

УДК 616.33-002.44-085-092

Эффективность эрадикации *Helicobacter pylori* у больных язвенной болезнью в зависимости от полиморфизма гена IL-1 β – 511

И.В. Маев¹, К.Т. Момыналиев², В.М. Говорун², Ю.А. Кучерявый¹,
Т.С. Оганесян¹, О.В. Селезнева²

¹ГОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет Росздрав,
²НИИ физико-химической медицины Росздрав, Москва)

Efficacy of *Helicobacter pylori* eradication in patients with peptic ulcer in relation to IL-1 β –511 gene polymorphism

I.V. Mayev, K.T. Momynaliyev, V.M. Govorun, Yu.A. Kucheryavy, T.S. Oganesyanyan, O.V. Selezneva

Цель исследования. Определить полиморфизм интерлейкина-1 β у смешанного населения Москвы и Московской области и оценить его влияние на эффективность эрадикационной терапии инфекции *H. pylori*.

Материал и методы. В рамках проспективного когортного исследования в соответствии с принятыми стандартами обследованы 82 пациента с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H. pylori*. Всем больным проводилась эрадикационная терапия первой линии в течение 7 дней.

Результаты. Результаты выполненного исследования на российской популяции подтверждают зарубежные данные о том, что генетически детерминированное изменение продукции интерлейкина-1 β оказывает влияние на эффективность эрадикации *H. pylori*.

Выводы. Наличие провоспалительного T-аллеля повышает вероятность успешности эрадикационной терапии, что может быть использовано для выделения групп риска и целенаправленного лечения.

Ключевые слова: интерлейкин-1 β , полиморфизм, язвенная болезнь, эрадикационная терапия, *H. pylori*.

Aim of investigation. To determine genetic polymorphism of interleukin-1 β at mixed population of Moscow and Moscow region and to estimate its impact on efficacy of *H. pylori* eradication therapy.

Materials and methods. Overall 82 patients with peptic ulcer of the stomach and duodenum associated to *H. pylori* were investigated in a prospective cohort study according to general standards. All patients underwent first line eradication therapy for 7 days.

Results. Results of original study in Russian population confirm foreign data that genetically determined variation of interleukin-1 β production affects efficacy of *H. pylori* eradication.

Conclusions. Presence of proinflammatory T-allele increases probability of success of eradication therapy that can be utilized for selection of risk groups and targeted treatment.

Key words: interleukin-1 β , polymorphism, peptic ulcer, eradication therapy, *H. pylori*.

По данным многочисленных исследований, выполненных с позиций доказательной медицины, проведение эрадикационной терапии способствовало значительному снижению рецидивирования и количества осложнений язвенной болезни (ЯБ) в большинстве экономически развитых стран [7].

В соответствии с действующими рекомендациями Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), основанными на Маастрихтском соглашении II, эрадикация должна быть достигнута как минимум в 80% случаев [2]. Ни в одном контролируемом исследовании не удалось достичь 100% эрадикации.

Рекомендованная стандартная схема эрадикации *H. pylori* первой линии включает ингибитор протонной помпы (ИПП) в комбинации с кларитромицином и амоксициллином.

Среди факторов, влияющих на эффективность эрадикационной терапии, рассматривают особенности как макроорганизма, так и микроорганизма. Например, резистентность *H. pylori* к антибиотикам (кларитромицину) считается основным источником неудач эрадикационной терапии [1, 3]. В России распространенность штаммов инфекции, резистентных к кларитромицину, составляет 13%.

В последнее время все большее внимание уделяется полиморфизму генов человека. Наиболее активно изучается генотип хозяина относительно способности к инактивации ИПП. Так, по гену цитохрома P450 выделяют два фенотипа: быстрых (гомозиготные и гетерозиготные варианты) и медленных инактиваторов [8]. В исследованиях было показано, что эрадикация выше в группе пациентов, которые были медленными инактиваторами [11]. Также активно изучается полиморфизм генов провоспалительных цитокинов IL-1 β . Это вполне объяснимо, поскольку основополагающую роль в патогенезе ЯБ, ассоциированной с *H. pylori*, играет ответная реакция макроорганизма на инфицирование, а в ответ на любую инфекцию в первую очередь происходит выработка различных провоспалительных цитокинов и факторов роста, запускающих каскад реакций внутри клетки. Кроме того, в многочисленных работах было показано, что IL-1 β является одним из самых сильных среди известных ингибиторов кислотной продукции [4, 5, 9, 14, 15].

