

Helicobacter pylori: infekcija, genetika, liječenje

Bakterija *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) otkrivena je 1979. godine. Izolirali su je 1983. godine Robin Warren i Barry J. Marshall (Nobelova nagrada za otkriće *H. pylori* – 2005. godine). Pronašli su da je bakterija prisutna u osoba s kroničnim gastritisom i činom na želucu, stanjima za koja se prije toga smatralo da nisu uzrokovana mikroorganizmima. Naseljava različite dijelove želuca i dvanaesnika gdje uzrokuje upalu koja je povezana s pojavom većine želučanih tegoba, uključujući i zloćudne promjene na želucu.

Više od 50% cjelokupne populacije ljudi nosi ovu bakteriju u želucu/dvanaesniku, ali se u oko 80% zaraženih ne pojavljuju nikakvi simptomi. U ostalih ljudi razvija se gastritis, od čega se u 10% razvija čir na želucu/dvanaesniku, u 1% razvija se tumor želuca, a u manje od 0,1% MALT-limfom (od engl. *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*). Infekcija je znatno češća u stanovnika zemalja u razvoju, nego u stanovnika ekonomski razvijenih zemalja. Liječenje je prijeko potrebno. Međutim, temeljem činjenica da se u brojnih zaraženih osoba ne razvijaju simptomi infekcije, postoji i mišljenje da bakterija u takvih osoba nije patogen, već je važna za održavanje normalne mikrookoline želuca, te da bi liječenje, u takvim slučajevima, moglo uzrokovati/pogoršati simptome nekih bolesti kao što su npr. refluks jednjak-želudac, razne alergijske reakcije i astma. Smatra se, naime, da aktivacija Th1-stanica s proteinom *H. pylori* koji aktivira neutrofile i smanjenje aktivnosti Th2-stanica, može polučiti povoljno djelovanje *H. pylori* na organizam domaćina u obrani protiv alergijskih reakcija. Suprotno tomu, neliječene infekcije bakterijom *H. pylori* pogoršavaju probleme vezane uz idiopatsku trombocitopeniju i anemije uzrokovane manjkom željeza, a mogu biti i uzrokom nastanka dijabetesa tipa 2. Treba li liječenje provoditi u svih zaraženih osoba, i simptomatskih i

Bakterija *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) naseljava različite dijelove želuca i dvanaesnika čovjeka, gdje uzrokuje upalu koja je povezana s pojavom većine želučanih tegoba, uključujući i zloćudne promjene na želucu. Više od 50% cjelokupne populacije ljudi nosi ovu bakteriju, ali se u oko 80% osoba zaraženih ne pojavljuju nikakvi simptomi. U ostalih se razvija gastritis i čir na želucu, a u manjem broju i tumor želuca. Liječenje je prijeko potrebno. *H. pylori* je gram-negativan bacil. Dijeli se sporo. Prestaje se dijeliti pri pH 3,5 što je neobično važno za sastavljanje protokola liječenja. S obzirom na to da postoji cijeli niz različitih sojeva *H. pylori*, za ishod infekcije važno je kojim je sojem osoba inficirana. Za klinički ishod zaraze uzrokovane bakterijom *H. pylori* ključni su proteini CagA, VacA i PAI tipa 4 sekretorni sustav, koji se nalaze u PAI-slijedu genoma. Za eradikaciju bakterije primjenjuju se različiti protokoli kombiniranoga liječenja, ali niti jedan nije zadovoljavajući. Zasad ne postoji učinkovita i sigurna vakcina protiv *H. pylori*, kao niti bilo koji drugi protokol liječenja.

prof. dr. sc. Jasminka Pavelić

Laboratorij za molekularnu onkologiju,
Institut „Ruđer Bošković“, Zagreb

asimptomatskih, još je uvijek dvojba i predmet rasprave.

