

Эндогенные факторы риска развития язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori*

Н. В. Смагина, А. С. Сарсенбаева, С. Н. Теплова

ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Росздрави», г. Челябинск;

ГОУ «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Росздрави», г. Екатеринбург.

Резюме

Проведен анализ эндогенных факторов риска развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки в сопоставлении с хроническим гастритом у мужчин, а также частоты выявления антигенов HLA I класса и их ассоциаций с развитием язвенной болезни желудка и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. На основании определения показателя относительного риска установлена достоверная значимость роли отягощенной наследственности по *H. pylori*-ассоциированным заболеваниям и высокой частоты выявления группы крови $O_{ар}(I)$ у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в сопоставлении с хроническим гастритом. В общей группе пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, относящихся к славянской популяции и проживающих на Южном Урале, достоверных различий в частоте выявления HLA I класса антигенов в сопоставлении с контрольной группой доноров не выявлено. Установлено достоверное превалирование при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки антигена HLA-B40 и его положительная значимая ассоциация с заболеванием ($RR=3,84$).

Ключевые слова: язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, *Helicobacter pylori*, HLA I класса.

Введение

Язвенной болезнью желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) страдает около 10% населения [2, 4]. *Helicobacter pylori* (Н.р.)-ассоциированные заболевания гастродуоденальной зоны являются наиболее распространенными из хронически текущих инфекций человека [5, 12, 14]. Распространенность данной инфекции в популяции составляет около 80% [3]. Подавляющее большинство инфицированных остаются бессимптомными носителями, что определяется, с одной стороны генетически обусловленными свойствами Н.р., их вирулентностью, а с другой — особенностями иммунного ответа хозяина, эндогенными факторами риска развития заболевания. Среди эндогенных факторов особое значение придается отягощенной наследственности по Н.р.-ассоциированным заболеваниям. Частота наследственной отягощенности у больных яз-

венной болезнью (ЯБ) составляет 5,5-50%. [9]. Некоторые исследователи предполагают значение астенического типа конституции (индекс массы тела менее 19) в развитии ЯБ [10]. Общепризнанным генетическим маркером, ассоциированным с развитием ЯБ ДПК, является $O_{ар}(I)$ группа крови. Широко дискутируется роль комплекса гистосовместимости и ассоциации его генов (антигенов) с данной патологией. Ряд авторов [13] установили, что HLA-B5 встречается у 24% мужчин с ЯБ ДПК, а в контрольной группе лишь у 10%.

Иммуногенетические исследования Н.р.-ассоциированных заболеваний являются одним из интенсивно развиваемых сегодня направлений в анализе этиологии и патогенеза ЯБЖ и ДПК, полиморфизма клинических проявлений и локализации язвенных поражений гастродуоденальной зоны. Актуальность данного направления определяется важной ролью генетической системы гистосовместимости HLA I и II классов, контролирующей синтез одноименных белков, имеющих ключевую роль в процессинге и презентации пептидных антигенов, в характере формирования иммунного ответа хозяина на чужеродные микробные антигены.

Цель исследования: анализ эндогенных факторов риска развития язвенной болезни две-

С. Н. Теплова — д. м. н., профессор, зав. кафедрой аллергологии и иммунологии ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрави»;

А. С. Сарсенбаева — д. м. н., профессор кафедры терапии, фтизиопульмонологии и профпатологии ГОУ ДПО УГМАДО Росздрави;

Н. В. Смагина — к. м. н., доцент, кафедра госпитальной терапии и семейной медицины ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрави».

Таблица 1. Частота выявления факторов риска у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и хроническим гастритом

Эндогенные факторы риска	ХГ		ЯБ		RR	P
	n=213	%	n=233	%		
Отягощенная наследственность по <i>H. pylori</i> ассоциированным заболеваниям	97	45,5	170	72,9	3,2	<0,001
Астенический тип конституции (ИМТ<19)	28	13,1	47	20,2	1,7	>0,05
Группа крови O _{аp} (I)	42	19,7	104	44,6	3,2	<0,001

