

В.С. ТЕРЕЩЕНКО

Самарский государственный медицинский университет

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ИНФЕКЦИИ**

Статья посвящена обзору литературы по проблеме микробиологической диагностики хеликобактериозов.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, хеликобактериоз, уреазы, факторы патогенности

Терещенко Василий Сергеевич - очный аспирант кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии. E-mail: basterser@yandex.ru

V.S. TERESHCHENKO

Samara State Medical University

**MICROBIOLOGICAL PECULIARITIES
OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION**

The article is devoted to the review of literature on the problem of the *Helicobacter pylori* infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, *H. pylori* infection, urease, pathogenity factors

Vasilii Tereshchenko - postgraduate student of the department of Microbiology.
E-mail: basterser@yandex.ru

В настоящее время род *Helicobacter* включает в себя около 29 видов. На сегодняшний день представители рода *Helicobacter* выделены практически от всех видов теплокровных животных, даже от насекомых и этот список продолжает расширяться. Основное место в патологии человека занимает *Helicobacter pylori*. Клетки представляют из себя палочковидные бактерии, имеющие четыре морфологических варианта: слегка изгибающиеся посередине палочки, напоминающие по форме человеческую почку, S-образно изогнутые (точка изгиба располагается ближе к одному из концов клетки) по плоскости палочки, спиралевидные и кокковидные формы. Многочисленные жгутики располагаются перитрихально, имеют на концах вздутия и покрыты чехлом. По типу дыхания являются микроаэрофилами. Растут на питательных средах медленно, температурный оптимум роста - 37°C. Каталазо- и оксидазоположительные, гидролизуют мочевины [1].

Как и любая другая грамотрицательная бактерия, хеликобактер содержит в составе своей клеточной стенки липополисахарид, который является мощным антигеном, способным вызвать выраженный иммунный ответ. Однако *H. pylori* способен презентовать на О-специфической цепи своего липополисахарида групповые антигены Lewis^b, которые характер-

ны для моноцитов, макрофагов, гранулоцитов и клеток эпителия желудка. Таким образом микроб маскируется под клетки организма-хозяина и избегает развития иммунного ответа [16].

При культивировании хеликобактера *in vitro* и в естественных условиях от наружной мембраны отпочковываются везикулы, она разрушается, возникает дефект клеточной стенки. Сначала клеточная стенка истощается за счет наружной мембраны, затем начинает страдать пептидогликан: он становится все более ячеистым. Дефекты нарастают и скелет перестает держать форму, она принимает энергетически наиболее выгодную сферическую форму (так называемый кокковидный морфологический вариант). Когда теряется весь пептидогликан, клетка переходит в сферопласт, окруженный только цитоплазматической мембраной, что является последней степенью потери клеточной стенки. Это один из способов уклонения от антибактериальной терапии [30].

Helicobacter pylori обладает микрокапсулой *in vivo*, однако при культивировании на питательных средах утрачивает её. По строению клеточной стенки *H. pylori* является типичным грамотрицательным микроорганизмом. Пептидогликан хеликобактера имеет некоторые особенности: он представляет из себя не сплош-

ную цепь, а является прерывистым, в нем существуют дефекты, поперечные мостики расположены не так часто. Данная особенность пептидогликана *H. pylori* играет весьма важную роль для форм, способных переживать неблагоприятные условия в водоемах. Между цитоплазматической мембраной и клеточной стенкой располагается периплазматическое пространство. S-образные формы клеток имеют отличия: наружная мембрана уплотнена, регулярность ригидного слоя нарушена, периплазматическое пространство уширено. Перечисленные признаки свидетельствуют о старении клетки [3].

H. pylori за счет наличия жгутиков имеет способность к активному передвижению, обладает хемотаксисом. При снижении pH желудочной слизи, хеликобактер распространяется по всей внутренней поверхности органа. Микроб обладает положительным таксисом в направлении увеличения вязкости желудочной слизи. Кроме того, жгутик очень интересен для эпидемиологического анализа. Средняя длина бактериального гена 300-400 нуклеотидов, а длина гена, кодирующего жгутиковый белок флагеллин, - 1300. Исследуя ген при помощи электрофореза, можно делать выводы о родстве штаммов [9].

