

Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί

Ανδρέας Καραμέρης

Εισαγωγή

Εκτεταμένες έρευνες των τελευταίων ετών κατέδειξαν ότι το *Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού* (*Επ*) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αιτιοπαθογένεια και εξέλιξη νοσημάτων όπως οι χρόνιες γαστρίτιδες, τα έλκη, τα γαστρικά καρκινώματα και τα λεμφώματα του στομάχου. Ο πολλαπλός αυτός ρόλος του *Επ*, αποδίδεται αφ' ενός μεν στη γενετική του ετερογένεια (που οφείλεται εν πολλοίς στην ιδιαίτερη μεταλλακτική ικανότητα του γονιδιώματός του), αφ' ετέρου στη δυνατότητα έμμεσης συμμετοχής του σε οδούς που σχετίζονται με την έκκριση ερεθιστικών ουσιών, ή προάγουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Στη συνέχεια, θα αναφερθούμε στους μηχανισμούς εμπλοκής του *Επ* στην αιτιοπαθογένεια διαφόρων νοσημάτων, επικεντρούμενοι κυρίως στη γενετική των νοσημάτων αυτών.

Επ και γαστρίτιδες- Πειραματικά δεδομένα

Το *Επ*, είναι ο κατ' εξοχήν υπεύθυνος αιτιοπαθογόνος μικροοργανισμός της τύπου Β χρόνιας ενεργού γαστρίτιδας. Η λοίμωξη χαρακτηρίζεται από πολύμορφη φλεγμονώδη διήθηση τόσο του επιθηλίου όσο και του χορίου, με συμμετοχή ποικίλου αριθμού πολυμορφοκυττάρων λευκοκυττάρων. Ενεργο-

ποίηση του φλεγμονώδους πληθυσμού προκαλείται από τοπική παραγωγή αντισωμάτων και κυτταροκινών, σπουδαιότερο ρόλο μεταξύ των οποίων διαδραματίζουν οι Ιντερλευκίνες 6 και 8 και ο Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων α (TNF- α).

Σειρά πειραμάτων αποδεικνύουν ότι το *Επ* διεγείρει τη φλεγμονώδη αντίδραση αποδεσμεύοντας παράγοντες ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων και προκαλώντας τη μετανάστευσή τους. Πρόσφατες εξ άλλου ερευνητικές εργασίες κατέδειξαν ότι διάφορες γαστρικές επιθηλιακές γραμμές παράγουν κυτταροκίνη IL-8 ως ανταπόκριση στην έκκριση Ιντερφερόνης γ και TNF- α . Επειδή οι κυτταροκίνες αυτές αυξάνονται ως απάντηση σε διέγερση από λοίμωξη σε *Επ* τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*, φλεγμονή που έχει ως αίτιο τη λοίμωξη από *Επ*, διεγείρει το γαστρικό επιθήλιο στο να παράγει διαβιβάστες που λαμβάνουν ενεργό μέρος στη διαδικασία της φλεγμονής. Οι παρατηρήσεις αυτές ισχυροποιούνται από το γεγονός ότι το γαστρικό επιθήλιο εκκρίνει αυξημένα επίπεδα λακτοφερίνης, λυσοζύμης, πολυμερή υποδοχέα ανοσοσφαιρίνης και μορίων MHC II. Οι μέχρι σήμερα μελέτες με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου δείχνουν ότι τα *Επ* επικολλούνται αλλά δεν διηθούν το γαστρικό επιθήλιο καθώς και το υποκείμενο χόριο. Αν και ο αιτιοπαθογενετικός μηχανισμός δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος, υπάρχουν ενδείξεις ότι φλεγμονή μπορεί να δημιουργηθεί είτε από αυτό καθ' αυτό το μικρόβιο είτε από αλληλεπιδράσεις του με το επιθηλιακό στοιχείο. Προηγούμενες εργασίες δείχνουν ότι το *Επ* εκκρίνει ή υποβοηθά την έκκριση παραγόντων που προσελκύουν ή επάγουν ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα, τα κύρια φλεγμονώδη στοιχεία της χρόνιας ενεργού γαστρίτιδας. Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί αύξηση της έκκρισης IL-8 στο γαστρικό βλεννογόνο ασθενών μολυσμένων με *Επ*. Σε πειράματα που έγιναν στην Ερευνητική Μονάδα του 401 ΓΣΝΑ παρατηρήθηκε ότι η παραγωγή mRNA IL-8 από καλλιέργειες επιθηλιακών κυττάρων μολυσμένων με *Επ* είναι σημαντικά αυξημένη σε σχέση με φυσιολογικούς μάρτυρες, ενώ παράλληλα αυξάνεται και η έκφραση του ICAM-1, μορίου που θεωρείται ως βασικός παράγοντας προσκόλλησης (adhesion molecule) και συνάθροισης των λευκοκυττάρων.

