УДК 615.276:616.98:579.835:575.22

ГЕНОТИП *HELICOBACTER PYLORI* У ЛИЦ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЛЕЧЕНИИ НПВП

Ширинская Н. В.[1], Поморгайло Е. Г.[2], Ахмедов В. А.[2], Васькина Т. В.[3], Кириченко Н. П.[3]
[1] БУЗОО «Медицинский информационно-аналитический центр»
[2] ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ
[3] БУЗОО «Клинический диагностический центр»

GENOTYPE *HELICOBACTER PYLORI* AT NSAIDS TAKING PATIENTS

Shirinskaya N. V.[1], Pomorgaylo E. G.[2], Akhmedov V. A.[2], Vaskina T. V.[3], Kirichenko N. P.[3]
[1] Omsk State Medical Information-Analytical Centre
[2] Omsk State Medical University
[3] Omsk State Medical Diagnostic Center

Ширинская Н. В. — заместитель директора, к.м.н.
Поморгайло Е. Г. — профессор кафедры патологической анатомии, д.б.н.
Ахмедов В. А. — заведующий кафедрой медицинской реабилитации ДПО, д.м.н., профессор
Васькина Т. В. — заведующая патоморфологическим отделом, к.м.н.
Кириченко Н. П. — заведующая эндоскопическим отделом

Shirinskaya N. V. — deputy director, Head of a medical statistics, MD
Pomorgaylo E. G. — professor of the Department of Pathological Anatomy with a Course of Clinical Pathology, Ph.D.
Akhmedov V. A. — Head of the Department of medical rehabilitation, Ph.D.
Vaskina T. V. — Head of the pathomorphology department, MD
Kirichenko N. P. — Head of the endoscopy department

Ахмедов Вадим Адильевич
Akhmedov Vadim A.
v_akhmedov@mail.ru

Резюме

В исследование включено 34 пациента (15 мужчин и 19 женщин, средний возраст 56,7±1,46). 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-ти календарных дней, предшествовавших исследованию.

Проведено изучение штаммов *Helicobacter pylori* (HP) в слизистой оболочке желудка у взрослых пациентов, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Генотипирование HP осуществляли методом ПЦР. В общей структуре исследуемых биоптатов чаще всего были идентифицированы генотип *vac A s1/m1; cag A+; iceA1* (7 случаев из 34 (20,58 %), p<0.05). Распределение генотипов по клиническим группам оказалось достаточно гетерогенным Результаты проведенного исследования, несмотря на некоторую гетерогенность, свидетельствуют о наличии статистически значимых, различий в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений и фактора приема НПВП.

Ключевые слова: желудок, *Helicobacter pylori*, штаммы, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП)

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 148 (12): 9–13

Summary

The study included 34 patients (15 men and 19 women, average age 56,7±1,46). The test was divided into three groups, with the additional inclusion criterion of I and II groups was the use of a patient NSAIDs for at least 30 calendar days prior to the survey.

A study of strains of *Helicobacter pylori* (HP) in gastric mucosa of adult patients receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). HP genotyping was performed by PCR. In the General structure of the studied biopsy specimens was often identified genotype vac *A s1/m1, cag A+; iceA1* (7 cases out of 34 (of 20.58 %), p<0.05). The distribution of genotypes in the clinical groups were quite heterogeneous, the Results of the conducted studies, despite some heterogeneity, indicate the presence of statistically significant differences depending on the presence of erosive-ulcerative changes and factors of NSAIDs.

Key words: stomach, Helicobacter pylori, strains of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)

Eksperimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 148 (12): 9–13

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) – являются основными, общепризнанными факторами повреждения слизистой оболочки желудка. В настоящее время около 30 % населения в развитых странах и до 90 % в развивающихся являются хроническими носителями *Helicobacter pylori* [1, 2]. При этом зачастую, пациенты принимающие НПВП, инфицируются *H. pylori*.

Однако, проявляют ли два эти фактора синергетический или антагонистический эффект является спорным моментом [3]. Данные метанализа Huang J. Q. и соавт. показали, что риск пепсиновых язв приблизительно в 60 раз выше у пациентов *с положительными результатами исследований на H. pylori*, принимающих НПВП [4]. Длительное клиническое испытание Hawkey C. J. и соавт. продемонстрировало, что после эрадикации *H. pylori* заживление язвенных поражений слизистой оболочки желудка у принимающих НПВП несколько задерживается после лечения омепразолом, подразумевая, что *H. pylori* может оказывать протективное действие против НПВП – индуцированной язвы, возможно, каким либо образом, стимулируя простагландины слизистой оболочки и другие защитные факторы [5].