Posebno je opasna kombinacija inficiranosti bakterijom uz istodobno pušenje, zlouporabu alkohola, nezdrave hrane (pržena hrana), kao i nekih lijekova (salicilati, hormonalni pripravci, antibiotici, narkotici). Suvremeni, često predinamičan i stresan, način života umnožava probleme jer je poznato da stres potiče izlučivanje želučane kiseline koja oštećuje želučanu sluznicu. Svi nabrojeni čimbenici, uz postojanje infekcije bakterijom *H. pylori*, povećavaju pojavnost želučanih tegoba, za čak 60 puta. Drugim riječima, zaražene osobe imaju 10–20% povećan rizik za razvoj čira na želucu, i 1–2% povećan rizik za razvoj tumora želuca. Iako mehanizam nastanka tumora kao posljedica infekcije bakterijom *H. pylori* nije poznat, godine 1994. *International Agency for Research on Cancer* kategorizirala je *H. pylori* kao skupinu I kancerogena. Interesantno je, međutim, da je unatoč visokoj učestalosti infekcije bakterijom *H. pylori* u Africi i južnoj Aziji, učestalost karcinoma želuca u tim područjima niža nego u drugim dijelovima Zemlje. Ovaj se fenomen naziva „afričkom enigmom“ ili „azijskom enigmom“.

Bakterija je isprva nazvana *Campylobacter pyloridis*. Potom je preimenovana u *C. pylori*. Sekvenciranjem genoma pokazano je, 1989. godine, da bakterija ne pripada rodu *Campylobacter*, pa je svrstana u vlastiti rod, *Helicobacter*. Različitost vrlo velikog broja sojeva te bakterije opada s geografskom udaljenošću od Istočne Afrike – mjesta rođenja modernoga čovjeka.

Svojstva bakterije *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori je gram-negativan bacil, duljine oko 3, a dijametra oko 0,5 μm. Mikroaerofilna je. Dijeli se sporo, 4–6 puta u jednom satu. Prestaje se dijeliti pri pH 3,5. To je podatak koji je neobično važan za sastavljanje protokola liječenja, o čemu će biti govora dalje u tekstu. Sintetizira brojne enzime, od kojih je veoma važna ureaza koja bakteriji omogućuje preživljenje u kiselom pH želuca. Naime, ureaza razgrađuje želučanu ureju na CO₂ i amonijak. Amonijak se pretvara u NH₄⁺ koji neutralizira želučanu kiselinu. Amonijak je toksičan za epitelne stanice, i zajedno s drugim produktima *H. pylori*, uključujući i proteaze, citotoksin A (VacA) i različite fosfolipaze, oštećuje stanice. U posebnim,

za bakteriju nepovoljnim uvjetima, pretvara se u okruglasti oblik; u tom se obliku ne može uzgajati u kulturi.

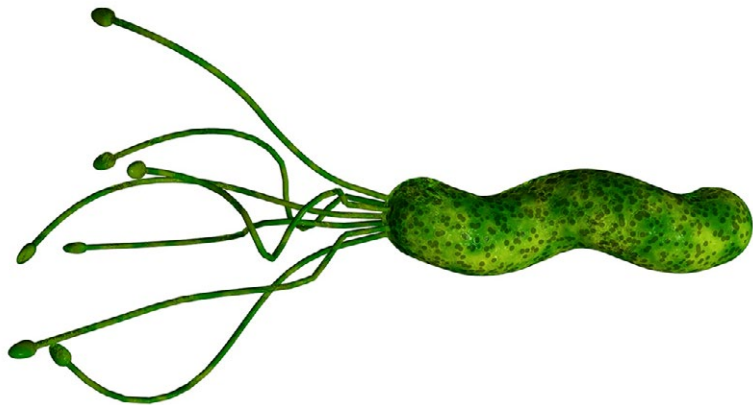
Da bi preživjela u kiselom pH želuca bakterija se svojim bičevima ukopava u mukoza stijenke želuca i potom se negativnom (u odnosu na pH) kemotaksijom pomiče dublje u stijenku želuca sve do epitelnih stanica na čije se membrane veže adhezinima. Na primjer, adhezin BabA veže se na antigen b Lewis krvne grupe, koji se nalazi na površini epitelnih stanica želuca (o krvnim grupama pisali smo u, jubilarnom, broju 100, Medixa).