Известно, что каждый ген расположен в одной из 23 пар хромосом. Два аллеля могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. Полиморфизм представляет варианты аллелей,

которые относительно часто встречаются в популяции и в целом связаны с отклонениями в экспрессии или функции ферментов. Генетический полиморфизм — это нуклеотидные вариации в определенном участке геномной последовательности. Он включает вставки, делеции, однонуклеотидные делеции (*Single Nucleotide Polymorphism, SNP*), составляющие до 90% всех вариаций генома.

Гены, кодирующие IL-1 β , локализованы на хромосоме 2q13-21. Ген IL-1 β содержит 22 экзона, 20 из которых альтернативные (т. е. имеют структурные варианты), и 9 интронов, из которых альтернативных 8. Наиболее изучены биаллельные полиморфизмы IL-1 β в позициях -511, -31 и +3953, которые представляют замены единственного нуклеотида. Анализ транскрипционной активности показал, что в позиции -511 цитозин заменяется на тимин (C→T), а в позиции -31 тимин заменяется на цитозин (T→C) — рис. 1.

Материал и методы исследования

В рамках проспективного когортного исследования обследованы 82 пациента, проживающих в Москве и Московской области и страдающих ЯБ желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК), ассоциированной с *H. pylori*. В ходе работы выделены следующие исследовательские точки (рис. 2):

- скрининг, включение в исследование (точка 1, день 0);
- лечение (точка 2, дни 1–7), клиническое наблюдение;
- контроль заживления язвы, клиническое обследование (точка 3, спустя 3 нед);
- контроль эрадикации, контроль заживления язвы (для лиц, у которых это не отмечалось ранее), клиническое обследование (точка 4, через 5–7 нед).

Комплаентность среди пациентов составила 97,6% (78 человек). Из исследования выбыли 4 пациента — 2 из-за не явки на контроль эрадикации, у 2 в процессе лечения отмечено побочное действие препаратов (диарея), потребовавшее их отмены.

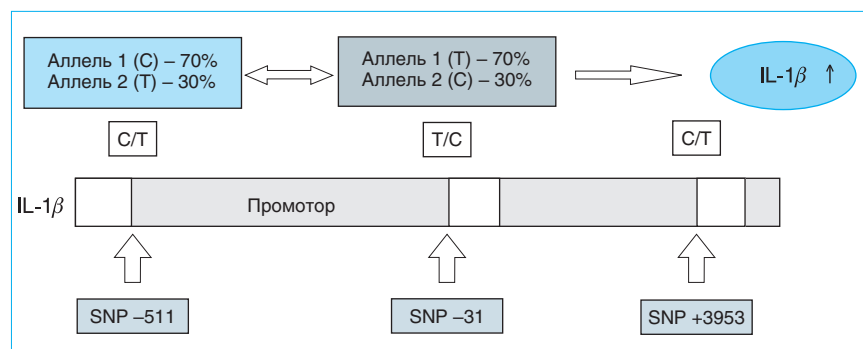


Рис. 1. Схематическое изображение полиморфизма IL-1 β (по R. Rad и соавт. [10])

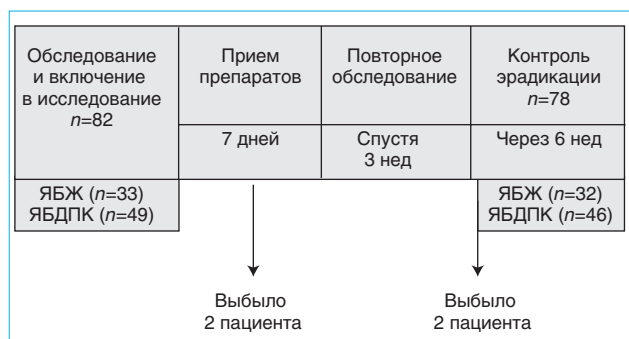


Рис. 2. Дизайн исследования (пояснения в тексте)

Критерии включения больных в исследование:

- наличие одной (не менее 5 мм в диаметре) или более дуоденальных или желудочных язв (независимо от размера);
- наличие *H. pylori*, подтвержденное двумя методами;
- подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- осложнения ЯБ (кровотечения, перфорации), развившиеся во время текущего обострения, а также стеноз выходного отдела желудка;
- ранее проведенная эрадикационная терапия первой линии (включавшая ИПП и два антибиотика) или прием любых антибиотиков в течение предыдущего месяца до начала текущего исследования;
- сопутствующая гастроэзофагеальная болезнь;
- наличие в анамнезе указаний на оперативные вмешательства на пищеводе, желудке или двенадцатиперстной кишке;
- тяжелые сопутствующие заболевания различных органов и систем (сердечная, почечная, печеночная, дыхательная недостаточность);
- гиперчувствительность к ИПП, антибиотикам группы пенициллина, макролидам;
- одновременный прием аспирина или нестероидных противовоспалительных средств;
- беременность или лактация;
- психические расстройства, злоупотребление алкоголем.

До включения в исследование обязательно проводилась *эзофагогастродуоденоскопия* (ЭГДС). Для выявления *H. pylori* брали по 2 биоптата из тела и антрального отдела желудка с последующим гистологическим изучением и проведением быстрого уреазного теста.

Всем пациентам назначалась терапия первой линии (в соответствии с рекомендациями Маастрихт-II), включавшая омепразол по 20 мг 2 раза в сутки, амоксициллин по 1000 мг 2 раза в сутки, кларитромицин по 500 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней. После окончания однонедельного курса, в случае если сохранялись болевой или

диспептический синдромы, разрешалось принимать антацидные средства.

Контроль эрадикационной терапии проводился через 4–6 нед после окончания лечения при использовании повторной ЭГДС с биопсией и дыхательного уреазного теста. Результат эрадикации оценивался как *H. pylori*-негативный, если оба теста (гистологический и дыхательный уреазный) были отрицательными, или как *H. pylori*-положительный, если в одном из них определялись *H. pylori*.

У всех пациентов изучался полиморфизм гена IL-1 β . Образцы геномной ДНК выделяли из цельной крови обследуемых. Нуклеотидный полиморфизм определяли с помощью реакции минисеквенирования с последующей масс-спектрометрической детекцией продуктов реакции. Исследование проводили в НИИ физико-химической медицины Росздрава (Москва).

Клиническое обследование больных включало субъективное и физикальное исследование.

Статистическую обработку данных осуществляли на персональном компьютере с применением программного пакета Statistica 6.0 (Statsoft США). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$. Исследование закончили 78 пациентов, в том числе 33 (42,3%) мужчины и 45 (57,7%) женщины, средний возраст $42,4 \pm 1,3$ года. Длительность заболевания варьировала от 1 года до 25 лет, в среднем $8,5 \pm 1,7$ года. ЯБЖ диагностирована у 31 (39,8%) больного, ЯБДПК – у 47 (60,2%).

Исследование одобрено к проведению на заседании локального этического комитета ГОУ ВПО МГМСУ Росздрава.

Результаты исследования и их обсуждение

Основной жалобой пациентов являлась боль в эпигастральной или пилородуоденальной области. Безболевого течения отмечено у 14 (18,0%) человек. Выраженная боль встречалась у 16 (20,5%) больных, умеренная – у 38 (48,7%), слабая – у 10 (12,8%).

При морфологическом исследовании нами также проводилась оценка состояния слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки по следующим критериям:

- локализация язвы;
- форма язвенного поражения.

ЭГДС, выполненная до начала исследования, показала, что при ЯБЖ язвенный дефект в 18 (58%) случаях был локализован в теле желудка и в 7 (22,5%) и 6 (19,4%) случаях соответственно – в угле желудка и пилорическом канале. При ЯБДПК у 46 (97,8%) больных язва выявлена в луковице и только у одного – в постбульбарном отделе.

Таблица 1

Распределение частот генотипа, абс. число (%)

Генотип IL-1 β -511	Распространенность по группам	
	ИТТ, n=82	РР, n=78
С/С	39 (47,6 \pm 5,5)	37 (47,4 \pm 5,6)*
С/Т	32 (39 \pm 5,4)	30 (38,5 \pm 5,5)**
Т/Т	11 (13,4 \pm 3,7)	11 (14,1 \pm 3,9)***

*p < 0,05 С/С по сравнению с Т/Т.

