

Algengi *Helicobacter pylori* sýkingar og Cag-A stofna hjá sjúklingum með skeifugarnarsár á Íslandi

Ágrip

Ari Konráðsson¹
LÆKNIR

Leif Percival
Andersen²
SÉRFRÆÐINGUR
Í SMITSJÚKDÓMUM

Einar Oddsson³
SÉRFRÆÐINGUR
Í LYFLÆKNINGUM
OG MELTINGARSJÚKDÓMUM

Hallgrímur
Guðjónsson³
SÉRFRÆÐINGUR
Í LYFLÆKNINGUM
OG MELTINGARSJÚKDÓMUM

Bjarni Þjóðleifsson³
SÉRFRÆÐINGUR
Í LYFLÆKNINGUM
OG MELTINGARSJÚKDÓMUM

Tilgangur: Algengi *H. pylori* sýkingar og tengdra magasjúkdóma breytist hratt í vestrænum löndum. *H. pylori* sýking hefur verið tengd við magabólgu, sár í skeifugörm og maga og magakrabbamein. Þessi tengsl eru sérlega sterk fyrir þá stofna af *H. pylori* sem eru Cag-A jákvæðir. *H. pylori* er að hverfa af náttúrulegum ástæðum meðal vestrænna þjóða, sérstaklega Cag-A jákvæðir stofnir sem er útrýmt umfram aðra stofna vegna tengsla þeirra við sársjúkdóm. Markmið rannsóknarinnar var að kanna algengi *H. pylori* sýkingar og Cag-A stofna hjá sjúklingum með skeifugarnarsár áður en upprætning á *H. pylori* var almennt útfærð á Íslandi.

Efniviður og aðferðir: Mót efni fyrir *H. pylori* og Cag-A voru skoðaðir með Western blot aðferð í serum sýnum frá 62 sjúklingum með skeifugarnarsár. Sýnunum var safnað á tímabilinu 1993-96 og ættu að sýna algengi Cag-A áður en virkri upprætningu á *H. pylori* var beitt að fullu. Enginn sjúklinganna hafði fengið upprætningarmæðferð gegn *H. pylori* áður en sýnin voru tekin.

Niðurstöður: Af 62 sýnum voru 54 (87,1%) jákvæð fyrir *H. pylori* sértækum mót efnavökum og af þessum jákvæðu sýnum voru 53 (98,1%) jákvæð fyrir Cag-A.

Ályktanir: *H. pylori* stofnar sem tengjast skeifugarnarsárum á Íslandi eru yfirgnæfandi (98,1%) Cag-A jákvæðir.

Inngangur

Sýking með *H. pylori* er algengasta bakteríusýking sem leggst á manninn (1). Í vanþróuðum löndum er tíðni sýkinga um 90% en í þróuðum löndum er hún um 40-60% og fer hratt fallandi í yngri aldurshópum.

Rannsókn sem gerð var árið 1990 á algengi mót efna gegn *H. pylori* á Íslandi sýndi að hjá aldursflokknum 70 ára og eldri var algengi um 80% og hjá aldursflokknum 10 ára og yngri var algengi *H. pylori* minna en 10% (2). Tíðni *H. pylori* hefur verið könnuð á Íslandi með CLO prófi hjá 80 börnum sem komu í magaspeglun 1997-2002 vegna meltingarþæginda og reyndist hún um 0,1% (upplýsingar frá Lúter Sigurðssyni). Nýgengi sýkinga hjá fullorðnum meðal þróaðra þjóða er mjög lágt, eða um 0,5% einstaklinga á ári (3). Flest bendir því til að algengi *H. pylori* muni halda áfram að falla um 10% eða meira á hverjum

ENGLISH SUMMARY

Konráðsson A, Andersen LP, Oddsson E, Guðjónsson H, Þjóðleifsson B

Prevalence of *Helicobacter pylori* and Cag-A strains in patients with duodenal ulcer in Iceland

Læknablaðið 2003; 89: 595-7

Objective: The prevalence of *Helicobacter pylori* infection and related gastric diseases is rapidly changing in western societies. *H. pylori* has been associated with gastritis, gastric and duodenal ulcer and gastric cancer. This association applies in particular to *H. pylori* strains which are Cag-A positive. *H. pylori* is naturally disappearing from western populations in particular Cag-A positive strains which are selectively eradicated due to their association with peptic ulcer. The aim of the study was to assess the prevalence of *H. pylori* in duodenal ulcer disease and its Cag-A status before the eradication of *H. pylori* was routinely applied.