Геном хеликобактера содержит всего 1,668 млн. пар нуклеиновых кислот. Для микроба характерна чрезвычайно высокая изменчивость: у хеликобактера между генами вставлены гомополимерные тракты (полиаденин или динуклеотидные повторы), из-за чего происходят ошибки при считывании генома. Ошибки способствуют накоплению необычных вариантов микроорганизма, часть из которых оказывается удачными, а неудачные варианты выбраковываются в эволюционном процессе. Кроме того, *H. pylori* обладает способностью к природной трансформации: он способен поглощать и рационально использовать фрагменты геномов других микроорганизмов [6, 28].

У некоторых штаммов *H. pylori* около 62 патогенных генов располагаются в так называемом острове патогенности *cag PAI* (cytotoxin-associated gene pathogenicity island), маркером которого является ген *CagA*. Те штаммы хеликобактера, которые несут остров патогенности, продуцируют *CagA* и обладают этим геном отнесены к типу I, тип II – лишены гена, не продуцирующие белок. Соотношение этих штаммов в мире разнится в зависимости от региона [12, 24].

CagA – это иммуногенный протеин, состоящий из 1200 аминокислотных фраг-

ментов, кодируемый *CagA* геном *H. pylori* и стимулирующий выделение интерлейкинов 8 типа, индуцирующих мощную воспалительную реакцию. В клетки желудочного эпителия *CagA* попадает с помощью сложной системы секреции IV типа. Данная система примечательна тем, что патогенные белки вводятся прямо в цитозоль клетки-мишени при непосредственном контакте с микробной клеткой [10].

Ген *VacA* (vacuolating cytotoxin-associated gene) отвечает за выработку вакуолизирующего цитотоксина, который действует на эпителий желудка, стимулируя образование вакуолей внутри клеток. Помимо этого *VacA* стимулирует образование пор в мембране эпителиоцитов, нарушает активность эндолизосом, снижает выработку соляной кислоты и нарушает рост и развитие клеток эпителия. Ген *VacA* является обязательным в геноме всех штаммов *H. pylori*, однако способностью к его экспрессии обладает только около 40-50% из них [4, 11].

Самое значительное положение среди ферментов занимает уреаз. Этот фермент известен достаточно давно, был первым получен в кристаллическом виде еще до открытия *H. pylori*. До выделения хеликобактера, ученые считали, что у человека выделяется естественная «желудочная уреаз». Однако открытие *H. pylori* с выявлением его энзиматического профиля перевернуло представление об этом ферменте в человеческом организме. С помощью выделения энзима в больших количествах, *H. pylori* создает благоприятные для своего существования условия: поступающая из крови мочевины протоптевает через стены желудка и скапливается в достаточных количествах в просвете желудка. Затем, она гидролизуется уреазой до аммиака и угольной кислоты [19].

Гидролиз мочевины завершается образованием щелочных продуктов, что приводит к локальному повышению значения pH вокруг микробной клетки. Уреазы хеликобактера способна изменить значение pH у здорового человека с 2,0 до 6,9, то есть практически до нейтрального. Однако если изначальный уровень кислотности у пациента находился не 2,0, то pH может быть поднято и до 9,0. Помимо всего перечисленного аммоний обладает и прямой токсической активностью: он поражает клетки, продуцирующие слизь, которая должна быть равномерно распределена и секретироваться в слизистый слой [29].

Очень важным фактором патогенности являются адгезины, с помощью которых *H. pylori* может избирательно сое-

диняться с поверхностью эпителиоцитов желудка и закрепляться там. Наиболее изученными среди них являются белки Bab (blood-group associated binding adhesion) A и B. Они являются белками наружной мембраны хеликобактера и связываются с лигандами клеток эпителия желудка: сиаловыми кислотами, олигополисахаридами, как, например, групповой антиген крови Lewis^b представленный на поверхности эпителиоцитов. Существуют разные варианты адгезии, самой страшной для человека является так называемая «чашечная адгезия» [7].