Πολλοί τύποι κυττάρων θεωρούνται ικανοί να παράγουν IL-8, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού, ουρογεννητικού και γαστρεντερικού σωλήνα. Πρόσφατες εργασίες εξ άλλου επιβεβαιώνουν την παραγωγή IL-8 από επιθηλιακά κύτταρα μετά την επιμόλυνσή τους με διάφορα είδη μικροβίων. Παράλληλα πιθανολογείται ότι εκτός της IL-8 και άλλες κυτταροκίνες ενεργοποιούνται μετά από μόλυνση επιθηλιακών κυττάρων τόσο με *Επ* όσον και με άλλους μικροοργανισμούς. Η IL-8 όπως είναι γνωστό αποτελεί μέλος ομάδας προφλεγμονωδών μορίων που ανήκουν

στην οικογένεια των 'χυμοκινών', η έκκριση των οποίων συνδυάζεται με χημειοταξία των Τ λεμφοκυττάρων, ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και διέγερση των αντιστοίχων μορίων προσκόλλησης. Η φύση (προέλευση?) των επιθηλιακών κυττάρων τα οποία αλληλεπιδρούν με το *Επ* φαίνεται επίσης ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση της IL-8. Αρκετές εργασίες τεκμηριώνουν την παραγωγή IL-8 από επιθηλιακές κυτταρικές σειρές ουροδόχου κύστης μετά από επιμόλυνση με *E. coli* καθώς επίσης και την υπερέκκριση σημαντικών ποσοτήτων IL-8 mRNA από κύτταρα αναπνευστικού επιθηλίου μετά από επιμόλυνση με *Pseudomonas Aeruginosa*. Αν και για την παθογενετική δράση του *Επ* έχουν ενοχοποιηθεί μόρια όπως λιποσακχαρίτες, ένζυμα, και τοξίνες μεταξύ των οποίων και η *κενοτοπιώδης τοξίνη*, φαίνεται ότι για την έκκριση της IL-8 απαιτείται και κάποιο άλλο μόριο, αφού στελέχη μονιμοποιημένα με φορμόλη δεν ήσαν ικανά κατά τη διενέργεια των πειραμάτων μας να επιφέρουν αύξηση του mRNA.

Το μόριο ICAM-1 (CD54) θεωρείται απαραίτητο για τη συνάθροιση λευκοκυττάρων σε φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως για παράδειγμα η χρόνια ενεργός γαστρίτιδα. Το ICAM-1 εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα κύτταρα που παρουσιάζουν το αντιγόνο. Έχει αναφερθεί θετική ρύθμιση έκφρασης ICAM-1 μετά από διέγερση των κυττάρων με IFN-γ, TNF-α και IL-1. Αν και η επιμόλυνση επιθηλιακών γαστρικών κυτταρικών σειρών από *Ελικοβακτηρίδιο* προκαλεί μικρή μόνο αύξηση του ICAM-1, η παράλληλη αύξηση κυτταροκινών όπως ο TNF-α φαίνεται ότι επάγει την έκκριση του μορίου αυτού και συμβάλει στην καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων λόγω της προκαλούμενης συνάθροισης οξέων φλεγμονωδών στοιχείων.