надцатиперстной кишки, в сопоставлении с хроническим гастритом у мужчин, а также частоты выявления антигенов HLA I класса и их ассоциаций с развитием язвенной болезни желудка и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе гастроэнтерологического отделения Челябинской областной клинической больницы, обследовано 213 больных с антральным гастритом, 223 больных с ЯБ ДПК. Средний возраст пациентов составил $41,6 \pm 7,4$ года. Критериями включения в обследуемую группу были: наличие Н.р.-ассоциированного заболевания, мужской пол, возраст от 17 до 69 лет. У 50 пациентов (славяне), включенных в исследование, проведено определение антигенов HLA I класса на базе лаборатории иммунологического типирования Челябинской областной станции переливания крови. Среди них с ЯБЖ было 16 человек, с ЯБДПК - 34 человека. В качестве контроля в иммуногенетическом исследовании использовали данные, полученные при обследовании 701 донора, славян, жителей Южного Урала [8].

Диагноз устанавливался в соответствии с МКБ-10 на основании клинико-анамнестических, лабораторно-инструментальных данных.

Методы, использованные в работе: клинические, инструментальные, лабораторные, иммуногенетические и статистические.

Использовались стандартные клинические методы, анкетирование пациентов с оценкой семейного анамнеза и выявлением в семье больных с Н.р.-ассоциированными заболеваниями. Инструментальное обследование проведено с помощью фиброгастродуоденоскопии фиброгастроскопом типа «Olympus». Для диагностики Н.р. использовали микроскопическое определение степени обсемененности Н.р. [1], а также определение специфических антител к Н.р. в сыворотке крови с помощью тест-системы «PYLORISSET».

Иммуногенетические методы

Для определения антигенов HLA I класса использовали стандартный лимфоцитотокси-

ческий тест. В качестве гистотипирующих стандартов использовались сыворотки Санкт-Петербургского НИИ гематологии и переливания крови. С помощью данных реактивов определялись антигены локуса HLA-A: A1, A2, A3, A9, A10, A11, A19, A28; локуса HLA-B: B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, B22, B27, B35, B40. Выбор антигенов локусов HLA-A, B определялся тем, что именно они чаще применяются для рутинного иммуногенетического типирования, наиболее изучены и дают клинически значимые ассоциации. В качестве комплемента применялась сыворотка крови кролика, хранящаяся при -40°C в течение месяца. Для окраски лимфоцитов использовался 5% водный раствор эозина. Определение проводилось в лунках микропланшетов под слоем вазелинового масла. Оценку результатов реакции проводили микроскопически.

Статистические методы обработки данных проводилась в соответствии с методами, используемых в иммуногенетических исследованиях [7].

При анализе эндогенных факторов риска у больных ХГ и ЯБДК использовалось определение показателя относительного риска (RR) по формуле:

$$RR = \frac{a \times d}{b \times c},$$

где a — частота выявления признака у больных ХГ, b — частота отсутствия признака у больных ХГ, c — частота наличия признака у больных ЯБ ДПК, d — частота отсутствия признака у больных ЯБДК.

Для обработки данных иммуногенетического анализа определялись следующие показатели:

1. Частота встречаемости антигена A_x , выраженная в процентах от общего числа обследованных.

2. Частота гена, контролирующего каждый антиген HLA, по формуле:

$$p_x = 1 - \sqrt{1 - A_x}$$

3. Достоверность различий в частоте встречаемости антигенов рассчитывалась согласно критерию Пирсона для малой выборки:

$$\chi^2 = \frac{1}{(1/a+1/b+1/c+1/d)} \times \ln^2 \left(\frac{a \times d}{b \times c} \right),$$

Значения a, b, c, d находились из четырехпольной таблицы где:

a — число больных с наличием данного антигена;

b — число больных, у которых антиген отсутствует;

c — число здоровых людей с наличием антигена;

d — число здоровых людей с отсутствием антигена.

4. Уровень P находился по таблицам через χ^2 при одной степени свободы с коррекцией на число определяемых антигенов (K) по методу Бонферрони.

5. Перед определением ассоциаций в группах с ЯБЖ и ЯБДПК проводили определение генетических расстояний [6] между сравниваемыми группами по формуле:

$$d_{1,2} = \frac{\sum \sqrt{(P_1 - P_2)^2}}{n}$$

P_1, P_2 — частоты аллеля в популяциях; n — число сравниваемых пар аллелей.

Объединение пациентов не производилось, если генетическое расстояние между изучаемыми подгруппами имеет тот же порядок или больше, чем генетические расстояния от этих подгрупп до контрольной группы здоровых людей.