Прилипание микробной клетки сначала происходит на небольшом участке эпителиоцита, а дальше эпителиальная клетка, хоть и не является фагоцитом, начинает выполнять фагоцитоподобные движения, как бы обнимая бактериальную клетку. Нормальный скелет эпителиальной клетки поддерживается молекулами актина, но бактериальная клетка заставляет их полимеризоваться, удлиняться, что и приводит к формированию чашеподобного дефекта. Рано или поздно края эпителиоцита смыкаются, и бактериальная клетка оказывается погружена в эпителиальную. Это еще один путь уклонения от иммуноглобулинов [20].

У *H. pylori* существует целый ряд приспособлений, помогающих микробу закрепиться в желудке. Воздействие желудочной кислоты нейтрализуется выработкой больших количеств уреазы. Муциназа способствует уменьшению вязкости желудочного секрета, а протеазы нейтрализуют пепсин. Всё это облегчает движение хеликобактера в сторону эпителиального пласта [4].

Благодаря наличию жгутиков, хеликобактер движется в сторону эпителиоцитов желудка, по достижении которых происходит адгезия. Адгезия строго специфична, в ней участвуют белки наружной мембраны OMP (outer membrane proteins). *H. pylori* прикрепляется к вершине микроворсинок эпителиоцитов желудка, образуя прочные связи с помощью фимбрий. Первым звеном, взаимодействующим с клеткой желудочного эпителия, является белок НраА. Однако ряд авторов полагает, что это не единственный адгезин микроба, помимо него существует целый комплекс факторов, направленных на прикрепление к месту дальнейшей колонизации слизистой оболочки желудка [21].

Отмершие бактериальные клетки разрушаются и продукты метаболизма интенсивно всасываются. Кроме того, ионы аммония обладают токсичностью по от-

ношению к эпителиоцитам. Если штамм СаgА позитивный, то СаgА-белок активирует ядерный фактор, способствующий выбросу интерлейкина-8, обладающего мощнейшим воспалительным потенциалом. Нейтрофилы, поглотившие хеликобактер, претерпевают мощный окислительный взрыв, выбрасываются активные формы кислорода, разрушающие эпителиальный слой изнутри. Антигенпрезентирующие клетки индуцируют синтез иммуноглобулинов всех 4 классов, но, к сожалению, иммунный ответ не протективен [25].

Следует уточнить, что хеликобактериоз – хронический инфекционный процесс, характеризующийся наличием *H. pylori* у больного, не являющийся, однако, самостоятельной нозологической формой. Он является звеном патогенеза многих заболеваний. Патогенетически он ассоциирован с гастритом, язвенной болезнью желудка, лимфомой и дистальной некардиальной аденокарциномой желудка [2].

H. pylori является одним из самых распространенных микроорганизмов на планете. В целом, *H. pylori*, по оценкам разных групп ученых, можно обнаружить более чем у половины населения всей земли. К числу резервуаров и источников заражения, без сомнения, относится человек. Раньше хеликобактериоз считался безусловным антропонозом, однако благодаря использованию современных методов исследования было показано, что в слюне кошек, собак и свиней можно обнаружить фрагменты генома *H. pylori*, хотя выделить возбудителя из этих источников никому не удавалось. Всё же, эти факты требуют дополнительного уточнения [5, 23].

Второй резервуар для хеликобактера – водоемы: вода, овощи и фрукты, помытые этой водой. Однако очень важным является тот факт, что водоем не должен быть холодным и стоячим. Отчасти, это можно объяснить тем, что хеликобактер способен переходить в некультивируемую форму, весьма устойчивую во внешней среде, но способную к рекультивированию при попадании в благоприятные условия [22, 27].

На сегодняшний день известно 4 пути передачи *H. pylori*: фекально-оральный, орально-оральный, гастро-оральный, гастро-гастральный. Традиционный путь, сложившийся в процессе эволюции – фекально-оральный. Он реализуется достаточно часто в процессе ухода матери за ребенком и в детских коллективах. Данный путь более характерен для передачи хеликобактера в детском возрасте:

ввиду несовершенства секретообразующих функций гастроцитов, pH желудка у ребенка 3,5-4,0, тогда как у здорового взрослого человека примерно 2, что является непреодолимым барьером для микроба, попавшего в организм фекально-оральным путём [15].

