

Генотип *Helicobacter pylori* и нестероидные противовоспалительные препараты

Н. В. Ширинская¹, Е. Г. Поморгайло², Т. В. Васькина³, Н. П. Кириченко³

¹Медицинский информационно-аналитический центр,

²Омский государственный медицинский университет Минздрава РФ,

³Клинический диагностический центр,

Омск, Россия

Ключевые слова: желудок, *Helicobacter pylori*, штаммы, генотип, нестероидные противовоспалительные препараты

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и инфекция *Helicobacter pylori* являются основными общепризнанными факторами повреждения слизистой оболочки желудка. НПВП являются наиболее важными «симптоматическими» средствами, особенно при лечении ревматических заболеваний [1, 5], что определяется сочетанием противовоспалительных, анальгетических, жаропонижающих и антитромботических свойств, необходимых для купирования основных симптомов, характерных для этой патологии. В то же время около трети населения в странах Европы и Северной Америки и до 90% в развивающихся странах являются хроническими носителями *Helicobacter pylori* [13, 20].

В настоящее время нет общего мнения по оптимальной тактике ведения пациентов, длительно принимающих НПВП и инфицированных *Helicobacter pylori* [6]. И проявляют ли эти факторы синергетический или антагонистический эффект — является спорным моментом [2]. Данные метаанализа J. Q. Huang и соавт. показали, что риск пепсиновых язв приблизительно в 60 раз выше у пациентов с положительными результатами исследований на *Helicobacter pylori*, принимающих НПВП [12]. Но клинические исследования С. J. Hawkey и соавт. продемонстрировали, что после эрадикации *Helicobacter pylori* заживление язвенных поражений слизистой оболочки желудка у принимающих НПВП несколько задерживается после лечения омепразолом, подразумевая, что *Helicobacter pylori* может оказывать протекторное действие в отношении НПВП-индуцированной язвы, возможно каким-либо образом стимулируя простагландины слизистой оболочки и другие защитные факторы [17].

Цель исследования — изучение штаммов *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке желудка у взрослых пациентов, принимающих НПВП.

Материалы и методы. В исследование включено 34 пациента (15 мужчин и 19 женщин, средний возраст $(56,70 \pm 1,46)$ года). Исследуемые были разделены на три группы, при этом дополнительным критерием включения в I и II группы было применение

пациентом НПВП в течение не менее 30 календарных дней, предшествовавших исследованию.

I группа — больные, получающие диклофенак в дозе 100 мг в сутки (16 человек, средний возраст $(60,30 \pm 1,28)$ года);

II группа — больные, получающие терапию мелоксикамом в дозе 15 мг в сутки (11 человек, средний возраст $(58,30 \pm 1,28)$ года);

III группа — контрольная: лица, не принимающие НПВП (7 человек, средний возраст $(46,30 \pm 1,57)$ года).

Всем пациентам проводилась эзофагогастро-дуоденоскопия с взятием биопсии для дальнейшего гистологического исследования на *Helicobacter pylori* и методом полимеразной цепной реакции. Необходимо отметить, что из исследования исключались лица, которым ранее проводилась эрадикация *Helicobacter pylori* и принимавшие ингибиторы протонной помпы в течение полугода, предшествующего исследованию.

Полученные при биопсии фрагменты слизистой оболочки желудка фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин по общепринятой методике. Генотипирование *Helicobacter pylori* осуществлялось из биоптатов антрального отдела желудка методом полимеразной цепной реакции (тест-система «Хеликопол-П» НПФ «Литех» (Россия)). Определяли наличие генов *cag A* и *bab A2*, а также полиморфизм генов *vac A* по сигнальному и среднему участку (подтипы s1/s2 и m1/m2, соответственно) и *ice A* (подтипы iceA1/iceA2).