***Επ* και γαστρικός καρκίνος**

Η χρόνια ατροφική γαστρίτιδα και η εντερική μεταπλασία είναι δύο καταστάσεις που έχουν εδώ και αρκετό καιρό ενοχοποιηθεί για τη συμμετοχή τους στην αιτιοπαθογένεια του γαστρικού καρκίνου. Επιδημιολογικές και ιστοπαθολογικές μελέτες εξ άλλου καταδεικνύουν τη στενή σχέση μεταξύ ατροφικής γαστρίτιδας/εντερικής μετάπλασης και εντερικού κυρίως τύπου αδενοκαρκινώματος του στομάχου καθώς και τη συσχέτιση λοίμωξης από *Επ* και εντερικής μεταπλασίας. Παράλληλα, μεγάλος όγκος μελετών αναφέρεται στα:

- Επαγωγή iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase - επαγομένη συνθάση του Νιτρικού Οξειδίου) από την παρουσία *Επ* σε ατροφικές γαστρίτιδες.
- Επαγωγή mRNA της κυκλοοξυγενάσης 2 και σύνθεση Προσταγλανδίνης E2 από τα επιθηλιακά κύτταρα επί παρουσίας *Επ*.
- Συσχετισμό ελευθέρων ριζών με παρουσία *Επ* και εντερικής μετάπλασης.

Τα ευρήματα των μελετών αυτών καταδεικνύουν με αρκετή βεβαιότητα το ρόλο του *Επ* στην επαγωγή/πρόκληση γαστρίτιδας με μηχανισμούς που βασίζονται στην έκκριση ερεθιστικών για τα επιθηλιακά κύτταρα ουσιών. Υπάρχουν όμως και άλλες μελέτες που αναλύουν και τη σημασία της γενετικής δομής του μικροβίου στην επαγωγή φαινομένων όπως για παράδειγμα ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (απόπτωση), ή ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Συγκεκριμένα:

- Παρατηρήθηκε αυξημένος αποπτωτικός δείκτης μετά από λοίμωξη με *Επ*.
- Εμφάνιση πυλωρικών αδενίων που εκκρίνουν μεταλλαγμένο πεψινογόνο-1 παρουσία *Επ*.
- Τα anti-CagA αντισώματα αυξάνουν το ρίσκο εμφάνισης ατροφικής γαστρίτιδας.
- CagA+ στελέχη επάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μετά από μετρήσεις που έγιναν με τη βοήθεια ανοσοϊστοχημείας.
- Η λοίμωξη με *Επ* συνδυάζεται με μεταβολές στον κυτταρικό κύκλο.
- Αναφέρεται συχνά στη βιβλιογραφία συσχετισμός έκφρασης ογκογονιδίων p53, c-erbB2 και ελλείψεις στα c-met, APC και DCC με μόλυνση από *Επ*.
- Παρατηρήθηκε γραμμική συσχέτιση έκφρασης RNA τελομεράσης, λοίμωξης από *Επ* και εντερικής μεταπλασίας.
- Αναφέρεται ελάττωση του Πεψινογόνου 1 σε παρουσία αντι-*Επ* Ανοσοσφαιρίνης A.

***Επ* και απόπτωση γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων**

Ενδείξεις για την επαγωγή αποπτωτικών σημάτων από το *Επ* προκύπτουν από δύο διαφορετικές οδούς προσέγγισης: από την ανίχνευση των αποπτωτικών κυττάρων με γνωστές τεχνικές σε ιστολογικές τομές και από την επαγωγή του φαινομένου της απόπτωσης σε γαστρικές επιθηλιακές σειρές *in vitro*. Για τη μελέτη του φαινομένου της απόπτωσης *in situ* χρησιμοποιείται η μέθοδος TUNEL (terminal deoxynucleotidyl nucleotide nick-end labelling), όπου με συγκεκριμένο ανοσοϊστοχημείας και μοριακής βιολογίας μπορούν να ανιχνευθούν τα αποπτωτικά σώματα σε τομές παραφίνης.

Παρατηρήθηκε λοιπόν, ότι ο ρυθμός απόπτωσης αυξάνεται επί παρουσίας *Επ* με σχεδόν γραμμική σχέση. Εξ άλλου, βρέθηκε ότι ο αριθμός των αποπεποκώτων κυττάρων επανέρχεται σε φυσιολογικά όρια μετά από θεραπεία εκρίζωσης του *Επ*. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι αυξημένος αποπτωτικός δείκτης συνδυάζεται με αποικισμό από στελέχη *Επ* cagA αρνητικά.