Второй путь передачи - орально-оральный. Он не так распространен, но описан и подтвержден молекулярно. Столбчатый эпителий желудка – единственный биотоп, который может быть колонизирован *H.pylori*, так как у него нет сайтов для адгезии на любых других слизистых. Однако у пациентов с патологией гастродуоденальной области нередко происходит заброс желудочного содержимого вместе с *H.pylori*, в ротовую полость. Колонизировать слизистую оболочку рта микроб не в состоянии, на длительное время в зубодесневых карманах он не задерживается, но некоторое время находится в ротовой полости. Если в это время произвести высев, либо анализ методом ПЦР, можно обнаружить наличие хеликобактера. Реализация этого пути возможна при совместном использовании столовых приборов за один прием пищи, при поцелуях [14].

Гастро-оральный путь инфицирования в большей мере является путем профессионального заражения персонала эндоскопических кабинетов. Среди всех категорий медицинского персонала наибольшую опасность хеликобактер представляет именно для них, потому что при извлечении влажного гастроскопа из пациента в воздухе на уровне головы персонала возникает микроаэрозоль, инфицированный *H.pylori* [17].

Четвертый путь, гастро-гастральный, является наименее эволюционным. Этот путь представляет серьезную опасность для нашей страны и является единственным путем инфицирования взрослого человека. При заборе материала слизистой желудка гастроскопом при верхней эзофагогастродуоденоскопии, он проходит через внутренний канал гастроскопа, оставляя на стенках слизь, обильно загрязненную *H.pylori*. Для полной дезинфекции гастроскопа требуется длительная экспозиция в специальных устройствах, в которых особое внимание уделяется промывке его внутреннего канала. Именно поэтому в более развитых странах в эндоскопических кабинетах один гастроскоп используется врачом один раз в день. В нашей стране реализовать такую схему не представляется возможным в связи с финансовыми трудностями [8, 26].

Таким образом, *Helicobacter pylori* является крайне сложным для изучения микроорганизмом, и несмотря на то, что открыт он больше 20 лет назад, интерес к нему всё возрастает, о чем свидетельствует более 36000 статей по запросу “*Helicobacter pylori*” в научной библиотеке PubMed и 5489 результатов в Elibrary.

В дальнейшей работе планируется определение региональных особенностей биологических свойств и антибиотикорезистентности *H.pylori*, выделенных при заболеваниях желудка и двенадцатиперстной кишки.

Список литературы

1. Исаева Г. Ш., Поздеев О. К. Роль бактерий рода *Helicobacter* в патологии человека // Казанский медицинский журнал. – 2007. – Т. 88. – №. 1.
2. Корсунский А. А., Выхристюк О. Ф. Хеликобактериоз как инфекционное заболевание: поиски решения проблемы // Детские инфекции. – 2004. – №. 3. – С. 56-60.
3. Лабинская А. С., Костюкова Н. Н., Иванова С. М. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга 2 // М.: БИНОМ. – 2010. – 1152 с. – 2010.
4. Файзуллина Р. А., Абдуллина Е. В. Факторы патогенности и вирулентности *Helicobacter pylori* и их роль в развитии хеликобактер-ассоциированной гастродуоденальной патологии // Практическая медицина. – 2011. – №. 48.
5. Abdi F. S. et al. Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the colonic biopsies of stray dogs: molecular and histopathological investigations // Diagnostic pathology. – 2014. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-9.
6. Alm R. A. et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori* // Nature. – 1999. – Т. 397. – №. 6715. – С. 176-180.
7. Atuma C. et al. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2001. – Т. 280. – №. 5. – С. G922-G929.
8. Axon A. T. R. Transmission of *Helicobacter pylori* // The Yale journal of biology and medicine. – 1997. – Т. 70. – №. 1. – С. 1.
9. Celli J. P. et al. *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. – Т. 106. – №. 34. – С. 14321-14326.
10. Fischer W., Busch B. The *Helicobacter pylori* CagA Protein: A Multifunctional Bacterial Toxin Delivered by Type IV Secretion // Bacterial Toxins: Genetics, Cellular Biology and Practical Applications. – Caister Academic Press Norfolk, UK, 2013. – С. 13-45.
11. Jones K. R., Whitmore J. M., Merrell D. S. A tale of two toxins: *Helicobacter pylori* CagA and VacA modulate host pathways that impact disease // Frontiers in microbiology. – 2010. – Т. 1.
12. Hatakeyama M., Higashi H. *Helicobacter pylori* CagA: a new paradigm for bacterial

