

МУТАНТНЫЕ ГЕНОТИПЫ *HELICOBACTER PYLORI*, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К КЛАРИТРОМИЦИНУ В БЕЛАРУСИ

А. В. Воропаева¹, О. Ю. Баранов¹, Е. В. Воропаев²

¹У «РНЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель,
Беларусь

²УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель,
Беларусь

Определение ведущей роли *H. pylori* в развитии гастрита, язвы и рака желудка привело к необходимости использования антибиотиков в ходе лечения данных заболеваний. Основной проблемой, связанной с эрадикацией *H. pylori*, является низкая эффективность большинства препаратов в клинической практике по сравнению с результатами, получаемыми *in vitro*. В наибольшей степени это обусловлено плохой пенетрацией антибиотиков в желудок и снижением их активности в кислой среде.

В настоящее время наиболее эффективным препаратом, применяемым для лечения инфекции *H. pylori*, является кларитромицин. Данный антибиотик используется в сочетании с амоксициллином или метронидазолом, и обязательным дополнением антисекреторными препаратами (ингибиторами протонного насоса, H₂-блокаторами). Несмотря на высокую антимикробную активность кларитромицина, в последнее время отмечается возникновение устойчивости у ряда штаммов *H. pylori* к данному препарату. В результате проведенных молекулярно-генетических исследований в разных странах мира было установлено, что резистентность *H. pylori* к кларитромицину связана с возникновением точечных мутаций в V функциональном домене 23S рНК. Среди выявленных мутаций наиболее распространенными явились три типа мононуклеотидных замен – A2142G, A2143G и A2142C. Частота мутантных генотипов составила в Европе от 1,7 % до 23,4 %, в Японии до 12,0 % и 10,6 % – 25,0 % в Северной Америке. За последние несколько лет было зафиксировано появление и распространение новых типов замен. Так, в работе Постераро с соавт. была описана мутация в 2717 позиции (T/C). Ее частота среди итальянских резистентных изолятов *H. pylori* составила 3,6 %.

Целью нашего исследования явилось определение точечных мутаций, ответственных за резистентность к кларитромицину в Беларуси.

Материалы и методы. Нами были изучены 132 препарата ДНК пациентов, проживающих в Витебской и Гомельской областях и имеющих лабораторно подтвержденную *H. pylori*-инфекцию (выявление участка ДНК 16S рибосомального гена *H. pylori* размером 520 нуклеотидных пар).

Так как наличие резистентности к эритромицину предполагает и к кларитромицину, скрининговую диагностику устойчивости проводили при помощи коммерческой тест-системы «Эритромицин» (НПФ «ЛИТЕХ», г. Москва), позволяющую выявить методом пх-ной цепной реакции наличие устойчивых к эритромицину образцов. В результате проведенного исследования 9 (6,8 %) препаратов ДНК показали положительный результат, соответствующий 282 нуклеотидной паре. Выявленные устойчивые препараты ДНК были проанализированы секвенированием участка 23S рРНК-гена *H. pylori* размером 783 нуклеотидной пары (Gen Bank U 27270 HP-F(2028-2048), HP-R (2812-2790)). Аналогичное двунаправленное секвенирование проводили на одноканальном секвенаторе ABI PRISM 310 производства компании «Applied Biosystems» США. Двунаправленное секвенирование было использовано в среднем для анализа ПЦР-продукта – 783 нуклеотидной пары. Максимальный размер секвенирования ДНК составляет из нашего опыта более 600 нуклеотидных пар (по паспортным данным прибора ABI PRISM 310 он может составить в идеале около 800 нуклеотидных пар).

Проведенный нами анализ результатов секвенирования 9 образцов показал наличие точечных мутаций A2143G (2 образца) и T2182C (1 образец) совместно с T2182C, характеризующихся фенотипом устойчивости к кларитромицину, и точечной мутации T2182C (разрыв). Анализ нуклеотидной последовательности одного из исследованных препаратов не выявил ДНК *H. pylori*.

Также анализ нуклеотидных последовательностей ДНК изученных образцов показал наличие и других точечных мутаций: T2112C, A2718G, G2109A, A2439G, A2730G, T2245C.

Особый интерес, на наш взгляд, вызывает мутация G2109A точечная мутация обнаружена нами у пациента с дальнейшей 6-й эрадикационной терапией с применением кларитромицина и метронидазола, оперированного по поводу рака желудка. Кроме того, точечная мутация G2109A располагается в V домене 23S рРНК гена *H. Pylori*, соответствующего местонахождению мутаций высокого уровня устойчивости к кларитромицину. На сегодняшний день в литературных источниках отсутствуют сведения, характеризующие данную точечную мутацию. Последние исследования позволяют определить ее клиническую значимость. Секвенирование исследуемых образцов позволило также выявить точечную мутацию T2245C. Данная точечная мутация зарегистрирована бразильскими исследователями, однако проведенные ими микробиологические исследования не выявили ассоциации между наличием мутации T2245C и резистентностью к кларитромицину (GenBank AB088050-to-AE). Генотип T2245C присутствовал во всех анализируемых нами образцах. Дальнейший выборочный анализ 6 из 123 чувствительных к кларитромицину образцов также выявил наличие генотипа T2245C. Это свидетельствует о том, что данная мутация является генетической особенностью циркулирующих в Беларуси штаммов *H. pylori*.

Вывод. Таким образом, проведенные нами исследования позволяют определить доминирующие в Беларуси мутации *H. pylori*, определяющие устойчивость к кларитромицину: T2182C, A2142G, A2143G. Генотип T2182C присутствует и в чувствительных, и в устойчивых препаратах ДНК. Следовательно, данный аллель является генетической особенностью циркулирующих в Беларуси штаммов *H. pylori* (GenBank GQ443611 – GQ443613).