

## О роли соединений никеля в патогенезе инфицирования

### *Helicobacter pylori*.

\*Иванов А.В., \*\*Милейко В.Е.

\*ООО «Доктор Иванов», г. Санкт-Петербург, \*\*ООО «Синтана СМ», г.  
Санкт-Петербург

Актуальность проблемы. *Helicobacter pylori* (HP) является хронической инфекцией, сопровождающейся как местными изменениями (в зоне обитания микроба), так и рядом системных проявлений [1,2,3,4]. Известно, что указанный патоген является онкогеном 1-го класса. Мутагенные и канцерогенные свойства находятся в тесной взаимосвязи большого числа факторов патогенетического влияния. В отношении HP известно и то, что его необычайно высокая уреазопродуцирующая способность приводит к накоплению значительных количеств этого высокоактивного и весьма токсичного для человека фермента (уреазы) в слизистой оболочке заселенных этим инфектантом органов [5]. В то же время, фермент (продуцируемая HP уреазы) является никельсодержащим [6] металлоорганическим соединением. Разрушение высокомолекулярного фермента уреазы в конечном итоге приводит к высвобождению ионов никеля, главным образом образующихся при взаимодействии низкомолекулярных металлоорганических соединений с соляной кислотой желудочного сока. У человека, страдающего хроническим хеликобактериозом, этот процесс может приводить к постоянному повышенному поступлению соединений никеля в организм. При этом транспорт соединений никеля происходит, как непосредственно через стенку желудка, так и при дальнейшем всасывании этих веществ верхних отделах кишечника. Доступность никеля, поступающего с пищей весьма высока (составляет 1-10% [7]), а всасывание указанных выше соединений никеля происходит достаточно полно. Это может приводить к избыточному накоплению указанного химического элемента в организме. Канцерогенные и мутагенные свойства соединений никеля давно и хорошо изучены [7,8,9].

Исходя из этого, мы предположили, что Ni может быть одним из факторов патогенеза, как местных, так и системных проявлений инфицирования НР.

Нами была обследована группа детей в возрасте 6 -14 лет, страдающие хроническим гастродуоденитом, находившиеся на момент обследования в состоянии субремиссии. Все дети были отобраны по признаку отсутствия у них в течение ближайших 2-х месяцев рентгенологических исследований и острых инфекционных процессов, а так же любой хронической патологии, кроме хронического гастродуоденита, поскольку указанные факторы, способны влиять на частоту выявления мутаций в соматических клетках. Кроме того, все дети, включенные в исследование, проживали в одной местности, не связанной с производством и промышленным использованием соединений никеля, они не имели имплантантов, ортодонтических приспособлений или металлических пломб, которые могли бы быть источником поступления указанного минерала в организм. Диагноз «хронический гастродуоденит» был установлен на основании эзофагогастродуоденоскопии, клинических проявлений болезни, гистологического исследования биоптатов слизистой оболочки антрального отдела желудка и двенадцатиперстной кишки. Всем детям проводили анализы по выявлению специфических анти-НР IgG в сыворотке кров (Cobas Core Roch), исследования биоптатов антрального отдела желудка с уреазным тестом, гистологическое выявление с окраской по Романовскому-Гимза [5], анализ уреазной активности *in vivo* по «дыхательной» методике ХЕЛИК-тест [10] с использованием индикаторных трубок ИТ-NH<sub>3</sub> производства ООО «Синтана СМ». Инфицирование устанавливалось при положительных результатах не менее трех тестов, неинфицированными считались пациенты с отрицательными результатами всех тестов. Дети, у которых положительными были один или два теста в исследование не включались. Определение концентрации никеля в волосах производилось методом локальной лазерной спектрофотометрии с предварительным озолением при 500<sup>0</sup> С в течение 5 часов. Исследование цитогенетических нарушений проводили в клетках буккального эпителия с помощью микроядерного теста [11,12]. Иммуный

статус больных устанавливался определением уровня IgA, IgM, IgG в сыворотке крови, определением Te-РОК, Th, Ts.