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

Материал и методы исследования

В исследование включено 34 пациента (15 мужчин и 19 женщин, средний возраст 56,7±1,46). 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-ти календарных дней, предшествовавших исследованию.

- I группа – больные получающие диклофенак в дозе 100 мг в сутки (16 человек, средний возраст 60,3±1,28);
- II группа – больные получающие терапию мелоксикамом в дозе 15 мг в сутки (11 человек, средний возраст 58,3±1,28);
- III группа – контрольная, лица, не принимающие НПВП, (7 человек, средний возраст 46,3±1,57).

Всем пациентам проводилась эзофагогастродуоденоскопия со взятием биопсии для дальнейшего гистологического исследования на *Helicobacter pylori* и ПЦР. Необходимо отметить, что из исследования исключались лица, которым ранее проводилась эрадикация H.pylori и принимавшие ингибиторы протонной помпы в течение полугода предшествующему исследованию.

Полученные при биопсии фрагменты слизистой оболочки желудка фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, заливали в парафин по общепринятой методике. Генотипирование HP осуществлялось из биоптатов антрального отдела желудка методом ПЦР (тест-система «Хеликопол-II» 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 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..

Результаты собственных исследований

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

В общей структуре исследуемых биоптатов чаще всего были идентифицированы генотип *vac A s1/m1; cag A+; iceA1* (7 случаев из 34 (20,58 %),

№	Генотипы Helicobacter pylori	I группа		II группа		III группа	
		абс	%	абс	%	абс	%
	Номер графы	1		2		3	
1	vac A s1/m1; cag A+	1	6,25	1	9,09	0	
2	vac A s1/m1; cag A+; iceA1	2	12,50	3	27,27	2	28,57
3	vac A s1/m2; cag A-; ice A2	0	0	0	0	1	14,29
4	vac A s2/m2; cag A-; ice A2	1	6,25	1	9,09	$2^{1\ 2}$	28,57
5	vac A s2/m2; cag A-;	1	6,25	2	18,18	2	28,57
6	vac A s1/m1; cag A-; ice A2	1	6,25	0	0	0	0
7	vac A s1/m2; cag A+; ice A1	$2^{2\ 3}$	12,50	0	0	0	0
8	vac A s1/m2; cag A+; bab A: ice A2	1	6,25	0	0	0	0
9	vac A s2/m1; cag A-; ice A1	1	6,25	0	0	0	0
10	vac A s1/m2; cag A-;	$3^{2\ 3}$	18,75	1	9,09	0	0
11	vac A s2/m2; cag A-; ice A1	2	12,50	2	18,18	0	0
12	vac A s1/m2; cag A+; bab A	1	6,25	1	9,09	0	0

Таблица 1.
Генотипы штаммов *Helicobacter pylori*, выделенные из биоптатов слизистой оболочки желудка, по клиническим группам

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

№	Генотипы Helicobacter pylori	гастрит		эрозии	
		абс	%	абс	%
	Номер графы	1		2	
1	vac A s1/m1; cag A+	1	5,56	1	6,25
2	cac A s1/m1; cag A+; ice A1	2	11,11	5^{1}	31,25
3	vac A s1/m2; cag A-; ice A2	1	5,56	0	0
4	vac A s2/m2; cag A-; ice A2	2	11,11	2	12,50
5	vac A s2/m2; cag A-;	3	16,67	2	12,50
6	vac A s1/m1; cag A-; ice A2	1	5,56	0	0
7	vac A s1/m2; cag A+; ice A1	0		2^{1}	12,50
8	vac A s1/m2; cag A+; bab A: ice A2	1	5,56	0	0
9	vac A s2/m1; cag A-; ice A1	1	5,56	0	0
10	vac A s1/m2; cag A-;	4^{2}	22,22	0	0
11	vac A s2/m2; cag A-; ice A1	1	5,56	3^{1}	18,75
12	vac A s1/m2; cag A+; bab A	1	5,56	1	6,25

Таблица 2.
Генотипы штаммов Helicobacter pylori, выделенные из биоптатов слизистой оболочки желудка, в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений.