Bakterijski genom

Postoji više od tisuću sojeva ove bakterije. Genom triju sojeva potpuno je sekvenciran. Soj „26695“ sastoji se od oko 1,7 milijuna parova baza s oko 1550 gena. Posjeduje 40 kb dugačak slijed koji je odgovoran za patogenost bakterije. Naziva se PAI (od engl. Pathogenicity Island), a sadržava više od 40 gena.

U PAI-slijedu nalazi se gen CagA (engl. Cytotoxin-associated gene A) koji kodira protein, jedan od glavnih uzročnika virulentnosti. Sojevi bakterija dijele se na CagA pozitivne i CagA negativne; oni koji posjeduju taj gen uzrokuju, u zaraženih osoba, nastanak čira želuca/dvanaesnika (više od 60% izolata *H. pylori* u zemljama Zapada su CagA-pozitivni). Manjak gena CagA uzrokuje asimptomatske infekcije. CagA-pozitivni sojevi razlikuju se prema broju ponavljanja u tzv. ponavljajućem slijedu u 3' regiji gena CagA. Ponavljanje se sastoji od tripleta koji kodiraju za aminokiseline Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA motiv). Nedavno je pokazano da virulentnost bakterije ovisi o strukturi proteina (20 do 50 aminokiselina) vezanog za taj ponavljajući slijed; različite strukture toga slijeda nazvane su: EPIYA-A, -B, -C, -D, -E. Najvirulentniji je EPIYA-E.

PAI-slijed kodira i za tip 4 sekretorni sustav (engl. Type 4 Secretion System) koji služi unosu CagA proteina u epitelne stanice želuca domaćina. CagA se lokalizira na unutrašnju stranu membrane stanice i podliježe fosforilaciji tirozina s pomoću kinaza obitelji Src-a. Fosforilirani CagA rea-



Helicobacter pylori je gram-negativan bacil. Mikroaerofilna je bakterija. Dijeli se veoma sporo. Prestaje se dijeliti pri pH 3,5. Sintetizira brojne enzime, od kojih je veoma važna ureaza koja bakteriji omogućuje preživljenje u kiselom pH želuca. Više od 50% cjelokupne populacije ljudi nosi ovu bakteriju u želuca/dvanaesniku, ali se u oko 80% zaraženih ne pojavljuju nikakvi simptomi. U ostalih se ljudi razvija gastritis od čega se u 10% razvija čir na želuca/dvanaesniku, u 1% razvija se tumor želuca, a u manje od 0,1% MALT-limfom. Liječenje je prijeko potrebno.

gira sa SHP-2 (engl. Src Homology 2 Phosphatase), što uzrokuje promjenu morfologije stanice domaćina u tzv. kolibrić fenotip, uništava citoskelet i polarnost stanice, njezino vezanje za susjedne stanice, itd. Ukratko, CagA djeluje kao onkoprotein.

Suprotno od gena CagA, gen VacA prisutan je i aktivan u svim sojevima bakterija. Kodira iznimno patogeni/virulentan citotoksin koji uzrokuje vakuolizaciju i stvaranje pora na membrani stanica, otpuštanje citokroma c iz mitohondrija (posljedica je apoptoza stanica) i, posredno, pokretanje proupalne reakcije organizma domaćina. Virulentnost proteina VacA razlikuje se u pojedinim sojevima bakterija, a ovisi o građi signalne (s) regije (s1 i s2), srednje (m) regije (m1 i m2) i intermediate (i) regije (i1 i i2) (nalazi se između regija s i m). Sojevi s1m1 znatno su virulentniji od sojeva s1m2; sojevi s2m2 nisu virulentni. Sojevi i1 znatno su virulentniji od sojeva i2.

