

УДК 616.98:579.835-06:616.36-002-022.6

ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С**Исаева Г.Ш.***ООО «Лечебно-диагностический центр «Фарм-Т», Казань, e-mail: guisaeva@rambler.ru*

Цель: выявить частоту инфицирования *H.pylori* у больных хронической HCV-инфекцией. Было обследовано 25 больных (мужчин – 16 и женщин – 9) с хронической HCV-инфекцией. Всем больным была выполнена фиброэзофагогастродуоденоскопия с биопсией слизистой оболочки желудка (антральный отдел) и двенадцатиперстной кишки. Диагностика *H.pylori* проводилась уреазным тестом («Хелпил», АМА, С.Петербург), ПЦР по методике «Литех» (Москва) и по составу выдыхаемого воздуха с помощью теста «Хелик» (АМА, С.-Петербург) индикаторными трубками. Инфицированность *H.pylori* была выявлена с помощью уреазного теста и методом ПЦР во всех биоптатах слизистой оболочки желудка и 12-перстной кишки. Чувствительность дыхательного теста составила 67,57%. Выявлены изменения пищевода, желудка и 12-перстной кишки, ассоциированные с *H.pylori* инфекцией, у больных хроническим вирусным гепатитом С. *H.pylori* инфекция может являться фактором риска формирования более тяжелых исходов в течении HCV-инфекции, что требует широкого внедрения скрининговых методов диагностики среди больных хронической HCV-инфекцией.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, вирусный гепатит С, диагностика**HELICOBACTERIOSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C****Isaeva G.S.***Therapeutic and Diagnostic Center «Pharm-T», Kazan, e-mail: guisaeva@rambler.ru*

Aim: To determine the prevalence of *H.pylori* – infection among patients with chronic HCV – infection. 25 patients (16 men, 9 women) were examined. The esophagogastroduodenoscopy with biopsy of gastric mucosa (antrum) and duodenum was carried out among patients. Diagnosis of *H.pylori* was carried out by means of the urease test («Helipyl», АМА, S.-Petersburg), by PCR («Helicopol», «Lytech», Moscow) and by urea breath test («Helic», АМА, S.-Petersburg) which had determined the expired air's composition by using Helic-tubes. The positive detection of *H.pylori* was determined by means of the urease test and by PCR in all gastric and duodenal biopsy specimens. The sensitivity of urea breath test was 67,57%. Disorders of esophagus, stomach and duodenum which associated with *H.pylori* was carried out among patients with chronic HCV-infection. *H.pylori* may be the positive risk factor of more severe complications' development what requires the large introduction of diagnostic screening methods among patients with chronic HCV-infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, hepatitis C virus, diagnosis

Вирусный гепатит С (HCV) относится к одной из широко распространенных инфекций. Данные о частоте встречаемости гепатита С неоднородны и варьируются от 0,5–3% от общей численности населения (США, Западная Европа) до 4–20% (Африка, Азия, Восточная Европа) [1]. Проблема HCV-инфекции заключается в прогрессировании острой формы в хроническую, по меньшей мере, при этом имеется постоянная угроза развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). *Helicobacter pylori* инфекция также относится к одной из самых распространенных в мире, приблизительно 50% населения Земли инфицировано этим микроорганизмом. Установление связи между инфицированностью *H. pylori* и раком желудка дало основание Международному агентству по изучению рака отнести его к канцерогенам I группы.

Ряд работ указывает на возможную кофакторную роль бактерий рода *Helicobacter* при инфицировании HCV в формировании более тяжелых исходов в течении хронического гепатита С. Ronzetto A. и соавт. (2003) у больных хроническим активным гепатитом С обнаружили уровень анти-

тел к *H. pylori* достоверно более высокий в сравнении с неинфицированными донорами [10]. Сходные результаты были получены Konturek S.J. с соавт. (2003) и Stalke P. с соавт. (2005) [6; 13]. Серологические исследования демонстрируют среди больных вирусными гемоконтактными гепатитами, инфицированных хеликобактерами, преобладание более тяжелых исходов в виде циррозов по сравнению с контрольными группами. Pellicano R. и коллеги (2000) среди инфицированных HCV выявили достоверную разницу между частотой обнаружения диагностических титров антител к *H. pylori* в опытной группе (пациенты с циррозом печени) и контрольной (без цирроза) [9]. Синергизм патогенетических эффектов при коинфекции *H. pylori* и HCV на ткани печени может повышать риск ее злокачественной трансформации [7]. Актуальность исследования определяется проблемой изучения вопроса о микст-инфекциях, ассоциированных с *H. pylori* и HCV, и отсутствием алгоритма диагностических подходов для скрининга и мониторинга хеликобактериоза в группах инфицированных HCV.