**p > 0,05 С/Т по сравнению с Т/Т.

***p < 0,05 С/С по сравнению с С/Т.

Округлая и полигональная формы язвенного дефекта имелись соответственно у 51 (65,4%) и у 27 (34,6%) пациентов.

При изучении биоптатов слизистой оболочки желудка обнаружены признаки хронического воспаления, специфические для геликобактерной инфекции. У всех больных наблюдалась инфильтрация межэпителиальных пространств и собственной пластинки полиморфноядерными нейтрофилами, лимфоцитами и гистиоцитами различной степени выраженности.

Генотипирование пациентов проводилось до окончания всего курса наблюдения и имела возможность оценить распространенность частот генотипов в двух группах: включенных в исследование (*intention-to-treat*, ИТТ) и закончивших исследование (*per protocol*, РР). Распределение частот генотипов представлено в табл. 1.

Полученные данные полиморфизма гена IL-1 β -511 показали, что у обследованных больных чаще определялся С/С генотип (47,4%), реже – Т/Т генотип (14,1%). Распространенность генотипа С/Т имела промежуточное значение – 38,5%. Таким образом, всего у 41 пациента был выявлен мутантный Т-аллель, что составило 52,6%, при этом подавляющее большинство пациентов (67) имели С-аллель (85,9%).

Болевой абдоминальный синдром по истечении курса эрадикационной терапии был купирован у 37 (57,8%) из 64 больных, в остальных случаях боль сохранялась, но уменьшилась по продолжительности и выраженности и характеризовалась как слабая или умеренная. К следующей исследовательской точке болевой синдром был полностью купирован у всех пациентов. Спустя 3 нед от начала лечения помимо динамики болевого абдоминального синдрома оценивалось заживление язвенного дефекта. Рубцевание к данному сроку достигнуто у 59 (75,6%) больных. При этом доля пациентов, страдающих ЯБДПК, составила 76,3%, что было ожидаемо, поскольку общеизвестно, что такие язвы рубцуются быстрее, чем язвы желудка. Через 5–7 нед язвенный дефект зарубцевался у всех пациентов.

При оценке эффективности эрадикации установлено: в контрольные сроки она была достигнута у 53 из 78 больных (табл. 2). Такой процент

в мировой практике оценивается как неудовлетворительный результат. Это можно объяснить несколькими причинами: коротким (7 дней) курсом эрадикационной терапии, высокой резистентностью штаммов *H. pylori* к кларитромицину, наличием омега-прозрала в качестве базового ИПП, использованием генерических препаратов в схеме лечения, полиморфизмом конституциональных генов, таких как ген цитохрома P450C19, и полиморфизмом гена IL-1 β -511.

В зависимости от полиморфного варианта IL-1 β все пациенты были разделены на 3 группы: гомозиготы по С-аллелю, гетерозиготы С/Т и гомозиготы по Т-аллелю. В каждой группе при оценке эффективности эрадикации получены следующие результаты (табл. 3). Статистически не значимая (p > 0,05) внутригрупповая эффективность у гомозиготных больных по С-аллелю может быть связана с малым количеством выборки, что, безусловно, требует дальнейшего изучения на больших группах. Среди гетерозиготных пациентов статистически значимо эрадикация была отмечена у 22 (73,30%) из них. У гомозиготных по Т-аллелю этот показатель достигал 91%, что также было статистически достоверным (p > 0,05). При наличии генотипа Т/Т полиморфизма гена IL-1 β -511 эффективность была достоверно выше, чем при других генотипах (С/Т, С/С). Более наглядно полученные данные можно представить в виде диаграммы (рис. 3).

