

УДК: **616.98:616.33]:575(476)**

Год издания: **2012**

Особенности генетической дифференцировки патогенных штаммов *H. pylori*, распространенных в белорусской популяции

Воропаев Е.В., Воропаева А.В., Осипкина О.В., Баранов О.Ю.

Рубрики: 76.35.33

Гомельский государственный медицинский университет

Тема НИР: «Молекулярно-генетические механизмы формирования предрасположенности и особенностей течения заболеваний желудочно-кишечного тракта, репродуктивной, сердечно-сосудистой и кроветворной систем»

Сроки выполнения НИР: 01.01.2011 г. — 31.12.2013 г.

Научный руководитель: канд. мед. наук Е.В. Воропаев

Источник финансирования: госбюджет.

Цель: изучение этнической и географической принадлежности патогенных штаммов *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), распространенных в белорусской популяции, и анализ генов, ассоциированных с повышенной патогенностью микроорганизма — *vacA*, *iceA*, *babA* и *cagA*. С последним связывают онкогенный потенциал *H. pylori*.

С целью изучения генетического состава *H. pylori* во всем мире проводятся масштабные исследования, позволяющие оценить региональные особенности генотипа *H. pylori*, т. к. развитие клинически значимого заболевания зависит в значительной степени от патогенного потенциала бактерии, а не только от восприимчивости макроорганизма и экологических факторов.

Изучение генома *H. pylori* ведется в основном с целью улучшения понимания патогенеза гастродуоденальной патологии, причин способности этого микроорганизма вызывать заболевание. На данный момент в базе данных генома *H. pylori* 62 гена отнесены к категории патогенных, т. е. их наличие у бактерии коррелирует с ее патогенностью. Нуклеотидное разнообразие *H. pylori* и частые рекомбинации между различными штаммами свидетельствуют только о частичном нарушении связи между полиморфными нуклеотидами в генах, что увеличивает содержание информации для генетического анализа.

Для получения бактериальной культуры *H. pylori* первичный посев биопсийного материала проводили на двух питательных средах: селективной *pylori* агар «BioMérieux» (Франция) и неселективной питательной среде Мюллера–Хинтона с добавлением 5%-й крови барана. Идентификацию полученных культур проводили тестированием бактерий на наличие цитохромоксидазы, каталазы и уреазы. Для определения географических особенностей, этнической принадлежности и характеристики патогенных свойств циркулирующих в республике штаммов *H. pylori* проводили анализ ДНК методом секвенирования консервативного и варибельного 3/-региона *CagA* гена *H. pylori* с использованием автоматического секвенатора ABI PRISM 310 (Applied Biosystems). Анализировали регион генотипа *CagA H. pylori* размером 349 н.п. Нуклеотидные последовательности изучаемых нами образцов анализировали с помощью программы Sequence Analysis 5.1.1 и сравнивали с нуклеотидными последовательностями гена 23S рРНК *H. pylori* из GenBank NCBI в программе CLC Sequence Viewer 6.3. Полученные данные о нуклеотидной последовательности в формате FASTA были использованы для поиска с помощью системы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>). Конечным результатом явилось установление спецификации выявленного продукта путем сравнения с известными последовательностями *CagA* — гена *H. pylori* из GenBank NCBI.

Сравнительное изучение генотипов *CagA*, представленных в белорусской популяции, показало их основную гомологию с Европейской группой. При этом различные варианты, выявленные в Беларуси, имели сходство с генотипами, выявленными в различных регионах мира. Секвенирование варибельного 3/-региона *CagA* позволило

определить географическую принадлежность патогенных штаммов *H. Pylori*, распространенных в белорусской популяции в настоящее время.

На следующем этапе проводили изучение вирулентных генотипов *cagA*, *vacA*, *babA2*, *iceA1* и *ice A2*. Изучались 43 препарата ДНК пациентов с хроническим гастритом и 20 препаратов ДНК пациентов с раком желудка, у которых предварительно была выявлена ДНК *H. pylori*.

Было установлено, что возбудитель чаще выявлялся в биоптатах слизистой оболочки желудка (СОЖ) лиц с хроническим гастритом (86%), чем с раком желудка (62,5%; $p=0,014$). Микст-штаммы с несколькими патогенными генотипами присутствовали в 75% образцов СОЖ от пациентов с раком желудка. Значимо чаще у лиц с раком желудка выявлялись генотипы *babA2* ($p=0,013$) и *ice A1* ($p=0,0002$), которые являются факторами адгезии и связаны с развитием язв и карциномы желудка.

Таким образом, сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей консервативной части *CagA*-гена изученных нами штаммов *H. Pylori*, представленных в белорусской популяции, показал высокий процент гомологии (98–99%) со штаммами распространенными в настоящее время в Европе, и наиболее всего в Греции, и явное отличие от азиатских штаммов, что характеризуют их этническую принадлежность.

Генетический анализ микст-штаммов с несколькими патогенными генотипами *H. pylori* показал явное преимущество наиболее агрессивных штаммов *H. pylori* среди пациентов с раком желудка. Критически оценивая небольшой объем проведенных нами исследований, мы, тем не менее, считаем целесообразным проведение эрадикационной терапии *H. pylori* как средства профилактики развития аденокарциномы желудка (что согласуется с рекомендациями Азиатско-Тихоокеанского консенсуса).

Область применения: гастроэнтерология, инфекционные болезни и клиническая лабораторная диагностика.

Рекомендации по использованию: данные могут быть использованы в клинических и научных лабораториях, при проведении молекулярно-генетических исследований связанных с определением генотипов и аллельных вариантов *H. pylori*.

Предложения по сотрудничеству: консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.