Цель: выявить частоту инфицирования *H. pylori* у больных хронической HCV-

инфекцией с последующей сравнительной оценкой эффективности инвазивных и неинвазивных методов диагностики хеликобактериоза.

Материал и методы исследования

Было обследовано 25 больных (мужчин – 16 и женщин – 9) с хронической НСV-инфекцией в возрасте от 19 до 64 лет на базе Республиканской инфекционной больницы МЗ РТ. Средний возраст составил 40,6 лет. Всем больным была выполнена фиброэзофагогастроуденоскопия с биопсией слизистой оболочки желудка (СОЖ) (антральный отдел) и двенадцатиперстной кишки (ДПК). До проведения диагностической ФЭГДС пациентам был проведен дыхательный тест для определения *H.pylori* по составу выдыхаемого воздуха с помощью тест-системы «Хелик» (АМА, г.Санкт-Петербург) индикаторными трубками. Диагностика *H.pylori* в биоптатах проводилась уреазным тестом (Хелпил-тест, ООО «АМА», Россия). Отобранные биоптаты помещали на индикаторные диски Хелпил-теста, результаты учитывали в течение трех минут. По изменению окраски индикатора с желтого на синий судили об инфицировании *H.pylori* и степени обсемененности. В зависимости от интенсивности и времени изменения окраски различали три степени инфицирования: выраженную (+++) – яркое окрашивание в первую минуту; умеренную (++) – окрашивание средней интенсивности в течение двух минут; низкую (+) – слабое окрашивание в течение трех минут. Отсутствие изменения окраски индикатора оценивалось как отрицательный результат.

Выделение ДНК из биопроб производили сорбционным способом с использованием набора «Хеликопол» (НПФ «Литех», г. Москва) в соответствии с рекомендациями производителя. Амплификацию специфических фрагментов генома *H.pylori* производили по методике, предложенной НПФ «Литех». Выявление амплифицированных фрагментов осуществляли путем их электрофоретического разделения в 2%-м геле с добавлением 1%-го раствора бромистого этидия и визуализации в виде светящихся полос, соответствующих 492 п.н., под действием ультрафиолетового свечения.

При оценке результатов использовали следующие критерии: пациента считали *H.pylori* – положительным по положительным результатам двух тестов, *H.pylori* – отрицательным – при всех отрицательных тестах или положительного одного из тестов. Чувствительность рассчитывали по формуле: Чувствительность = истинно-положительный результат / (истинно-положительный результат + истинно-отрицательный результат).

Результаты исследования и их обсуждение

При эндоскопическом исследовании у всех больных выявлялся гастробульбит (в 32% – эрозивного характера), в 36% случаев – хронический рефлюкс эзофагит. Варикозное расширение вен пищевода I, II, III степеней, указывающее на формирование цирроза, было установлено у 40% больных (стадии А-В – 30%, В – 40%, В-С – 30%). При исследовании биоптатов

СОЖ и ДПК Хелпил-тестом уреазная активность была выявлена во всех образцах. При исследовании биоптатов антрального отдела СОЖ выраженная и умеренная степень инфицирования *H.pylori* была обнаружена с одинаковой частотой – в 48% образцов. При исследовании биоптатов ДПК преобладала умеренная степень инфицирования – в 60% образцов, высокая степень наблюдалась в два раза реже – в 32% случаев. Как в образцах СОЖ, так и ДПК низкая степень инфицирования *H.pylori* выявлена в единичных случаях – в одном образце СОЖ (4%) и в двух образцах ДПК (8%). Специфичность уреазного теста была подтверждена молекулярно-генетическим методом. Чувствительность уреазного теста и молекулярно-генетического составили 100%, дыхательного теста – 67,57%.