- carcinogenesis //Cancer science. – 2005. – Т. 96. – №. 12. – С. 835-843.
13. Garrity GM, Bell JA, Lilburn T. Phylum XIV. Proteobacteria phyl. nov. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd ed. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. Springer, New York; 2005: p.1.
14. Goh K. L. et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications //Helicobacter. – 2011. – Т. 16. – №. s1. – С. 1-9.
15. Gomez M. J. M. et al. Gastroduodenal ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children // Gut. – British Med Assoc House, Tavistock Square, London WC1H 9JR, England : British Med Journal Publ Group, 2002. – Т. 51. – С. A84-A84.
16. Liechti G., Goldberg J. B. Outer membrane biogenesis in *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, and *Helicobacter pylori*: paradigm deviations in *H. pylori* //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2012. – Т. 2.
17. Luzzza F. et al. Evidence favouring the gastro-oral route in the transmission of *Helicobacter pylori* infection in children //European journal of gastroenterology & hepatology. – 2000. – Т. 12. – №. 6. – С. 623-627.
18. McIntosh K. A. et al. In situ detection of urease-positive *Helicobacter pylori*-like organisms on swine gastric mucosa //Canadian Journal of Veterinary Research. – 2010. – Т. 74. – №. 3. – С. 237.
19. Mobley H. L. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration //Alimentary pharmacology & therapeutics. – 1996. – Т. 10. – №. Sup1. – С. 57-64.
20. Nell S. et al. Dynamics of Lewis b Binding and Sequence Variation of the babA Adhesin Gene during Chronic *Helicobacter pylori* Infection in Humans //mBio. – 2014. – Т. 5. – №. 6. – С. e02281-14.
21. Odenbreit S. Adherence properties of *Helicobacter pylori*: impact on pathogenesis and adaptation to the host //International journal of medical microbiology. – 2005. – Т. 295. – №. 5. – С. 317-324.
22. Queralto N., Bartolome R., Araujo R. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human faeces and water with different levels of faecal pollution in the northeast of Spain //Journal of applied microbiology. – 2005. – Т. 98. – №. 4. – С. 889-895.
23. Sasani F. et al. Evaluation of Gastric Lesions Based on *Helicobacter pylori* and *Helicobacter-Like Organisms* (HLOs) in Cats; A Histopathological and Bacteriological Study //Jundishapur journal of microbiology. – 2014. – Т. 7. – №. 6.
24. Schmidt H., Hensel M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis //Clinical microbiology reviews. – 2004. – Т. 17. – №. 1. – С. 14-56.
25. Sebkova L. et al. Extracellular signal-regulated protein kinase mediates interleukin 17 (IL-17)-induced IL-8 secretion in *Helicobacter pylori*-infected human gastric epithelial cells // Infection and immunity. – 2004. – Т. 72. – №. 9. – С. 5019-5026.
26. Stone M. A. Transmission of *Helicobacter pylori* //Postgraduate medical journal. – 1999. – Т. 75. – №. 882. – С. 198-200.
27. Tirodimos I. et al. Molecular detection of *Helicobacter pylori* in a large Mediterranean river, by direct viable count fluorescent in situ hybridization (DVC-FISH) //Journal of water and health. – 2014. – Т. 12. – №. 4. – С. 868-873.
28. Tomb J. F. et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori* //Nature. – 1997. – Т. 388. – №. 6642. – С. 539-547.
29. Tsujii M. et al. Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia //Gastroenterology. – 1992. – Т. 102. – №. 6. – С. 1881-1888.
30. Zhukhovitsky V. G., Didenko L. V., Konstantinova N. D. Forms with defected cell wall of *Helicobacter pylori* in vitro // Gut. – British Med Assoc House, Tavistock Square, London WC1H 9JR, England : British Med Journal Publ Group, 2002. – Т. 51. – С. A6-A6.