Для проведения статистического анализа при помощи таблиц сопряженности пациенты были условно разделены на 2 группы в зависимости от наличия Т-аллеля. Установлено, что χ -квадрат равен 4,945 с одной степенью свободы, а p = 0,026. Таким образом, можно говорить о существовании

Таблица 2

Эффективность эрадикации у больных ЯБЖ и ЯБДПК

Эрадикация эффективна			Эрадикация не эффективна		
n	ИТТ, %	РР, %	n	ИТТ, %	РР, %
53	64,6	67,9	25	30,05	32,05

Таблица 3

Эффективность эрадикации в зависимости от генотипа, абс. число (%)

Генотип IL-1 β -511	Эрадикация		p
	достигнута, n=53	не достигнута, n=25	
С/С (n=37)	21 (56,70 \pm 8,1)	16 (43,30 \pm 8,1)	>0,05
С/Т (n=30)	22 (73,30 \pm 8,1)	8 (26,70 \pm 8,1)	<0,05
Т/Т (n=11)	10 (91 \pm 8,6)	1 (9 \pm 9)	<0,05

Примечание. В подгруппе с эффективной эрадикацией: С/С по сравнению с С/Т p > 0,05; С/С по сравнению с Т/Т p < 0,05; С/Т по сравнению с Т/Т p > 0,05.

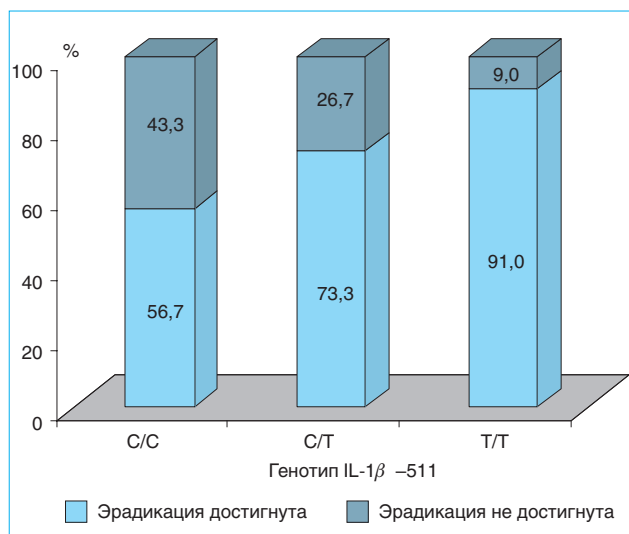


Рис. 3. Эффективность эрадикации в зависимости от полиморфизма гена IL-1β - 511

статистически значимой связи между генотипом и эффективностью тройной эрадикационной терапии.

Доказано, что полиморфные варианты гена IL-1β являются высокопродуцирующими IL-1β. У лиц, гомо- (Т/Т) или гетеро (С/Т) зиготных по высокопродуцирующему аллелю IL-1β, продуцируется в 4 или 2 раза соответственно больше этого цитокина, чем у лиц, гомозиготных по немутантному аллелю этого гена. Следовательно, при наличии полиморфного варианта IL-1β у инфицированных *H. pylori* развивается более выраженное воспаление в слизистой оболочке желудка. Также известно, что при pH>5 создаются худшие условия для жизнедеятельности бактерий и лучшие для реализации эффекта антибиотиков. Так, S. Sjosted и соавт. показали, что при pH>4,0 эрадикация отмечается в 84,2% случаев и чем длительнее период с pH 6,0, тем чаще она достигается [12].

Микробиологическое действие антибактериальных препаратов зависит от pH среды. Например,

Список литературы

1. Кудрявцева Л.В., Исаков В.А., Иванников И.О. и др. Резистентность НР к метронидазолу, кларитромицину и амоксициллину в Москве, Санкт-Петербурге и Абакане в 2001 г. // Педиатрия. — 2002. — № 2 (прил.). — С. 61–63.
2. Рекомендации по диагностике и лечению язвенной болезни: Пособие для врачей / Под ред. В.Т. Ивашкина и др. — М., 2005. — 30 с.
3. Ducons J.A., Santolaria S., Guirao R. et al. Impact of clarithromycin resistance on the effectiveness of a regimen for *Helicobacter pylori*: A prospective study of 1-week lansoprazole, amoxicillin and clarithromycin in active peptic ulcer // Aliment. Pharmacol. Ther. — 1999. — Vol. 13. — P. 775–780.

период полураспада ($T_{1/2}$) амоксициллина и кларитромицина увеличивается на фоне приема ИПП. Таким образом, являясь сильным естественным ингибитором продукции соляной кислоты, IL-1β при наличии Т-аллеля еще больше подавляет кислотную продукцию, приводя к увеличению эффективности действия антибактериальных средств.