Известно, что интенсивность и скорость изменения окраски индикатора коррелируют с количеством бактериальной уреазы и косвенно указывают на степень обсемененности *H.pylori* слизистых оболочек. Для адаптации в своей экологической нише *H.pylori* производит огромное количество уреазы. Объем ее образования достигает 10–15% общего белка, синтезируемого *H.pylori*, кроме того она имеет наивысшую активность среди бактериальных уреаз [8]. Другие уреазоположительные микроорганизмы, присутствующие в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, такие как стафилококки, стрептококки, грибы рода *Candida*, продуцируют небольшое количество уреазы, которое не определяется при кратковременной детекции (менее 2 часов), делая этот метод специфичным при экспресс-диагностике. Согласно рекомендациям производителя, при проведении Хелик-теста необходима предварительная подготовка пациента к исследованию (отказ за день проведения от употребления алкоголя, курения, специальная диета и т.д.). Низкая эффективность дыхательного теста у больных НСV-инфекцией может быть объяснена особенностью контингента больных, не всегда выполняющих рекомендации врачей по подготовке к исследованиям. Сравнительный анализ инвазивного метода (уреазный тест Хелпил) и неинвазивного (дыхательный тест Хелик с дыхательными трубками) инфицирования *H.pylori* у больных НСV показал наибольшую эффективность метода, основанного на обнаружении уреазной активности в биоптатах. При этом «золотым» стандартом может служить молекулярно-генетическое исследование. «Хелпил-тест», отличающийся простотой и доступностью исполнения, обладающий высокой специфичностью, можно рекомен-

довать для скрининга и мониторинга хеликобактериоза при коинфекции с вирусом гепатита С.

По результатам Хелпил-теста и молекулярно-генетического исследования больных вирусным гепатитом С выявлена 100%-я инфицированность *H. pylori*. При этом обнаружена строгая ассоциация между желудочной и дуоденальной колонизацией этим микроорганизмом. Выявленная уреазная активность в биоптатах антрального отдела желудка и области луковицы 12-перстной кишки, подтвержденная выявлением гена *ureC* *H. pylori*, доказывает жизнеспособность этой бактерии в 12-перстной кишке и указывает на возможность дуоденального (восходящего) пути колонизации органов гепатобилиарной системы. Результаты, полученные в ходе данного исследования, коррелируют с результатами других исследований. Исследования S. El-Masry и соавт. (2010) показало достоверно более высокую инфицированность *H. pylori* у больных хроническим вирусным гепатитом С по сравнению с не инфицированными HCV, при этом частота инфицирования хеликобактером достоверно повышалась при прогрессировании от острой формы в хроническую и в цирроз [2]. Сходные результаты были получены Esmat G. (2012) и соавт. при исследовании 85 инфицированных HCV, разделенных на четыре группы в зависимости от патологии печени, и контрольной группы, состоящей из неинфицированных. Была обнаружена достоверная разница между частотой инфицирования *H. pylori* и стадией HCV-инфекции [3]. Ген *cagA* *H. pylori* был выявлен достоверно чаще в 75; 52,9 и 32% случаев в группах инфицированных HCV на стадиях ГЦК, цирроза и активного гепатита соответственно по сравнению с группой HCV вне активности. Кроме того, частота обнаружения *H. pylori* коррелировала с тяжестью патологии печени: ген *cagA* выявляли чаще при позднем фиброзе (в 28% случаев), чем при раннем (5,9% случаев). Работа Rocha M. и кол. (2005) указывает на наличие возможной связи между присутствием в печени ДНК хеликобактеров и развитием цирроза у больных гепатитом С. В 90,5% образцов печени были обнаружены ДНК *H. pylori* и *H. pullorum* у больных циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой, инфицированных HCV, тогда как у пациентов контрольной группы (инфицированных HCV без цирроза) только в 3,5% случаях [11]. Silva L.D. и соавт. (2011) при обследовании 106 пациентов с заболеваниями печени различной этиологии в тканях печени выявили ДНК *H. pylori* в 38,7% образцов, при этом положительные образцы выявля-

лись преимущественно в группах больных HCV и HBV инфекцией на различных стадиях [12]. При исследовании цитокинового профиля пациентов, инфицированных *H. pylori*, полученные результаты показали, что такие цитокины, как интерферон- γ и интерлейкин-17, могут принимать участие в защите печени от микроорганизмов, в том числе и от *H. pylori*.