Material and methods: Antibodies for *H. pylori* and Cag-A were investigated by Western blot method in serum samples from 62 patients with duodenal ulcer. The samples were collected during the period 1993-1996 and should represent the Cag-A prevalence before it was changed by active eradication. No subject had received *H. pylori* eradication before the study.

Results: Of the 62 samples 54 (87.1%) were positive for *H. pylori* specific antigen and of the 54 positive samples 53 (98.1%) were positive for Cag-A.

Conclusion: *H. pylori* strains associated with duodenal ulcer in Iceland were predominantly (98.1%) Cag-A positive.

Key words: Cag-A, *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric cancer.

Correspondence: Bjarni Þjóðleifsson, bjarnit@landspitali.is

áratug 21. aldarinnar af náttúrulegum ástæðum einum saman. Til viðbótar fer fram virk upprætning á *H. pylori* hjá sjúklingum þar sem talið er að hann sé meinvaldur að sársjúkdómum eða skapi hættu á krabbameini í maga eins og hjá aðstandendum sjúklinga með magakrabbamein. Það má því búast við að *H. pylori* hverfi jafnvel á næstu 10-20 árum sem meinvaldur ekki síst vegna þess að upprætning beinist mest að Cag-A jákvæðum stofnum (4). Minnkandi algengis *H. pylori* er nú þegar farið að gæta í faraldsfræði þeirra sjúk-

¹Læknadeild Háskóla Íslands, ²Dept. of Clinical Microbiology, Rigshospitalet University Hospital, Copenhagen, Denmark, ³Rannsóknarstofu í meltingarsjúkdómum, lyflækningsdeild Landspítala.

Fyrirspurnir og bréfaskriftir: Bjarni Þjóðleifsson, meltingarsjúkdómadeild Landspítala Hringbraut, 101 Reykjavík. Sími 543 1000. bjarnit@landspitali.is

Lykilord: skeifugarnarsár, magasár.

dóma sem sýkillinn tengist eins og sárasjúkdómum og magakrabbameini en flest bendir til að þessir sjúkdómur hverfi að mestu á næstu 10-20 árum (5).

Þekkingu á samspili *H. pylori* og magasjúkdóma hefur fleygt mjög fram á síðustu árum en samt er ennþá margt á huldu um þetta samband. Það er ekki að fullu ljóst hvers vegna aðeins 10-15% þeirra sem sýkjast fá sár. Sú kenning hefur verið sett fram að *H. pylori* hafi verið meinlaus hluti af örveruflóru magans eins og hún var lengst af á þróunarskeiði mannsins. Það er einungis á 20. öld sem *H. pylori* kemur fram sem meinvaldur þegar örveruflóran breytist eða hverfur í þróuðum löndum vegna aukins hreinlætis og *H. pylori* situr einn eftir í magaslímhúð (6). Faraldsfræði sárasjúkdóma í maga á Íslandi kemur mjög vel heim við þessa kenningu (7). *H. pylori* er einnig megin orsakavaldur magakrabbameins sem er næst algengasta krabbameinið á heimsvísu í dag (eftir lungnakrabbameini) og kemur heim við útbreiðslu *H. pylori* (8). Nýgengi magakrabbameins hefur minnkad í þróuðum löndum í takt við að *H. pylori* er sjaldséðari. Þrátt fyrir þessa sterku faraldsfræðilegu fylgni er margt óljóst varðandi það hvernig *H. pylori* veldur magakrabbameini en einungis örlítill hluti þeirra sem sýkjast fá krabbamein. Tveir þættir eru taldir spila þar saman. Meinvirkni *H. pylori* og erfðarþættir mannsins. Meinvirkni *H. pylori* ræðst mest af Cag-A sem er 120 kD mótefnavaki tjáður á yfirborði bakteríunnar og finnst hjá um 50% *H. pylori* stofna (8). Tíðni Cag-A hjá þeim stofnum sem tengjast skeifugarnarsári eða magakrabbameini er um 80-90% (9).