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

$p<0.05$). Распределение генотипов по клиническим группам оказалось достаточно гетерогенным (таблица 1).

Нами были проанализированы сочетания генов по аллелям сигнального и среднего участков *vac A* (vacuolating-associatted cytotoxin – *вакуолизирующего токсина*) – подтипы *s1/s2* и *m1/m2*. Известно, что штаммы *H. pylori*, с подтипами *s1/m1 и s1/m2*, обладают наибольшим уровнем экспресии секреции цитотоксина, тогда как подтипам *s2/m2 свойствен меньший уровень* токсичности [6]. В общей выборке, чаще встречался генотип *vac A s2/m2* (38,24 %). В I клинической группе в 43,75 % случаев выделен *H. pylori* с наличием *vac A s1/m2* ($p<0.05$); во второй и третьей *vac A s2/m2* (45,46 % и 57,14 % соответственно; $p<0.05$) рисунок 1.

Ген *cag A* (cytotoxin-associated gene) *является одним из важнейших факторов цитоксичности*, кодирует белки IV секреторной системы *H. pylori*, еобходимой, для транспортировки эффекторных молекул бактерии к эукариотическим клеткам [7]; которые позволяют *H. pylori* модулировать метаболизм эпителиоцитов слизистой желудка, включая экспрессию протоонкогенов [8]. Инфицирование *cag A* позитивными штаммами H.pylori повышает риск развития воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка [9].

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-ей –14,3 %.

Если в общей выборке пациентов (без учета приема НПВП) эрозивно-язвенные поражения в 31,25 % были сопряжены с генотипом *vacA s1/m1; cagA+; ice A1* (таблица 2.).

То 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 62,5 % и в 66,67 % во II группе, принимавших мелоксикам – 66,67 % и 33,33 % соответственно ($p<0.05$).

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 ($p<0.05$).

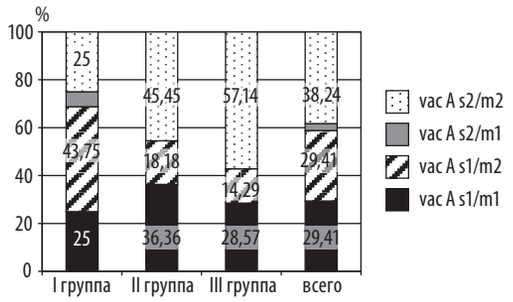

Рисунок 1.
Распределение вариантов генотипа vac A H. pylori, по клиническим группам.

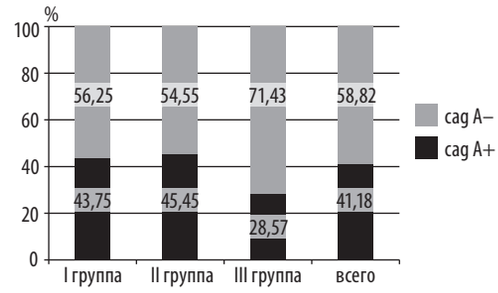

Рисунок 2.
Распределение вариантов генотипа cagA H. pylori, по клиническим группам.

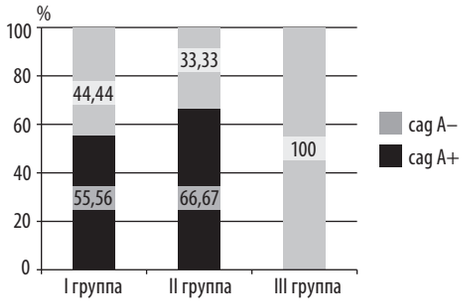

Рисунок 3.
Распределение вариантов генотипа cag A H. pylori, по клиническим группам, в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений.

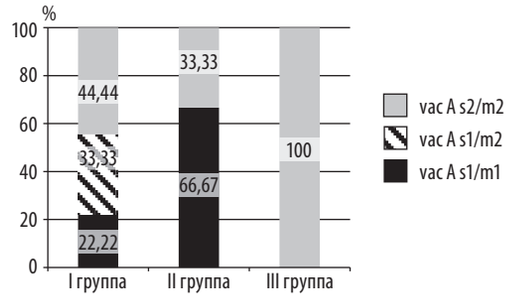

Рисунок 4.
Распределение вариантов генотипов vacA H. pylori, по клиническим группам, в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений.

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 ($p<0.05$).