Ο δεύτερος δρόμος προσέγγισης του φαινομένου της απόπτωσης είναι μέσω κυτταροκαλλιιεργειών επιθηλιακών κυττάρων, μεθόδου που έχει αρκετά

μειονεκτήματα, με κυριότερο εκείνο της επιλογής της κυτταρικής σειράς που συνήθως είναι καρκινική, λόγω της ικανότητας των νεοπλασματικών κυττάρων να επιβιώνουν σε υλικό κυτταροκαλλιιεργειών (σε σχέση με τις φυσιολογικές ομόλογές τους). Παρατηρήθηκε λοιπόν ότι πράγματι το *Επ* έχει τη δυνατότητα να επάγει το φαινόμενο της απόπτωσης τόσο προστιθέμενο αυτούσιο ως μικροοργανισμός όσο και ως εκκυλισμένος λιποσακχαρίτης. Επίσης, υπάρχει συσχέτιση του φαινομένου με την παρουσία ή μη κυτταροκινών όπως η Ιντερφερόνη γ και ο TNF- α . Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται μέσω του υποδοχέα του Fas (CD95), ενός εκ των μορίων που προάγουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

***Επ* και MALT λεμφώματα**

Από τις αρχές της 10ετίας του '90 (Parsonnet, New England Journal of Medicine) είναι γνωστή η συσχέτιση λοίμωξης με *Επ* και εμφάνισης MALT τύπου λεμφώματος. Από τους Wotherspoon και Isaacson υποστηρίχθηκε ότι η χρόνια ελικοβακτηριαδική γαστρίτιδα παρέχει υπόστρωμα για την ανάπτυξη λεμφώματος τύπου MALT. Το 1992 επιβεβαιώνεται η σχέση γαστρίτιδας *Επ* αιτιολογίας και λεμφώματος και προτείνεται θεραπεία 4 εβδομάδων εκρίζωσης του *Επ* ως μέθοδος διαφορικής διάγνωσης γαστρίτιδας – λεμφώματος. Οι σπουδαιότερες αναφορές σχετικά με το θέμα έχουν ως εξής:

- Παρατηρείται πολλαπλασιασμός Β λεμφοκυττάρων σε χαμηλής κακοηθείας MALT λεμφώματα μετά από επαφή με *Επ*.
- Ο πολλαπλασιασμός των Β λεμφοκυττάρων οφείλεται σε ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων.
- Ο βαθμός της ενεργοποίησης εξαρτάται εν πολλοίς από το στέλεχος του βακτηριδίου.
- Το *Επ* ανιχνεύεται στο 90% των MALT λεμφωμάτων.
- Γενετικά, σε ορισμένες περιπτώσεις χαμηλής κακοηθείας MALT λεμφωμάτων παρατηρήθηκε χρωμοσωμιακή μετάθεση 1;14.
- Κυτταρογενετικές μελέτες καταδεικνύουν την παρουσία Τρισωμίας 3 στα χαμηλής κακοηθείας MALT λεμφώματα.
- Η καλλιέργεια κυττάρων MALT λεμφώματος παρουσία στελεχών *Επ*, προκαλεί αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού, επαγωγή CD25 και έκκριση από τα Τ λεμφοκύτταρα, IL-2.
- Απομάκρυνση των Τ λεμφοκυττάρων από το καλλιέργημα, αναστείλει τα παραπάνω φαινόμενα.
- Πρόσφατα πειράματα έδειξαν ότι ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των Β λεμφοκυττάρων δεν εξαρτάται από την παρουσία *Επ* αλλά από τα Τ λεμφοκύτταρα που εμφανίζονται λόγω της παρουσίας *Επ*.

- Τα κύτταρα αυτά έχουν ανοσοφαινότυπο Th1 και εκφράζουν εκτός από IL-2, IL-8 και IFN-γ.

Επίσης:

- Τεκμηριώθηκε η μετατροπή MALT λεμφωμάτων χαμηλής σε υψηλής κακοηθείας, με συμμετοχή του ιδίου κλώνου.
- Τα γαστρικά MALT λεμφώματα διαφέρουν από τα λεμφαδενικά αντίστοιχά τους και στη βιολογική συμπεριφορά, ιδιότητα που ίσως οφείλεται σε αντιγονικούς παράγοντες.