Механизмы бактериально-вирусного взаимодействия не ясны, но имеются предположения о влиянии белков хеликобактеров на вирусный геном. Saganuma M. и соавт. (2001) описали мембранный белок *H. pylori* (HP-MP-I), который при соединении с вирусным онкогеном *ras* способен вызывать злокачественную трансформацию клеток [14]. Исследования, проведенные на клеточных культурах гепатоцитов и на мышах, показывают, что хеликобактеры способны вырабатывать гепатотропный токсин, вызывающий некроз гепатоцитов *in vitro* [5] и повреждение паренхимы печени *in vivo* [15]. Возможно, что при эффективной эрадикации риск формирования циррозов и ГЦК у больных HCV может быть снижен, что повысит качество и продолжительность жизни больных гепатитом С. В частности, в исследовании японских ученых было показано, что *H. pylori*-инфекция отмечалась достоверно чаще у HCV – инфицированных, при этом эрадикационная терапия в этой группе по сравнению с неинфицированными HCV была более эффективной [4].

Заключение

Таким образом, анализ полученных в нашем исследовании данных показывает, что проблема хеликобактериоза в группах повышенного риска развития циррозов и ГЦК у HCV-инфицированных имеет большое медико-социальное значение. Широкое внедрение скрининговых методов диагностики, эффективной эрадикационной терапии и мониторинга за *H. pylori* инфекцией позволит снизить онкологические риски у больных хроническими гемоконтактными гепатитами.

Список литературы

1. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C // Hepatology. – 1997. – Vol. 26. – P. 62S.
2. El-Masry S. Helicobacter pylori and hepatitis C virus coinfection in Egyptian patients. / El-Masry S., El-Shamat M., Badra G. Aboel-Nour M.F., Lotfy M. // J Glob Infect Dis. – 2010. – Vol.1 (2). – P. 4–9.
3. Esmat G. Role of Helicobacter pylori in patients with HCV-related chronic hepatitis and cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma: possible association with disease progression / Esmat G., El-Bendary M., Zakarya S., Ela M.A., Zalata K // J Viral Hepat. – 2012. – Vol. 19(7). – P. 473–479.

4. Furusyo N. Treatment for eradication of *Helicobacter pylori* infection among chronic hepatitis C patients / Furusyo N., Walaa A.H., Eiraki K., Toyoda K., Ogawa E., Ikezaki H., Ihara T., Hayashi T., Kainuma M., Murata M., Hayashi J. // *Gut Liver*. – 2011. – Vol. 5(4). – P. 447–453.

5. Ito K. Adherence, internalization, and persistence of *Helicobacter pylori* in hepatocytes. / Ito K., Yamaoka Y., Ota H., El-Zimaity H., Graham D.Y. // *Dig. Dis. Sci.* – 2008. – Vol. 53(9). – P. 2541–2549.

6. Konturek S.J. Progastrin and its products from patients with chronic viral hepatitis and liver cirrhosis / Konturek S.J., Gonciarz M., Gonciarz Z., Bielanski W., Mazur W., Mularczyk A., Konturek P.C., Goetze J.P., Rehfeld J.F. // *Scand. J Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 38. – P. 643–647.

7. Mamun-Al-Mahtab. State of Globe: *Helicobacter pylori* and hepatitis C together hamper health // *Glob Infect Dis.* – 2010. – Vol. 2 (1). – P. 1–3.

8. Olivera-Severo D. Ureases display biological effects independent of enzymatic activity. Is there a connection to diseases caused by urease-producing bacteria? / Olivera-Severo D., Wassermann G.E., Carlini C.R. // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 2006. – Vol. 39. – P. 851–861.

9. Pellicano R. *Helicobacter pylori* seroprevalence in hepatitis C virus positive patients with cirrhosis. / Pellicano R., Leone N., Berrutti M., Cutufia M.A., Fiorentino M., Rizzetto M., Ponzetto A. // *Journal Hepatology*. – 2000. – Vol.33. – P. 648–650.

10. Ponzetto A. *Helicobacter pylori* infection in patients with hepatitis C virus positive chronic liver diseases. / Ponzetto A., Pellicano R., Pedaelli A., Rizzetto M., Roffi L. // *Microbiologie*. – 2003. – Vol. 26. – P. 321–328.

11. Rocha M. Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. / Rocha M., Avenaud P., Menard A., Le Bail B., Balabaud C., Bioulac-Sage P., de Magalhães Queiroz D.M., Mégraud F. // *Gut*. – 2005. – Vol. 54. – P. 396–401.

12. Silva L.D. The presence of *Helicobacter pylori* in the liver depends on the Th1, Th17 and Treg cytokine profile of the patient. / Silva L.D., Rocha A.M., Rocha G.A., de Moura S.B., Rocha M.M., Dani R., de Melo F.F., Guerra J.B., de Castro L.P., Mendes G.S., Ferrari T.C., Lima A.S., Queiroz D.M. // *Mem Inst Oswaldo Cruz*. – 2011. – Vol. 106(6). – P. 748–754.