S obzirom na to da postoji cijeli niz različitih sojeva *H. pylori*, za ishod infekcije važno je kojim je sojem osoba inficirana. Sumarno, za klinički ishod zaraze uzrokovane bakterijom *H. pylori* ključni su proteini CagA, VacA i PAI tipa 4 sekretorni sustav.

Patofiziologija

Prva posljedica infekcije bakterijom *H. pylori* jest pojava gastritisa koji bi mogao biti izravna posljedica stva-

ranja amonijaka, ili djelovanja patogenih/virulentnih proteina CagA i VacA. Međutim, glavni uzročni čimbenik razvoja tumora jest poticanje lokalne imunodne reakcije. Naime, *H. pylori* potiče izlučivanje citokina, a bakterijski proteini, posebno protein HcpA (hp0211), pokreću imunodnu reakciju poticanjem diferencijacije mijeloidnih Thp1-monocita u makrofage. Osim toga, Toll-like receptori 2 i 4 prepoznaju lipopolisaharidne (LPS) bakterije i pokreću prirodenu imunodnu reakciju na infekciju.

Liječenje

Nekoliko je problema zbog kojih još uvijek ne postoji odgovarajući način eradikacije *H. pylori*. Prvi je kiseli pH želuca koji onemogućuje odgovarajuće djelovanje antibiotika koji se primjenjuju u liječenju. Na primjer, antibiotik klaritromicin ima, u želuca, vrijeme poluraspada 1 sat. Nadalje, antibiotik mora prodrijeti kroz mukoza želuca da bi dospio do epitelnih stanica stijenke želuca, za koje su pričvršćene bakterije, zbog čega je često potrebno primjenjivati visoke doze antibiotika. Potom, ovisno o razini pH u želuca, *H. pylori* može poprimiti dva vijabilna oblika: replicirajući (jedino je tada podložna djelovanju antibiotika) i nereplicirajući (razina pH između 4 i 6). A antibiotici djeluju samo kod višeg pH. I konačno, velik broj različitih sojeva *H. pylori* podložan je mutacijama zbog kojih bakterije razvijaju rezi-

stenciju na, u liječenju primjenjivane, antibiotike – klaritromicin, amoksicilin i druge.

Od samog početka istraživanja mogućih načina liječenja bilo je jasno da će se morati primjenjivati kombinirano liječenje. Prvi primijenjeni protokol liječenja bila je kombinacija bizmuta (antiseptičke supstancije koja sprječava adheziju bakterije na epitelne stanice, inhibira ureazu, fosfolipaze i proteolitičku aktivnost bakterije i djeluje sinergistički s antibioticima) i dvaju antibiotika: tetraciklina (TET) i metronidazola (MET). Nakon toga su u liječenje uvedeni i inhibitori protonске crpke (omeprazol, OME i lanzoprazol, LAN). Tijekom takva liječenja lijekove treba uzimati 3–4 puta na dan, pa ono nije opće prihvaćeno. Kasnije je zamijenjeno, danas najprimjenjivijima, primarnim trostrukim protokolom liječenja (engl. *First Line Triple Therapy*) koji se sastoji od primjene inhibitora protonске crpke (PPI, engl. *Proton Pump Inhibitors*) (djeluju na povišenje pH u želucu čime se omogućuje djelovanje antibiotika) i dvaju antibiotika, najčešće klaritromicina (CLA) i amoksicilina (AMO) (ili MET). Međutim, posljednjih je godina porasla učestalost rezistencije *H. pylori* na te antibiotike, tako da je uspješnost liječenja manja od 80%. Poseban su problem tijekom liječenja i bolesnici sa simptomima infekcije koji neuredno uzimaju lijekove. Naime, čim inhibitori protonске crpke ublaže simptome infekcije bolesnici prestaju uzimati lijekove. Kao alternativa tome liječenju predloženo je uzastopno (engl. *sequential*) liječenje. Međutim, osim što je nepotrebno komplicirano, izgleda da nema učinak veći od ostalih predloženih načina liječenja, kao što je npr. istodobni

četverostruki protokol liječenja bez primjene bizmuta. Zato se i nadalje intenzivno istražuju modifikacije kombinacija lijekova i/ili slijeda i vremena davanja lijekova. Evo prikaza rezultata nekoliko kliničkih studija objavljenih 2011. godine.

