-positive strain isolated from a non-human primate. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, No 1. P. 15981.
14. Khayat A. E. Prevalence and Clinical Relevance of *Helicobacter pylori* CagA and VacA genes in Lebanese patients with gastritis and peptic ulcer disease. *J. Infect Dev. Ctries*. 2007. Vol. 1. P. 55–61.
15. Manal Diab. *Helicobacter pylori* Western CagA genotype in Egyptian patients with upper gastrointestinal disease. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2018. Vol. 19, No 4. P. 297–300.
16. Nagini S. Carcinoma of the stomach: a review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2012. Vol. 4, No 7. P. 156–169.
17. Noguchi T. K. Generation of stomach tissue from mouse embryonic stem cells. *Nat. Cell Biol*. 2015. Vol. 17. P. 984–993.
18. Parsonnet J., Friedman G. D., Orentreich N., Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 1997. Vol. 40. P. 297–301.
19. Peek R. M., Jr. Blaser M. J. Pathophysiology of *Helicobacter pylori*-induced gastritis and peptic ulcer disease. *Am. J. Med*. 1997. Vol. 102. P. 200–207.
20. Ren S., Higashi H., Lu H., Azuma T., Hatakeyama M. Structural basis and functional consequence of *Helicobacter pylori* CagA multimerization in cell. *J. Biol. Chem*. 2006. Vol. 281. P. 32344–32352.

21. Schlaermann P. A novel human gastric primary cell culture system for modelling *Helicobacter pylori* infection in vitro. *Gut*. 2016. Vol. 65. P. 202–213.
22. Vianna J. S. Detection of *Helicobacter pylori* CagA EPIYA in gastric biopsy specimens and its relation to gastric diseases. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015. Vol. 83, No 2. P. 89–92.

УДК 616.33/.342:579.835.12Helicobacter pJ-035.2
doi: 10.33149/vkr.2020.01.08

RU **Оценка риска развития патологических состояний, вызванных циркулирующими штаммами *H. pylori***

Д. К. Каримова, Г. Н. Собирова, М. М. Каримов
Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации, Ташкент, Узбекистан

Ключевые слова: хеликобактерная инфекция, EPIYA, CagA-штаммы, канцерогенез, гастрит, язвенная болезнь

На протяжении последних лет отмечается рост распространенности воспалительно-деструктивных заболеваний гастродуоденальной зоны, что объясняют, в первую очередь, инфицированием бактерией *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Одним из основных факторов патогенности *H. pylori* считается наличие цитотоксин-ассоциированного гена — CagA. Известно, что инфицирование CagA-положительными штаммами *H. pylori* ассоциировано с развитием атрофии, опухолевой инвазией и быстрым метастазированием. В ряде недавно опубликованных исследований установлено, что CagA является полиморфным геном, который может содержать разное количество повторяющихся последовательностей, расположенных в 3' регионе. Каждый повторяющийся регион CagA содержит Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) профили, включающие фосфорилирование тирозина. В зависимости от последовательности EPIYA-профиля различают четыре сегмента: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C, EPIYA-D, каждый из которых содержит повторяющийся регион. Выявлены географические особенности распространенности штаммов *H. pylori* в зависимости от последовательности EPIYA: EPIYA-A регион западных изолятов этой бактерии ассоциирован с EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C сегментами, тогда как восточным CagA-положительным изолятам *H. pylori* свойственен A-B-D тип гена CagA. Приведены данные, иллюстрирующие сильную взаимосвязь между инфицированием западными CagA-положительными штаммами *H. pylori*, имеющими повторяющийся EPIYA-C сегмент, и развитием предраковых состояний, а также раком желудка. Инфицирование штаммами *H. pylori*, содержащими одновременно A-B мотивы EPIYA или один C-тип гена CagA, сопряжено с 7-кратным возрастанием риска рака желудка по сравнению с CagA-негативными штаммами; наличие двух и более EPIYA-C мотивов связывают с 30-кратным увеличением риска.

23. Xia Y. A comprehensive sequence and disease correlation analyses for the C-terminal region of CagA protein of *Helicobacter pylori*. *PLoS One*. 2009. Vol. 4. P. e7736.
24. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011. Vol. 7, No 11. P. 629–641.