6. Сила ассоциации измерялась величиной относительного риска RR, которую определяли по вышеприведенной формуле;

7. Для оценки силы ассоциации антигенов HLA с заболеваниями использовалась так называемая этиологическая фракция, рассчитываемая при RR 1 по формуле:

$$EF = \frac{RR - 1}{RR} \times A_1.$$

В случаях, когда $RR < 1$, определялась величина превентивной фракции

$$PF = \frac{1 - RR}{RR \times (1 - A_1) + A_1}.$$

Выбор вышеперечисленных показателей был сделан на основе литературных материалов в области популяционной генетики; эти показатели являются общепринятыми в научных иммуногенетических исследованиях. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Первым этапом исследования был анализ значимости некоторых эндогенных факторов риска развития ЯБ ДПК в сопоставлении с хроническим гастритом. Результаты представлены в табл. 1.

На основании анкетирования больных с Нр.-ассоциированными заболеваниями гастродуоденальной зоны, среди которых было 213 пациентов с хроническим гастритом (ХГ) и 233 больных с и ЯБ ДПК, и последующего определения показателя относительного риска нами установлена достоверная значимость, отягощенной наследственности при ЯБ ДПК ($RR=3$, при $p < 0,001$), что соответствует литературным данным [10]. В структуре семейных заболеваний у пациентов с ЯБ выявлены: ЯБ(56%), ХГ (16,3%), рак желудка (27,6%).

Как следует из табл. 1, подтверждена с помощью определения показателя относительного риска также более высокая частота выявления принадлежности пациентов с ЯБ ДПК к $0_{aq}(I)$ группе крови, в сравнении с больными хроническим гастритом ($RR=3,2$ при $p < 0,001$).

Не установлено достоверной связи ЯБДПК с астеническим типом конституции (ИМТ менее 19).

Далее был проведен анализ частоты выявления HLA-A, B антигенов у 50 пациентов с разной локализацией язвы (при ЯБЖ — 16 человек и ЯБ ДПК- 34 человека) и в сопоставле-

Таблица 2. Показатели ассоциативных связей антигенов HLA I класса с заболеваниями

HLA	χ^2	RR	EF	PF
A1	0,044	1,072	0,017	-
A2	1,384	0,707	-	0,351
A3	0,332	0,816	-	0,214
A9	0,015	0,961	-	0,041
A10	0,735	0,712	-	0,380
A11	1,105	0,462	-	1,113
A19	1,129	0,337	-	1,891
A28	3,049	3,132	0,041	-
B5	1,706	0,499	-	0,929
B7	1,121	0,670	-	0,453
B8	0,001	1,012	0,002	-
B12	1,501	1,549	0,078	-
B13	4,096	0,342	-	1,665
B14	2,399	2,180	0,054	-
B15	3,847	2,237	0,089	-
B16	0,945	0,489	-	1,002
B17	0,001	0,983	-	0,018
B18	1,346	1,702	0,050	-
B21	0,111	1,286	0,009	-
B22	0,001	0,959	-	0,043
B27	0,175	0,816	-	0,220
B35	0,032	0,938	-	0,065
B40	8,882	3,120	0,136	-

нии с группой доноров Южно-Уральского региона. Частота выявления антигенов у больных контрольной группы, у пациентов с ЯБЖ и ЯБ ДПК представлена в табл. 2. Из табл. 2 следует, что достоверных различий с группой доноров по частоте выявления антигенов HLA I класса у пациентов в общей группе с ЯБЖ и ЯБ ДПК не установлено.

Далее в соответствии с методикой анализа, использованной в работе [6], были определены генетические расстояния между группами больных с ЯБЖ и ЯБДПК, с одной стороны, и донорами — с другой. Полученные генетические расстояния представлены ниже:

- между группой больных ЯБЖ и контрольной группой $d_{жз} = 4,17$;
- между группой больных ЯБДПК и контрольной группой $d_{кз} = 4,66$;
- между группой больных ЯБЖ и группой больных ЯБДПК $d_{жк} = 6,59$.