Результаты нашего исследования на российской популяции подтверждают имеющиеся зарубежные данные [6, 13], что генетически детерминированное изменение продукции интерлейкина-1β оказывает влияние на эффективность эрадикации *H. pylori*.

Выводы

1. Эрадикация *H. pylori* без учета генотипа пациента была достигнута у 68% пациентов.

2. Наличие Т-аллеля значительно повышает вероятность успешности эрадикационной терапии. В нашем исследовании она составила при гомозиготном варианте по Т-аллелю 91%, при гетерозиготном варианте — 73,3%, при гомозиготном по С-аллелю — 56,7%.

3. Учет полиморфизма IL-1β может быть использован для выделения групп риска и целенаправленной эрадикации.

4. Полученные низкие значения эффективности эрадикационной терапии могут быть обусловлены также следующими факторами, анализ которых не проводился:

- резистентностью *H. pylori* к кларитромицину;
- коротким (7 дней) курсом эрадикационной терапии первой линии, тогда как в соответствии с Маастрихтским соглашением III ее продолжительность должна составлять 14 дней;
- возможным полиморфизмом гена CYP2C19.

Поэтому учет в дальнейшем указанных факторов может повлиять на порог эффективности, что позволит достичь целевого уровня эрадикации *H. pylori*.

4. El-Omar E.M., Carrington M., Chow W.H. et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer // Nature. — 2000. — Vol. 404 (6776). — P. 398–402.
5. El-Omar E.M., Chow W.H., Gammon M.D. et al. Pro-inflammatory genotypes of IL-1beta, TNF-alpha and IL-10 increase risk of distal gastric cancer but not of cardia or esophageal adenocarcinoma // Gastroenterology. — 2001. — Vol. 120, N 5 (suppl. 1). — P. 86.
6. Furuta T., Shirai N., Xiao F. et al. Polymorphism of interleukin-1beta affects the eradication rates of *Helicobacter pylori* by triple therapy // Clin. Gastroenterol. Hepatol. — 2004. — Vol. 2, N 1. — P. 22–30.
7. Hopkins R.J., Girardi L.S., Turney E.A. Relationship between *Helicobacter pylori* eradication and reduced duodenal and gastric ulcer recurrence: A review // Gastroenterology. — 1996. — Vol. 110, N 4. — P. 1244–1252.

8. *Lehmann D.F., Medicis J.J., Franklin P.D.* Polymorphisms and the pocketbook: the cost effectiveness of cytochromeP450 2C19 genotyping in the eradication of *Helicobacter pylori* infection associated with duodenal ulcer // *J. Clin. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 43, N 12. – P. 1316–1323.
9. *Portal-Celhay C., Perez-Perez G.I.* Immune responses to *Helicobacter pylori* colonization: mechanisms and clinical outcomes // *Clin. Sci. (Colch).* – 2006. – Vol. 110, N 3. – P. 305–314.
10. *Rad R., Prinz C., Neu B.* et al. Synergistic effect of *Helicobacter pylori* virulence factors and interleukin-1 polymorphisms for the development of severe histological changes in the gastric mucosa // *J. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 188. – P. 272–281.
11. *Sapone A., Vaira D.* et al. The clinical role of cytochrome p450 genotypes in *Helicobacter pylori* management // *Am. J. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 98. – P. 1010–1015.
12. *Sjostedt S., Sagar M., Lindberg G.* et al. Prolonged and profound acid inhibition is crucial in *Helicobacter pylori* treatment with a proton pump inhibitor combined with amoxicillin // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1998. – Vol. 33. – P. 39–43.
13. *Sugimoto M., Furuta T., Shirai N.* Influences of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine polymorphisms on eradication rates of clarithromycin-sensitive strains of *Helicobacter pylori* by triple therapy // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2006. – Vol. 80. – P. 41–50.
14. *Wallace J.L., Cucala M., Mugridge K.* et al. Secretagogue-specific effects of interleukin-1 on gastric acid secretion // *Am. J. Physiol.* – 1991. – Vol. 261. – P. 559–564.
15. *Wolfe M.M., Nompleggi D.J.* Cytokine inhibition of gastric acid secretion little goes a long way // *Gastroenterology.* – 1992. – Vol. 102. – P. 2177–2178.