Engar rannsóknir eru til um tíðni Cag-A í íslenskum *H. pylori* stofnum en þekking á því er nauðsynleg til að skilja breytta faraldsfræði magasjúkdóma. Sterkar vísbendingar eru um að sýking með Cag-A jákvæðum *H. pylori* stofnum sé verndandi fyrir vélindabakflæði en tíðni þess hefur aukist mjög á sama tíma og *H. pylori* og sérstaklega Cag-A jákvæðir stofnar eru að hverfa (10). Besta aðferðin til að fá rétta mynd af tíðni Cag-A væri að rannsaka *H. pylori* stofna fyrir þann tíma sem uppræting var almennt útfærð, eða fyrir 1993. Ekkert safn er til af *H. pylori* stofnum en hins vegar eru til mælingar á serum sýnum frá sjúklingum með skeifugarnarsár sem tekin voru á árunum 1993-96.

Markmið: Að kanna algengi mótefna gegn *H. pylori* frá íslenskum sjúklingum með skeifugarnarsár og algengi Cag-A mótefna hjá sömu sjúklingum.

Efniviður og aðferðir

Skoðuð voru gögn frá 62 sjúklingum með skeifugarnarsár sem voru speglaðir og greindir á Landspítala á árunum 1993-1996. Serum sýni voru tekin í þeim tilgangi að greina mótefni fyrir *H. pylori* og fylgjast með upprætingu. Í hópnum voru 33 karlar og 29 kon-

ur á aldrinum 24-81 árs, miðgildi 50 ár. Enginn sjúklinganna hafði fengið upprætingar meðferð gegn *H. pylori* áður en sýnin voru tekin. Rannsóknin var ekki framskyggn og upplýsingar um lyfjanotkun voru því ekki skipulega skráðar. Notkun á aspiríni var skráð hjá tveim sjúklingum og notkun gigtarlyfja hjá tveim.

Notaðar voru tvær aðferðir við greiningu mótefni til að fá öruggari niðurstöður og til að fá betri samanburð við aðrar rannsóknir. Ennfremur til að meta notagildi aðferðanna. Western blot var notað til að greina *H. pylori* mótefni og tíðni Cag-A mótefna var sérstaklega skoðuð. IgG, IgA og IgM immunoglobulín voru mæld með óbeinni ELISA aðferð.

Þegar Western blot tækni er notuð með heilfrumublöndu hefur fengist 96% næmi og 94% sér-tæki (11) þar sem hvert mótefni gefur sérstakt band og greiningin byggist á mótefnum sem vitað er að bindast ekki öðrum sýklum (12, 13). Mörg mismunandi bönd koma fram en þau bönd sem eru talin sér-tæk fyrir *H. pylori* eru bönd sem eru 19- 36 kD á þyngd og 120 kD band (Cag-A mótefnavaki). Til að sýni teljist jákvætt fyrir *H. pylori* verður það að vera jákvætt fyrir öðru þessara.

Fjórar tegundir mótefnavaka eru notaðar til sermismælingar með ELISA aðferð. Þær eru búnar til úr heilum sýklum eða grófum (sonicate), hálfgrófum eða hreinum mótefnavökum. Margir *H. pylori* mótefnavakar eru breytilegir milli stofna þannig að not á hreinum mótefnavökum gefur oft lítið næmi. Grófir mótefnavakar hafa marga mótefnavaka sem sumir bindast öðrum Gram-neikvæðum sýklum og gefa þannig falsk-jákvæð svör og lítið sértæki (14). Þess vegna er nauðsynlegt að nota blöndur af *H. pylori* mótefnavökum þegar mælingar eru gerðar með ELISA (14, 15). Í þessari rannsókn var notast við blöndu hitastöðugra mótefnavaka og lágmólekúlur blöndur (framleitt á Rigshospitalet og staðlað á dönskum sjúklingum) (16, 17).

Niðurstöður

Við mótefnagreiningu með Western blot reyndust 54 af 62 (87,1%) sjúklingum vera jákvæðir fyrir *H. pylori* sértækum mótefnavökum og af þessum 54 voru 53 (98,1%) jákvæð fyrir Cag-A. Einn sjúklingur sem var *H. pylori* neikvæður tók gigtarlyf (naproxen).