Статистическая разработка информации исследуемого контингента включала в себя изучение штаммов *Helicobacter pylori* на фоне приема НПВП с учетом характера патологии слизистой оболочки желудка (гастриты/эрозивно-язвенные изменения). Для оценки достоверности различия (p) между выборочными долями рассчитывался t -критерий Стьюдента. Изменения считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическая обработка проведена с использованием пакета Statistica 6.0.

Таблица 1

Генотипы штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных из биоптатов слизистой оболочки желудка, по клиническим группам

Генотипы <i>Helicobacter pylori</i>	I группа		II группа		III группа	
	абс	%	абс	%	абс	%
Номер графы	1		2		3	
<i>vac A s1/m1; cag A+</i>	1	6,25	1	9,09	0	
<i>vac A s1/m1; cag A+; ice A1</i>	2	12,50	3	27,27	2	28,57
<i>vac A s1/m2; cag A-; ice A2</i>	0	0	0	0	1	14,29
<i>vac A s2/m2; cag A-; ice A2</i>	1	6,25	1	9,09	2 ^{1, 2}	28,57
<i>vac A s2/m2; cag A-;</i>	1	6,25	2	18,18	2	28,57
<i>vac A s1/m1; cag A-; ice A2</i>	1	6,25	0	0	0	0
<i>vac A s1/m2; cag A+; ice A1</i>	2 ^{2, 3}	12,50	0	0	0	0
<i>vac A s1/m2; cag A+; bab A-; ice A2</i>	1	6,25	0	0	0	0
<i>vac A s2/m1; cag A-; ice A1</i>	1	6,25	0	0	0	0
<i>vac A s1/m2; cag A-;</i>	3 ^{2, 3}	18,75	1	9,09	0	0
<i>vac A s2/m2; cag A-; ice A1</i>	2	12,50	2	18,18	0	0
<i>vac A s1/m2; cag A+; bab A</i>	1	6,25	1	9,09	0	0

Примечание. В данной таблице верхний индекс обозначает номер графы, с показателем которого имеются статистически достоверные различия.

Результаты собственных исследований. На основе полученных нами результатов были выделены 12 комбинаций генотипов *vac A*, *cag A*, *bab A2*, *ice A Helicobacter pylori* (табл. 1).

В общей структуре исследуемых биоптатов чаще всего был идентифицирован генотип *vac A s1/m1; cag A+; ice A1* (7 случаев из 34 (20,58%), $p < 0,05$). Распределение генотипов по клиническим группам оказалось достаточно гетерогенным (табл. 1).

Были проанализированы сочетания генов по аллелям сигнального и среднего участков *vac A* (*vacuolating-associated cytotoxin* – вакуолизирующего токсина) – подтипы *s1/s2* и *m1/m2* (рис. 1).

Известно, что штаммы *Helicobacter pylori* с подтипами *s1/m1* и *s1/m2* обладают наибольшим уровнем

экспрессии секреции цитотоксина, тогда как подтипам *s2/m2* свойствен меньший уровень токсичности [7]. В общей выборке чаще встречался генотип *vac A s2/m2* (38,24%). В I клинической группе в 43,75% случаев выделен *Helicobacter pylori* с наличием *vac A s1/m2* ($p < 0,05$); во второй и третьей – *vac A s2/m2* (45,46% и 57,14% соответственно; $p < 0,05$).

Ген *cag A* (*cytotoxin-associated gene*) является одним из важнейших факторов цитотоксичности, кодирует белки IV секреторной системы *Helicobacter pylori*, необходимой для транспортировки эффекторных молекул бактерии к эукариотическим клеткам [19], которые позволяют *Helicobacter pylori* модулировать метаболизм эпителиоцитов слизистой оболочки желудка, включая экспрессию протоонкогенов [8]. Инфицирование *cag A*-позитивными штаммами *Helicobacter pylori* повышает риск развития воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка [18].