УДК 616.33/.342:579.835.12Helicobacter pJ-035.2
doi: 10.33149/vkr.2020.01.08

UA **Оцінка ризику розвитку патологічних станів, викликаних циркулюючими штаммами *H. pylori***

Д. К. Каримова, Г. Н. Собирова, М. М. Каримов
Республіканський спеціалізований науково-практичний медичний центр терапії та медичної реабілітації, Ташкент, Узбекистан

Ключові слова: гелікобактерна інфекція, EPIYA, CagA-штами, канцерогенез, гастрит, виразкова хвороба

Протягом останніх років спостерігається зростання поширеності запально-деструктивних захворювань гастродуоденальної зони, що пояснюють, насамперед, інфікуванням бактерією *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Одним з основних факторів патогенності *H. pylori* вважається наявність цитотоксин-асоційованого гена — CagA. Відомо, що інфікування CagA-позитивними штаммами *H. pylori* асоційоване з розвитком атрофії, пухлинної інвазії і швидким метастазуванням. Низкою нещодавно опублікованих досліджень встановлено, що CagA є поліморфним геном, який може містити різну кількість послідовностей, що повторюються та розташовані у 3' регіоні. Кожен регіон CagA, що повторюється, містить Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) профілі, які включають фосфорилування тирозину. Залежно від послідовності EPIYA профілю розрізняють чотири сегменти: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C, EPIYA-D, кожен з яких містить повторюваний регіон. Виявлено географічні особливості поширеності штамів *H. pylori* залежно від послідовності EPIYA: EPIYA-A регіон західних ізолятів цієї бактерії асоційований з EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C сегментами, тоді як східним CagA-позитивним ізолятам *H. pylori* властивий A-B-D тип гена CagA. Наведено дані, що ілюструють сильний взаємозв'язок між інфікуванням західними CagA-позитивними штаммами *H. pylori*, які мають повторюваний EPIYA-C сегмент, і розвитком передракових станів, а також раком шлунка. Інфікування штаммами *H. pylori*, які одночасно містять A-B мотиви EPIYA або один C-тип гена CagA, пов'язане з 7-кратним зростанням ризику раку шлунка порівняно з CagA-негативними штаммами; наявність двох та більше EPIYA-C-мотивів пов'язують з 30-кратним збільшенням цього ризику.

EN Risk assessment of pathological conditions caused by circulating *H. pylori* strains**D. K. Karimova, G. N. Sobirova, M. M. Karimov**

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Therapy and Medical Rehabilitation, Tashkent, Uzbekistan

Key words: *Helicobacter pylori* infection, EPIYA, CagA strains, carcinogenesis, gastritis, peptic ulcer

In recent years, there has been an increase in the prevalence of inflammatory and destructive diseases of the gastroduodenal zone, which is primarily explained by *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection. One of the main factors of *H. pylori* pathogenicity is presence of cytotoxin-associated gene — CagA. It is known that CagA-positive *H. pylori* strains are associated with the development of atrophy, tumor invasion and rapid metastasis. A number of recently published studies have revealed that CagA is a polymorphic

gene which contains a different number of repetitive sequences located in the 3' region. Each repetitive region of CagA contains Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) profiles including tyrosine phosphorylation. Depending on the sequence of the EPIYA profile, there are 4 segments: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C, EPIYA-D, each containing a repetitive region. Geographical features of the prevalence of *H. pylori* strains depending on the sequence of EPIYA have been revealed: EPIYA-A region of the western isolates of this bacterium is associated with EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C segments, while the eastern CagA-positive *H. pylori* isolates are characterized by the A-B-D type of the CagA gene. Data illustrating the strong correlation between the western CagA-positive *H. pylori* strains, which have a repeating EPIYA-C segment, and the development of precancerous states, as well as gastric cancer, are presented. *H. pylori* strains containing simultaneously A-B motives of EPIYA or one C-type of the CagA gene are associated with a 7-fold increase of risk of gastric cancer compared to CagA-negative strains; presence of two or more EPIYA-C motives is associated with a 30-fold increase of this risk.