U području Latinske Amerike primarno je trostruko klasično liječenje (LAN, AMO, CLA) primijenjeno tijekom 14 dana znatno učinkovitije od četverostruke istodobne primjene LAN-a, AMO-a, CLA-a i MET-a tijekom 5 dana, ili uzastopnoga liječenja: 5 dana LAN i AMO i potom opet 5 dana LAN, CLA i MET.

U Italiji je npr. pokazano da trostruko primarno uzastopno liječenje, nakon čega slijedi sekundarno (engl. *Second Line Treatment*) trostruko liječenje koje sadržava levofloksacin, daje veoma dobre rezultate izlječenja: 93% nakon primarnoga liječenja i 75% nakon sekundarnoga liječenja. Kumulativni učinak izlječenja iznosio je 98%.

Nadalje, u velikoj studiji načinjenoj u 39 europskih gradova, primarno četverostruko (bizmut, MET, TET, OME) liječenje pokazalo je znatno bolje rezultate od klasičnoga trostrukog liječenja: 80% nasuprot 55% izlječenja. Štoviše, u studiji je primjenjivana tzv. *tri-u-jedan* kapsula lijeka, što je osiguralo veću suradnju bolesnika u liječenju.

Očito je, dakle, da izvjesni protokoli liječenja imaju uspjeh, ali on može ovisiti i o etničkoj pripadnosti (tj. geografskom položaju zemlje u kojoj je obavljano ispitivanje).

Prošle je godine opisan i nalaz da klasično trostruko liječenje (LAN, CLA, AMO) ima znatno bolji uspjeh u osoba koje dulje vrijeme uzimaju aspirin (83% izlječenja nasuprot 53% u osoba koje ne uzimaju aspi-

rin). Ovaj je nalaz vrijedan i zato što aspirin, sam za sebe, smanjuje rizik za razvoj karcinoma debelog i završnog crijeva.

U nekoliko je pretkliničkih, a potom i kliničkih pokusa, pokazan povoljan, aditivni, učinak probiotika na eradikaciju *H. pylori*. Interesantno je, međutim, naglasiti da su probiotici (kefir, fermentirano mlijeko) bili učinkoviti samo u slučajevima gdje je eradikacija bakterije klasičnim trostrukim liječenjem bila niska: povisili su eradikaciju s 55 na 78%.

I još jedna zanimljivost. Tijekom 2012. godine u kliničkim je pokusima pokazano da maslinovo ulje ima baktericidni učinak na *H. pylori*, vjerojatno zbog sadržaja nekih fenola s dialdehidnom strukturom.

Međutim, unatoč poboljšanju protokola liječenja, dva su problema još uvijek neriješena: reinfekcija i razvoj rezistencije bakterije na antibiotik. Rješenje tih problema mogla bi biti vakcinacija: profilaktička i/ili terapijska. Međutim, unatoč brojnim pretkliničkim studijama u kojima je vakcinacija pokazala odlične rezultate izlječenja, kliničke su studije malobrojne i nezadovoljavajućeg ishoda. Najuspješnijom se pokazala vakcina koja je sadržavala rekombinantni CagA-VacA-NAP protein. Pokazana je dobra imunogeničnost i zadovoljavajući profil sigurnosti za bolesnike u fazi I kliničkoga testiranja. Nažalost, nisu objavljeni nikakvi daljnji podatci toga kliničkog pokusa.

Za sada, dakle, ne postoji učinkovita i sigurna vakcina protiv *H. pylori*, kao niti bilo koji drugi protokol liječenja, što znači da rješenje toga problema neće biti jednostavno i lagano. Ipak, vjeruje se da će daljnja istraživanja otkriti momente koji će se moći iskoristiti za razvoj novih oblika liječenja i/ili zaštitne imunosti.