13. Stalke P. Detection of *Helicobacter* species in liver and stomach tissues of patients with chronic liver disease using polymerase chain reaction- denaturing gradient gel electrophoresis and immunohistochemistry. / Stalke P., Abu Al-Soud W., Bielawski K.P., Bakowska A., Trocha H., Stepinski J., Wadström T. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 40. – P. 1032–1041.

14. Suganuma M. *Helicobacter pylori* membrane protein 1: a new carcinogenic factor of *Helicobacter pylori*. / Suganuma M., Kurusu M., Okabe S., Sueoka N., Yoshida M., Wakatsuki Y., Fujiki H. // *Cancer Res*. – 2001. – Vol. 61. – P. 6356–6359.

15. Tian X.F. A two-year animal experimental study on the pathological effects of *Helicobacter pylori* on liver tissues. / Tian X.F., Fan X.G., Huang X., Fu C.Y., Dai H., Huang Y. // *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. – 2008. – Vol. 16(2). – P. 129–33.

References

1. Alter M.J. *Hepatology*, 1997, Vol. 26, p. 62S.
2. El-Masry S., El-Shamat M., Badra G., Aboel-Nour M.F., Lotfy M. // *J Glob Infect Dis*, 2010, Vol.1 (2), pp. 4–9.
3. Esmat G., El-Bendary M., Zakarya S., Ela M.A., Zalata K. // *J Viral Hepat.*, 2012, Vol. 19(7), pp. 473–479.
4. Furusyo N., Walaa A.H., Eiraki K., Toyoda K., Ogawa E., Ikezaki H., Ihara T., Hayashi T., Kainuma M., Murata M., Hayashi J. // *Gut Liver*, 2011, Vol. 5(4), pp. 447–453.
5. Ito K., Yamaoka Y., Ota H., El-Zimaity H., Graham D.Y. // *Dig. Dis. Sci.*, 2008, Vol. 53(9), pp. 2541–2549.
6. Konturek S.J., Gonciarz M., Gonciarz Z., Bielanski W., Mazur W., Mularczyk A., Konturek P.C., Goetze J.P., Rehfeld J.F. // *Scand. J Gastroenterol.*, 2003, Vol. 38, pp. 643–647.
7. Mamun-Al-Mahtab. // *Glob Infect Dis*, 2010, Vol. 2 (1), pp. 1–3.
8. Olivera-Severo D., Wassermann G.E., Carlini C.R. // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2006, Vol. 39, pp. 851–861.
9. Pellicano R., Leone N., Berrutti M., Cutufia M.A., Fiorentino M., Rizzetto M., Ponzetto A. // *Journal Hepatology*, 2000, Vol. 33, pp. 648–650.
10. Ponzetto A., Pellicano R., Pedaelli A., Rizzetto M., Roffi L. // *Microbiologie*, 2003, Vol. 26, pp. 321–328.
11. Rocha M., Avenaud P., Menard A., Le Bail B., Balabaud C., Bioulac-Sage P., de Magalhães Queiroz D.M., Mégraud F. // *Gut*, 2005, Vol. 54, pp. 396–401.
12. Silva L.D., Rocha A.M., Rocha G.A., de Moura S.B., Rocha M.M., Dani R., de Melo F.F., Guerra J.B., de Castro L.P., Mendes G.S., Ferrari T.C., Lima A.S., Queiroz D.M. // *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2011, Vol. 106(6), pp. 748–754.
13. Stalke P., Abu Al-Soud W., Bielawski K.P., Bakowska A., Trocha H., Stepinski J., Wadström T. // *Scand. J. Gastroenterol.*, 2005, Vol. 40, pp. 1032–1041.
14. Suganuma M., Kurusu M., Okabe S., Sueoka N., Yoshida M., Wakatsuki Y., Fujiki H. // *Cancer Res*, 2001, Vol. 61, pp. 6356–6359.
15. Tian X.F., Fan X.G., Huang X., Fu C.Y., Dai H., Huang Y. // *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2008, Vol. 16(2), pp. 129–133.

Рецензенты:

Фазылов В.Х., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань;

Шарипова М.Р., д.б.н., профессор кафедры микробиологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета. Министерства образования РФ, г. Казань.

Работа поступила в редакцию 29.11.2012.