Распределение *cag A+* по исследуемым группам представлено на рисунке 2. В группах пациентов, принимавших мелоксикам и диклофенак, *cag A+* выделялась с примерно равной частотой – 43,75% и 45,45% соответственно ($p > 0,05$), при этом в общей выборке исследуемого контингента также чаще обнаруживались штаммы *cag A-* (58%, $p > 0,05$).

Особый интерес вызывает распределение серотипов у пациентов с эрозивно-язвенными изменениями слизистой оболочки желудка и без таковых. Прежде всего, необходимо отметить, что в I клинической группе эрозивно-язвенные изменения были диагностированы в 50% случаев, во II – в 54,5%, в III – в 14,3%.

Если в общей выборке пациентов (без учета приема НПВП) эрозивно-язвенные поражения в 31,25%

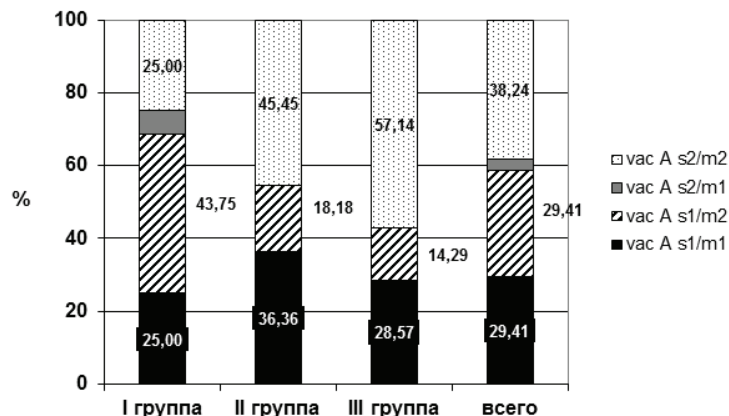


Рис. 1. Распределение вариантов генотипа *vac A Helicobacter pylori* по клиническим группам.

Таблица 2

Генотипы штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных из биоптатов слизистой оболочки желудка, в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений

Генотипы <i>Helicobacter pylori</i>	Гастрит		Эрозии	
	абс	%	абс	%
Номер графы	1		2	
<i>vac A s1/m1; cag A+</i>	1	5,56	1	6,25
<i>cac A s1/m1; cag A+; ice A1</i>	2	11,11	5 ¹	31,25
<i>vac A s1/m2; cag A-; ice A2</i>	1	5,56	0	0
<i>vac A s2/m2; cag A-; ice A2</i>	2	11,11	2	12,50
<i>vac A s2/m2; cag A-</i>	3	16,67	2	12,50
<i>vac A s1/m1; cag A-; ice A2</i>	1	5,56	0	0
<i>vac A s1/m2; cag A+; ice A1</i>	0		2 ¹	12,50
<i>vac A s1/m2; cag A+; bab A; ice A2</i>	1	5,56	0	0
<i>vac A s2/m1; cag A-; ice A1</i>	1	5,56	0	0
<i>vac A s1/m2; cag A-</i>	4 ²	22,22	0	0
<i>vac A s2/m2; cag A-; ice A1</i>	1	5,56	3 ¹	18,75
<i>vac A s1/m2; cag A+; bab A</i>	1	5,56	1	6,25

Примечание. В данной таблице верхний индекс обозначает номер графы, с показателем которого имеются статистически достоверные различия.

были сопряжены с генотипом *vacA s1/m1; cagA+*; *ice A1* (табл. 2), то в группах, сформированных в зависимости от приема НПВП, соотношение было другим. Среди наблюдаемых I клинической группы, принимавших диклофенак, эрозивно-язвенные изменения были связаны с *cag A+* в 55,56% и *cag A-* 44,44%, во II группе, принимавших мелоксикам — 66,67% и 33,33% соответственно ($p < 0,05$) (рис. 3).