Af sjúklingunum 62 höfðu 46 (74,2%) jákvæð svör gagnvart mótefnavökum 19-36 kDs. Til að mæla IgG mótefni var stuðst við þrjú mismunandi próf: HS (heat stable) mótefnavaki gaf 67,7% jákvætt svar, LMW (low-molecular weight) mótefnavaki gaf 25,8% og heilfrumu-mótefnavaki 84,1%.

Umræða

Mótefnamælingar til greiningar á *H. pylori* hafa töluvert notagildi, en Western blot er bæði næmara og

sértækara en ELISA. Aftur á móti er Western blot tímafrekt og hentar því síður til fjöldanotkunar. Með Western blot aðferð fengust jákvæð svör fyrir *H. pylori* hjá 54 af 62 (87,1 %) sjúklingum. Af þessum 54 voru allir nema einn jákvæðir fyrir Cag-A (98,1%).

Niðurstöður mótefnamælinga með ELISA aðferð gáfu ekki eins háa tíðni *H. pylori* jákvæðra enda ekki með jafn gott næmi og Western blot aðferðin. Það fundust þó nokkur jaðarsvör gegn LMW mótefnavökum mælt með ELISA sem sennilega skýrist af því að prófið var staðlað á framandi hóp sjúklinga og hugsanlega var valinn of hár viðmiðunarpunktur. Algengi mótefna gegn *H. pylori* samkvæmt Western blot reyndist vera 87,1% og er sú niðurstaða í samræmi við aðrar rannsóknir en einungis 80-90% sjúklinga með skeifugarnarsár á því tímabili sem hér er rannsakað höfðu *H. pylori* en 10-20% höfðu sár af völdum gigtarlyfja eða af óþekktum orsökum (18).

Algengi Cag-A í íslenskum stofnum *H. pylori* hjá sjúklingum með skeifugarnarsár (98,1%) mælist hærri í okkar rannsókn en í nágrannalöndum en þar er algengi á bilinu 80-90% (9). Ekki er ljóst af hverju algengið er hærra hér á landi en það vantar sérstaklega upplýsingar um algengi Cag-A hjá óvöldum stofnum. Algengi á Cag-A hjá óvöldum stofnum í nágrannalöndum er um 50% (1, 9). Ætla má að tíðni Cag-A hjá óvöldum stofnum hér sé ekki minni en 50%. Þessar niðurstöður hafa þýðingu fyrir túlkun á rannsókn á erfðum magakrabbameins á Íslandi. Erfðabættir sem tengjast magakrabbameini eru meðal annars erfðabreytileiki í stýrisvæði interleukin 1 beta (IL-1B) geninu en eitt form af tjáningu gensins veldur aukinni framleiðslu á bólguörvandi cytokini (IL-1B) og þannig auknu bólgusvari við *H. pylori* sýkingu (19). Íslensk rannsókn á erfðabreytileika IL-1B geninu hjá sjúklingum með magakrabbamein sýndi ekki tengsl við það form sem veldur auknu bólgusvari (20). Þessi niðurstaða vekur spurningar um tíðni Cag-A í óvöldum íslenskum *H. pylori* stofnum. Erfðabreytileikinn er eingöngu tjáður við *H. pylori* sýkingu og sérstaklega ef sýkingin er með Cag-A jákvæðum stofnum. Niðurstaða okkar rannsóknar bendir ekki til að Cag-A sé fátítt í íslenskum *H. pylori* stofnum.

Það er því ólíklegt að tengsl erfðabreytileikans í IL-1B geninu við magakrabbamein finnist ekki hjá Íslendingum vegna þess að Cag-A sé fátítt í íslenskum *H. pylori* stofnum. Sýnt hefur verið fram á aukna áhættu á magakrabbameini hjá aðstandendum íslenskra sjúklinga með magakrabbamein sem bendir til að erfðabáttur sé til staðar (21). Það þarf því að leita að öðrum erfðabáttum en IL-1B hjá Íslendingum. Nauðsynlegt er að gera nýjar rannsóknir á algengi Cag-A eins og það er núna til að skilja betur þær hröðu breytingar sem eru að gerast í faraldsfræði sjúkdóma í vélinda og maga.