Полученные результаты. Инфицирование НР было выявлено у 72 % обследуемых, 28 % пациентов были неинфицированы НР (НР+: 24% мальчиков и 48 % девочек, НР-: 15 % мальчиков и 15 % девочек,  $p > 0,05$ ). Концентрация никеля в волосах инфицированных НР детей составила  $1,49 \pm 0,18$  ppm, в то время как у неинфицированных больных она была  $0,43 \pm 0,15$  ppm ( $p < 0,05$ ). Доля эпителиоцитов с микроядрами у детей, инфицированных НР оказалось 2,2 %, в то время как у не имеющих указанную инфекцию - 0,95 %, ( $p < 0,05$ ), при этом микроядра у НР позитивных детей в большинстве случаев были представлены “хвостатыми” формами [13]. Иммунологическое исследование, проведенное для исключения возможного влияния факторов специфической резистентности на результаты микроядерного теста не выявило достоверных различий у сравниваемых пациентов.

Таблица

Иммунологические показатели крови у детей с хроническим гастродуоденитом

| Показатель       | Пациенты         |                 | Достоверность различий (p) |
|------------------|------------------|-----------------|----------------------------|
|                  | НР+<br>n=21, M±m | НР-<br>n=8, M±m |                            |
| Концентрация IgG | 11,0 ± 4,3 г/л   | 13,4 ± 2,9 г/л  | >0,05                      |
| Концентрация IgM | 1,4 ± 0,52 г/л   | 1,4 ± 0,7 г/л   | >0,05                      |
| Концентрация IgA | 1,4 ± 0,7 г/л    | 1,5 ± 0,5 г/л   | >0,05                      |
| Te-РОК           | 67,6 ± 14,3 %    | 69,0 ± 12,5 %   | >0,05                      |
| Th               | 51,5 ± 12,5 %    | 53,2 ± 13,6 %   | >0,05                      |
| Ts               | 16,2 ± 7,4 %     | 15,5 ± 8,8 %    | >0,05                      |

Таким образом, генетические нарушения были обнаружены у инфицированных НР детей достоверно чаще по сравнению с

неинфицированными. Это позволило нам предположить, что именно инфицирование НР явилось у обследованных детей причиной увеличения уровня цитогенетических изменений в соматических клетках. При этом не были выявлены иные факторы, кроме инфицирования НР, способные вызывать указанные нарушения. Инфицированные и неинфицированные НР пациенты были сопоставимы по иммунным показателям, возрасту и полу. Характер мутаций у НР+ пациентов имел качественные отличия от выявленных у их НР- сверстников, в большинстве случаев они имели более выраженный характер, сопровождались изменениями, характерными для формирования дицентрических хромосом ( “хвостатые” микроядра) [13], что подчеркивает их патогенетическое значение.

Большая концентрация Ni в волосах детей, инфицированных НР даёт нам основание предполагать, что инфицирование НР ассоциируется с накоплением в организме этого вещества. Причиной накопления никеля в организме этих обследуемых, по нашему мнению, может быть повышение биологической доступности соединений никеля в ходе высвобождения ионов никеля из координационно связанной формы, каковой и является структура микробной уреазы. Причём, при взаимодействии с соляной кислотой желудочного сока это происходит с образованием легко растворимого и легко транспортируемого  $Ni^{2+}$ . Кроме того, учитывая высокую концентрацию уреазы в слизистой оболочке желудка, можно предположить, что поступление освобождающегося при ее деградации никеля непосредственно через стенку желудка так же имеет место. К тому же в этом процессе могут принимать участие Ni-транспортные белки микроба, а образующийся в присутствии микробной уреазы в процессе ферментативного гидролиза карбамида (мочевины) аммиак должен приводить к возникновению аммиачных комплексов никеля и, следовательно, повышать его растворимость и биологическую доступность.