Еще более интересным было распределение серотипов *vac A*. В группе принимавших диклофенак среди лиц с эрозивно-язвенными изменениями были выделены только серотипы *vac A s1/m1*, *vac A s1/m2*

и *vac A s2/m2* с распределением 22,2%, 33,3% и 44,4% соответственно ($p < 0,05$) (рис. 4).

А во второй группе, где пациенты принимали мелоксикам, были выделены только серотипы *vac A s1/m1* и *vac A s2/m2* с распределением 66,67% и 33,33% соответственно ($p < 0,05$).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии определенных статистически значимых различий в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений и фактора приема НПВП. Отмечено достоверное влияние фактора приема НПВП на наличие определенных штаммов

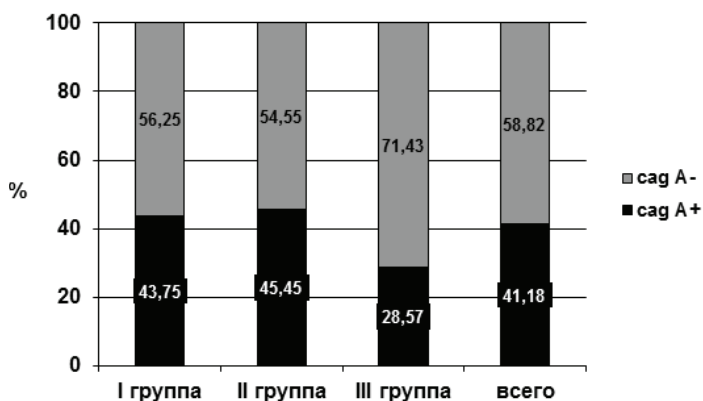


Рис. 2. Распределение вариантов генотипа *cag A Helicobacter pylori* по клиническим группам.

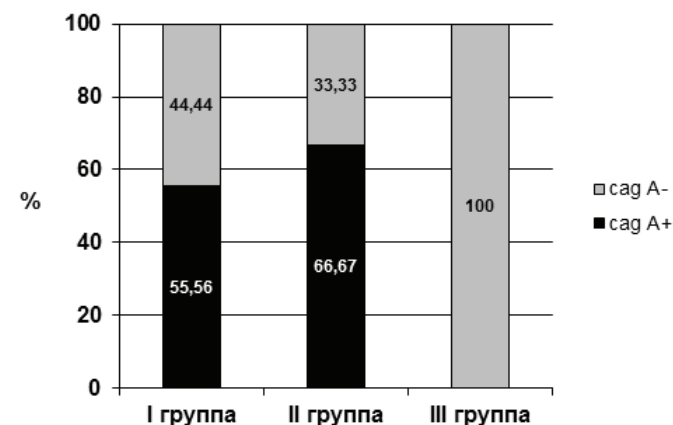


Рис. 3. Распределение вариантов генотипа *cag A Helicobacter pylori* по клиническим группам в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений.

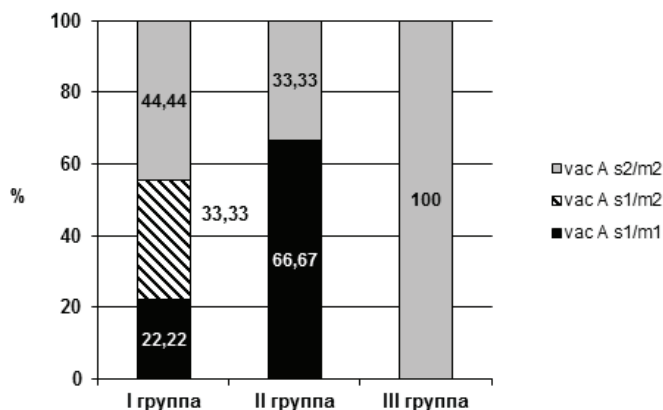


Рис. 4. Распределение вариантов генотипов *vac A Helicobacter pylori* по клиническим группам в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений.