Поскольку полученные расстояния имеют одинаковый порядок, в соответствии с методикой выявления ассоциаций антигенов HLA с заболеваниями, дальнейшее определение связей антигенов HLA с заболеванием проводилось

Таблица 3. Показатели ассоциативных связей антигенов системы HLA с язвенной болезнью желудка

HLA	χ^2	RR	EF	PF
A1	1,33	1,83	0,170	-
A2	0,49	0,70	-	0,361
A3	0,39	0,67	-	0,455
A9	1,63	1,92	0,210	-
A10	0,14	1,25	0,050	-
A11	0,08	0,74	-	0,345
A19	0,19	0,00	-	-
A28	0,12	0,00	-	-
B5	0,19	1,32	0,046	-
B7	0,29	0,70	-	0,389
B8	0,13	0,76	-	0,305
B12	0,10	0,78	-	0,266
B13	1,66	0,26	-	2,391
B14	1,76	2,80	0,080	-
B15	0,45	1,68	0,051	-
B16	0,45	1,68	0,051	-
B17	0,07	0,75	-	0,321
B18	0,41	0,00	-	-
B21	3,56	4,41	0,097	-
B22	0,00	0,96	-	0,043
B27	0,66	1,70	0,077	-
B35	3,55	0,00	-	-
B40	0,56	1,78	0,055	-

для каждой группы больных с разной локализацией язвенного процесса отдельно с определением критерия Пирсона (χ^2), относительного риска (RR), этиологической (EF) и превентивной (PF) фракции. Результаты сравнения с группой доноров сведены для пациентов с язвенной болезнью желудка в табл. 3.

На основании анализа табл. 3 следует, что у больных с ЯБЖ не установлено достоверных различий с группой доноров по распространенности HLA-A, HLA-B антигенов, для ЯБЖ не выявлено значимых HLA I класса ассоциаций.

Вместе с тем можно отметить, что у больных с ЯБЖ несколько чаще, чем в донорской группе встречаются HLA антигены A1, A9, B14, B21, B27, B40 (RR>1,78). У них несколько снижена частота встречаемости антигенов A3 и B13 (RR<0,67), отсутствуют A19, A28, B18, B35 антигены, что не было верифицировано статистически. Наиболее высокое значение критерия Пирсона (табл. 3) наблюдалось для антигена B21 ($\chi^2 = 3,56$), но и это значение не является статистически достоверным, хотя самое высокое значение показателя относительного риска было также обнаружено для этого антигена (RR=4,41). Не установлено достоверных различий по этиологической фракции для антигена A9 (EF=0,210), что, очевидно, связано с высокой частотой встречаемости антигена (Ax=43,8%, при $\chi^2 = 1,63$; RR=1,92).

Результаты сопоставления частот HLA антигенов у больных ЯБДПК в сопоставлении с группой доноров приведено в табл. 4.

По сравнению с контрольной группой у этих больных чаще встречались антигены A28, B12, B15, B18, B35, B40 (RR>1,52), реже A9, A10, A11, A19, B5, B7, B13, B27 (RR<1), отсутствовал антиген B16. Однако описываемые тенденции не были статистически достоверными. Самое высокое значение относительного риска RR=4,75 зафиксировано для антигена A28, но $p < 0,05$, но при этом значение этиологической фракции было всего 0,070. Самое высокое значение превентивной фракции выявлено для антигена B5 (PF=4,167), что в сочетании с низким значением относительного риска (RR=0,17) делает перспективным дальнейший анализ протективного значения этого антигена защитных функциях этого антигена за счет увеличения исследуемой выборки.

В данной группе наблюдается статистически достоверное увеличение частоты встречаемости единственного антигена B40 ($\chi^2=9,83$; $Px < 0,05$). Самое высокое значение этиологической фракции также установлено для антигена B40 (EF=0,174; а величина относительного риска RR=3,84).

Все это вместе взятое позволяет сделать заключение о существовании достоверной ассоциации между антигеном В40 и ЯБДПК.

Таким образом, проведенными исследованиями установлена значимость в качестве факторов риска не только особенности семейного анамнеза и выявление высокой частоты эритроцитарного антигена $O_{AB}(I)$, но и ассоциация ЯБДК с HLA антигеном В-40. Дальнейшее изучение ассоциаций язвенных поражений желудочно-кишечного тракта с антигенами (генами) системы гистосовместимости HLA, выявление положительных и отрицательных ассоциаций антигенов, может служить основой для выявления и формирования групп риска по ЯБЖ и ДПК. Исследования в этом направлении могут способствовать более глубокому пониманию патогенетических механизмов, лежащих в основе ассоциативных связей ген-болезнь, и быть полезными для улучшения системы диспансеризации, выявления заболевания в ранних стадиях.