Учитывая ярко выраженные мутагенные свойства соединений никеля, можно предположить, что этот тяжелый металл является агентом, приводящим к возникновению у инфицированных НР детей

цитогенетических нарушений в соматических клетках. Подобный эффект не может быть безразличен для инфицированного НР организма, с ним могут быть связаны как местные так и системные проявления инфицирования этим микробом.

На основании проведенных исследований можно заключить следующее:

Во-первых. Инфицирование НР сопровождается накоплением в организме детей соединений никель.

Во-вторых. У детей, страдающих хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с НР, наблюдается увеличение числа цитогенетических нарушений в соматических клетках.

И самое главное. Ni может быть причинным фактором повышения мутационного процесса в организме детей, инфицированных *Helicobacter pylori* и одним из важных факторов патогенеза инфицирования этим микробом.

#### Список литературы:

1. Prevalence of *Helicobacter pylori* in acromegalic patients during treatment with octreotide. Jones-SL; Patchett-S; Anderson-JV; Farthing-MJ; Besser-GM; Wass-JA. Clin-Endocrinol-Oxf. 1995 Dec; 43(6): 683-7
2. Acne rosacea and *Helicobacter pylori* betrothed [letter]. Wolf-R. Int-J-Dermatol. 1996 Apr; 35(4): 302-3.
3. Gastric infection by *Helicobacter pylori* and antral gastritis in hyperglycemic obese and in diabetic subjects. Perdichizzi-G; Bottari-M; Pallio-S; Fera-MT; Carbone-M; Barresi-G. New-Microbiol. 1996 Apr; 19(2): 149-54
4. Could *Helicobacter pylori* infection increase the risk of coronary heart disease by modifying serum lipid concentrations? никельемела-S; Karttunen-T; Korhonen-T; Laara-E; Karttunen-R; Ikaheimo-M; Кесаникельеми-YA. Heart. 1996 Jun; 75(6): 573-5
5. Chronic gastritis. Aruin L.I. et al. 1993. 151-302.
6. Expression of catalytically active recombinant *Helicobacter pylori* urease at wild-type levels in *Escherichia coli*. Hu-LT; Mobley-HL. Infect-Immun. 1993 Jun; 61(6): 2563-9

7. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Стролчков Л.С.  
Микроэлементозы человека. М. 1991. стр.59-323
8. TI: Interactions of nickel(II) with histones. Stability and solution structure of complexes with CH<sub>3</sub>CO-Cys-Ala-Ile-His-NH<sub>2</sub>, a putative metal binding sequence of histone H3. Bal-W; Lukszo-J; Jezowska-Bojczuk-M; Kasprzak-KS. Chem-Res-Toxicol. 1995 Jul-Aug; 8(5): 683-92
9. Mutagenicity of various chemicals including nickel and cobalt compounds in cultured mouse FM3A cells. Morita-H; Umeda-M; Ogawa-HI. Mutat-Res. 1991 Oct; 261(2): 131-7
10. Simple urea breath test offers diagnosis of Helicobacter pylori infection. Korniko E. et. al. International Congress on Analytical Chemistry. Abstracts, V.2, Moscow, Russia, June 15-21, 1997, p37.
11. The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anticlastogenic action in humans. Rosin M. Mutat. Res., 1992, 287,N2,157-169.
12. Genotoxic Effect of Formaldehyde in Somatic Human Cells in vivo. Kitaeva L.V. Russian Journal of Genetics, Vol.32,N.9, 1996, pp.1119-1122.
13. Хромосомные мосты и “хвостатые” ядра в популяциях злокачественных клеток. Прошин С.Н. и авт. Генетика, 1998, т.34, N1, 61-64.

Выражаем искреннюю признательность и бесконечную благодарность Китаевой Л.В. и Шишлову В.А. за существенную помощь и предоставленные материалы по микроядерному тесту и лазерной спектроскопии, без которых данное исследование и вовсе не состоялось.