Литература:

1. Насонов Е. Л. Нестероидные противовоспалительные препараты (Перспективы применения в медицине) / Е. Л. Насонов. — М.: Анко, 2000. — 142 с.
2. Ширинская Н. В. НПВП-гастропатия и *Helicobacter pylori*: больше вопросов, чем ответов / Н. В. Ширинская, В. А. Ахмедов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2010. — № 9. — С. 116–120.
3. Aspirin inhibits the growth of *Helicobacter pylori* and enhances its susceptibility to antimicrobial agents / W. H. Wang, W. M. Wong, D. Dailidienne [et al.] // Gut. — 2003. — Vol. 52. — P. 490–495.
4. Barkin J. The relation between *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs / J. Barkin // Am. J. Med. — 1998. — Vol. 105, No 5A. — P. 22–27.
5. Brooks P. M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: differences and similarities / P. M. Brooks, R. O. Day // N. Engl. J. Med. — 1993. — Vol. 324. — P. 1716–1725.
6. Chan F. K. L. NSAID-induced peptic ulcers and *Helicobacter pylori* infection / F. K. L. Chan // Drug Safety. — 2005. — No 28. — P. 287–300.
7. Cover T. L. Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori* / T. L. Cover, M. J. Blaser // J. Biol. Chem. — 1992. — Vol. 267. — P. 10570–10575.
8. Cover T. L. The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* / T. L. Cover // Mol. Microbiol. — 1996. — Vol. 20. — P. 241–246.
9. Effect of aspirin and celecoxib on *Helicobacter pylori* in vitro / H. X. Ma, W. H. Wang, W. H. Hu [et al.] // Shijie Huaren Xiaohua Zazhi. — 2006. — Vol. 14. — P. 2747–2752.
10. Effect of cyclo-oxygenase inhibitors on *Helicobacter pylori* susceptibility to metronidazole and clarithromycin / Q. Gu, H. H. Xia, W. H. Wang [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2004. — Vol. 20. — P. 675–681.
11. Effect of *Helicobacter pylori* colonisation on gastric mucosal eicosanoid synthesis in patients taking non-steroidal anti-inflammatory drugs / N. Hudson, M. Bal-

Helicobacter pylori при эрозивно-язвенных изменениях слизистой оболочки желудка ($p < 0,01$).

Несмотря на то, что ряд исследований *in vitro* показали, что ацетилсалициловая кислота и целекоксиб (как селективный ингибитор циклооксигеназы 2) тормозили рост *Helicobacter pylori* и уменьшали активность уреазы и вакуолизирующего токсина дозозависимым способом, тем самым указывая, что НПВП может противодействовать повреждениям слизистой оболочки желудка, вызванной инфекцией *Helicobacter pylori* [3, 9, 10, 14, 15], вследствие сложных механизмов, вовлеченных в каскад цитокинов [4, 7, 11, 16], молекулярный механизм взаимодействия между *Helicobacter pylori* и НПВП во многом остается неясным и требует дальнейшего изучения на больших контингентах пациентов.

sitis, F. Filipowicz [et al.] // Gut. — 1993. — Vol. 34. — P. 748–751.

12. Huang J. Q. Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis / J. Q. Huang, S. Sridhar, R. H. Hunt // Lancet. — 2002. — Vol. 359. — P. 14–22.

13. Immunobiology of *Helicobacter pylori* infection / J. L. Telford, A. Covacci, R. Rappuoli [et al.] // Curr. Opin. Immunol. — 1997. — Vol. 9. — P. 498–503.

14. Inhibitory effects of aspirin and indometacin on the growth of *Helicobacter pylori* in vitro / W. H. Wang, F. L. Hu, B. C. Y. Wong [et al.] // Chin. J. Dig. Dis. — 2002. — Vol. 3. — P. 172–177.

15. Non-steroidal anti-inflammatory drugs have bacteriostatic and bactericidal activity against *Helicobacter pylori* / H. Shirin, S. F. Moss, S. Kancharla [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. — 2006. — Vol. 21. — P. 1388–1393.