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии определенных, статистически значимых различий в зависимости от наличия эрозивно-язвенных изменений и фактора приема нестероидных противовоспалительных средств. Отмечено достоверное влияние фактора приема НПВП на наличие определенных штаммов *Helicobacter pylori* при эрозивно-язвенных изменениях слизистой желудка ($p<0.01$).

Несмотря на то, что ряд исследований in vitro показали, что аспирин и celecoxib (как селективный ингибитор циклооксигеназы –2), тормозили рост *H. pylori* и уменьшали активность уреазы и *вакуолизирующего токсина* в дозозависимом способе, тем самым указывая, что НПВП может противодействовать повреждениям слизистой оболочки желудка, вызванной инфекцией *H. pylori* [10–14]; вследствии сложных механизмов, вовлеченных в каскад цитокинов [6, 15–17], молекулярный механизм взаимодействия между Helicobacter pylori и НПВП во многом остается неясным и требует дальнейшего изучения.

Литература

1. *Telford J. L., Covacci A., Rappuoli R. et al.* Immunobiology of *Helicobacter pylori* infection. Curr Opin Immunol., 1997, vol. 9, pp. 498–503.
2. *Walker M. M., Crabtree J. E. Helicobacter pylori* infection and the pathogenesis of duodenal ulceration. Ann N Y Acad Sci., 1998, vol.859, pp. 96–111.
3. *Ширинская Н. В., Ахмедов В. А.* НПВП-гастропатия и *Helicobacter pylori*: больше вопросов, чем ответов. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология., 2010. № 9. с. 116–120.
4. *Huang J. Q., Sridhar S., Hunt R. H.* Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. Lancet, 2002, vol. 359, pp. 14–22.
5. *Hawkey C. J., Tulassay Z., Szczepanski L., et al.* Randomised controlled trial of *Helicobacter pylori* eradication in patients on non-steroidal anti-inflammatory drugs: HELP NSAIDs study. Helicobacter Eradication for Lesion Prevention. Lancet, 1998, vol. 352, pp.1016–1021.
6. *Cover T. L., Blaser M. J.* Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. J. Biol. Chem., 1992, vol. 267, pp. 10570–10575.
7. *Odenbreit S., Puls J., Sedlmaier B. et al.* Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science, 2000, vol. 287, pp.1497–1500.
8. *Cover T. L.* The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. Mol. Microbiol., 1996, vol. 20, pp. 241–246.
9. *Suzuki R., Shiota S., Yamaoka Y.* Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori*. Infect Genet Evol., 2012, vol.12(2), pp. 203–213.
10. *Gu Q., Xia H. H., Wang W. H., et al.* Effect of cyclo-oxygenase inhibitors on *Helicobacter pylori* susceptibility to metronidazole and clarithromycin. Aliment Pharmacol Ther., 2004, vol. 20, pp. 675–681.
11. *Wang W. H., Wong W. M., Dailidiene D., et al.* Aspirin inhibits the growth of *Helicobacter pylori* and enhances its susceptibility to antimicrobial agents. Gut, 2003, vol.52, pp. 490–495.
12. *Wang W. H., Hu F. L., Wong B. C.Y, et al.* Inhibitory effects of aspirin and indometacin on the growth of *Helicobacter pylori* in vitro. Chin J Dig Dis., 2002, vol. 3, pp. 172–177.
13. *Shirin H., Moss S. F., Kancherla S., et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs have bacteriostatic and bactericidal activity against *Helicobacter pylori*. J Gastroenterol Hepatol., 2006, vol. 21, pp. 1388–1393.
14. *Ma H. X., Wang W. H., Hu F. L. et al.* Effect of aspirin and celecoxib on *Helicobacter pylori* in vitro. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi., 2006, vol. 14, pp. 2747–2752.
15. *Barkin J.* The relation between *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am J Med., 1998, vol. 105, № 5A, pp. 22S-27S.
16. *Hudson N., Balsitis M., Filipowicz F., et al.* Effect of *Helicobacter pylori* colonisation on gastric mucosal eicosanoid synthesis in patients taking non-steroidal anti-inflammatory drugs. Gut, 1993, vol. 34, pp. 748–751.
17. *Proença-Modena J.L., Acrani G. O., Brocchi M. Helicobacter pylori*: phenotypes, genotypes and virulence genes. Future Microbiol., 2009, vol.4(2), pp.223–240.