Heimildir

1. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 Suppl 1: 3-15.
2. Bergenzaun P, Kristinsson KG, Þjóðleifsson B, Sigvaldadóttir E, Molstad S, Held M, et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in south Sweden and Iceland. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 1157-61.
3. Parsonnet J, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Hargrett-Bean N, Tauxe RV. Symptoms and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of epidemiologists. *Gastroenterology* 1992;102: 41-6.
4. Perez-Perez GI, Salomaa A, Kosunen TU, Daverman B, Rautelin H, Aromaa A, et al. Evidence that cagA(+) *Helicobacter pylori* strains are disappearing more rapidly than cagA(-) strains. *Gut* 2002; 50: 295-8.
5. Blaser MJ. Hypothesis: the changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: implications for health and disease. *J Infect Dis* 1999; 179:1523-30.
6. Blaser MJ. Helicobacters are indigenous to the human stomach: duodenal ulceration is due to changes in gastric microecology in the modern era. *Gut* 1998; 43: 721-7.
7. Thors H, Svanes C, Þjóðleifsson B. Trends in peptic ulcer morbidity and mortality in Iceland. *J Clin Epidemiol* 2002; 55: 681-6.
8. Wu K, Crusius JB, Pena AS. The immunogenetics and pathogenesis of gastric cancer. Highlights of the First Sino-European Workshop on the Immunogenetics and Pathogenesis of Gastric Cancer. *Drugs Today (Barc)* 2002; 38: 391-417.
9. Grimley CE, Holder RL, Loft DE, Morris A, Nwokolo CU. *Helicobacter pylori*-associated antibodies in patients with duodenal ulcer, gastric and oesophageal adenocarcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 503-9.
10. Peres-Peres GI, Legath AJ, Heine PR, Graff LB. The role of Cag-A status in gastric and extragastric complications of *Helicobacter pylori*. *J Physiol Pharmacol* 1999; 50: 833-45.
11. Cover TL, Lage AP, Burette A, Tummuru MKR, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1496-1500.
12. Andersen LP, Epersen F. Immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* in patients with dyspeptic symptoms investigated by the Western immunoblot technique. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1743-51.
13. Johansen HK, Andersen LP, Jensen P, Nielsen H, Hoiby N. Cross-reactive antigens shared *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori*, *campylobacter jejuni*, and *Haemophilus Influenzae* may cause false-positive titers to *H. pylori*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 149-55.
14. Talley NJ, Ormand JE, Carpenter HA, Wilson WR, Zinsmeister AR, et al. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1635-9.
15. Hirschl AM, Wyatt JJ, Berger J, Rotter ML. Comparison of ELISA antigen preparation alone or in combination for serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infections. *J Clin Pathol* 1990; 43: 511-3.
16. Andersen LP, Souckova A, Sedlackova M, Soucek A. Isolation and preliminary evaluation of a low-molecular-mass antigen preparation for improved detection of *Helicobacter pylori* immunoglobulin G antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 156-9.
17. Andersen LP, Elsborg L, Holck S, Justesen T, Hansen BF, et al. Prevalence of antibodies against heat-stable antigens from *Helicobacter pylori* in patients with dyspeptic symptoms and normal persons. *APMIS* 1992; 100: 779-89.
18. Ciociola AA, McSorley DJ, Turner K, Sykes D, Palmer JB. *Helicobacter pylori* infection rates in duodenal ulcer patients in the United States may be lower than previously estimated. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1834-40.
19. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; 404: 398-402.
20. Magnússon MK, Jónsdóttir Ó, Eldon JB, Nikulásson S, Imsland A, Thorlacius S, et al. Interleukin-1 breytileiki og tengsl við Magakrabbamein. *Læknablaðið* 2002; fylgirit 47/2002: E78.
21. Imsland AK, Arinbjarnarson S, Egilsson V, Tryggvadóttir L, Arngrímsson R, Magnússon J. Genetic Epidemiologic Aspects of Gastric Cancer in Iceland. *J Am Coll Surg* 2002; 195: 181-7.