16. Proença-Modena J. L. *Helicobacter pylori*: phenotypes, genotypes and virulence genes / J. L. Proença-Modena, G. O. Acrani, M. Brocchi // Future Microbiol. — 2009. — Vol. 4, No 2. — P. 223–240.

17. Randomised controlled trial of *Helicobacter pylori* eradication in patients on non-steroidal anti-inflammatory drugs: HELP NSAIDs study. *Helicobacter* eradication for lesion prevention / C. J. Hawkey, Z. Tulassay, L. Szczepanski [et al.] // Lancet. — 1998. — Vol. 352. — P. 1016–1021.

18. Suzuki R. Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori* / R. Suzuki, S. Shiota, Y. Yamaoka // Infect. Genet. Evol. — 2012. — Vol. 12, No 2. — P. 203–213.

19. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion / S. Odenbreit, J. Puls, B. Sedlmaier [et al.] // Science. — 2000. — Vol. 287. — P. 1497–1500.

20. Walker M. M. *Helicobacter pylori* infection and the pathogenesis of duodenal ulceration / M. M. Walker, J. E. Crabtree // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1998. — Vol. 859. — P. 96–111.

RU **Генотип *Helicobacter pylori* и нестероидные противовоспалительные препараты**

Н. В. Ширинская¹, Е. Г. Поморгайло², Т. В. Васькина³, Н. П. Кириченко³

¹Медицинский информационно-аналитический центр,
²Омский государственный медицинский университет,
³Клинический диагностический центр,
Омск, Россия

Ключевые слова: желудок, *Helicobacter pylori*, штаммы, генотип, нестероидные противовоспалительные препараты

Изучали штаммы *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке желудка у взрослых пациентов, принимающих различные нестероидные противовоспалительные препараты. Генотипирование *Helicobacter pylori* осуществляли методом полимеразной цепной реакции. Результаты проведенного исследования, несмотря на некоторую гетерогенность, свидетельствуют о наличии статистически значимых различий в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений и фактора приема нестероидных противовоспалительных препаратов.

EN **Genotype of *Helicobacter pylori* and non-steroidal anti-inflammatory drugs**

N. V. Shirinskaya¹, Y. G. Pomorgaylo², T. V. Vas'kina³, N. P. Kirichenko³

¹Omsk State Medical Information-Analytical Centre,
²Omsk State Medical University,
³Omsk State Medical Diagnostic Center,
Omsk, Russia

Key words: stomach, *Helicobacter pylori*, strains, genotype, non-steroidal anti-inflammatory drugs

Studying strains of *Helicobacter pylori* in a mucous membrane of a stomach in adult patients taking non-steroidal anti-inflammatory drugs was carried out. *Helicobacter pylori* genotyping was performed by technique of polymerase chain reaction. Results of the conducted research, despite some heterogeneity, show existence of statistically significant differences depending on existence of erosive and ulcer changes and a factor of non-steroidal anti-inflammatory drugs intake.

UA **Генотип *Helicobacter pylori* і нестероїдні протизапальні препарати**

Н. В. Ширинська¹, Є. Г. Поморгайло², Т. В. Васькіна³, Н. П. Кириченко³

¹Медичний інформаційно-аналітичний центр,
²Омський державний медичний університет,
³Клінічний діагностичний центр,
Омськ, Росія

Ключові слова: шлунок, *Helicobacter pylori*, штами, генотип, нестероїдні протизапальні препарати

Вивчали штами *Helicobacter pylori* в слизовій оболонці шлунка у дорослих пацієнтів, що приймали різні нестероїдні протизапальні препарати. Генотипування *Helicobacter pylori* здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції. Результати проведеного дослідження, незважаючи на деяку гетерогенність, свідчать про наявність статистично значущих відмінностей залежно від наявності ерозивно-виразкових змін і фактора прийому нестероїдних протизапальних препаратів.