Выводы

1. В качестве эндогенных факторов риска развития ЯБ ДПК установлено достоверное повышение частоты отягощенной наследственности по И.р.-ассоциированным заболеваниям гастродуоденальной зоны и высокая частота выявления $O_{AB}(I)$ группы крови у больных с ЯБ ДПК в сопоставлении с хроническим гастритом.

2. В общей группе пациентов с ЯБЖ и ДПК, относящихся к славянской популяции и проживающих на Южном Урале, достоверных различий в частоте выявления HLA I класса антигенов в сопоставлении с контрольной группой доноров не выявлено.

3. При раздельном анализе частоты выявления HLA антигенов у больных с ЯБЖ и ЯБДК установлено достоверное превалирование при ЯБДК антигена HLA-В40 и его положительная значимая ассоциация с заболеванием (RR=3,84).

Литература

1. Аруин Л. И., Григорьев П. Я., Исаков В. А., Яковенко Э. П. Хронический гастрит. Амстердам, 1993; С.308.
2. Василенко В. Х., Гребнев А. Л., Шептулин А. А. Язвенная болезнь. М.: Медицина, 1987; 288 с.
3. Голофеевский В. Ю., Литовский И. А., Ситкин С. И., Яровенко И. И. Дискуссионные вопросы патогенеза и лечения гастродуоденальных язв. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. Научно-практический журнал №2-3/2008.С.2.
4. Ивашкин В. Т, Мегро Ф., Лапина Т.Л, Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. М.: Триада-Х, 1999.

Таблица 4. Показатели ассоциативных связей антигенов системы HLA с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки

HLA	χ^2	RR	EF	PF
A1	0,29	0,79	-	0,250
A2	0,94	0,71	-	0,346
A3	0,08	0,89	-	0,119
A9	1,06	0,64	-	0,503
A10	1,66	0,50	-	0,900
A11	1,13	0,34	-	1,868
A19	0,45	0,50	-	0,969
A28	5,54	4,75	0,070	-
B5	2,94	0,17	-	4,167
B7	0,86	0,65	-	0,484
B8	0,08	1,14	0,021	-
B12	2,87	1,98	0,131	-
B13	2,49	0,38	-	1,421
B14	1,04	1,90	0,042	-
B15	3,84	2,52	0,106	-
B16	1,86	0,00	-	-
B17	0,02	1,09	0,007	-
B18	4,34	2,67	0,110	-
B21	0,28	0,00	-	-
B22	0,25	0,49	-	1,180
B27	1,11	0,46	-	1,102
B35	1,52	1,59	0,120	-
B40	9,83	3,84	0,174	-

5. Лапина Т. Л. Язвенная болезнь: новые факты — новые вопросы. Арх. патологии. 1998; 60, №3: 63-65.
6. Лившиц Л. А. Методика выявления ассоциаций заболеваний с системой HLA. Вестник Южно-Уральского гос. Университета, серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». 2003; 5: 83-85.
7. Певницкий Л. С. Статистическая оценка HLA-антигенов с заболеваниями. Вестник АМНСССР-1988; 7: 48-51.
8. Суслова Т. А. Иммуногенетическая структура основных популяций населения Челябинской области и ассоциации системы HLA-A, B, C с некоторыми заболеваниями в славянской популяции. Кандидатская диссертация. Челябинск, 1989; 123с.
9. Циммерман Я. С. Очерки клинической гастроэнтерологии. Изд-во Пермского ун-та. Пермь, 1992; 69-164.
10. Mignon M. Gastroenterology. Pais: Ellipses, 1992; 704p.
11. Megraud F. Epidemiology of Helicobacter pylori infection: ulcer are we in 1995. J. Gastroenterol. Hepatol 1995; 7: 4.
12. Logan R.P.H. Helicobacter pylori and gastric cancer. Lancet. 1994; 15: 344 (8929). 1078-1079.
13. Rotter J.J., Rimoin D.L., Gursky J. Et al. HLA- associated with duodenal ulcer. Gastroenterology, 1977. vol. 73.n3, p. 438-440]
14. Rugge M., Cassaro M., Leandro G. et al. Helicobacter pylori infection in gastric cancerogenesis. Dig. Dis. Sei 1996; 41: 950-955.