

Sonja Strobel

Dr. sc. hum.

Untersuchungen über die Genotypen des vakuolisierenden Zytotoxins von *Helicobacter pylori* bei Patienten mit Ulkus duodeni und Patienten mit funktioneller Dyspepsie

Geboren am 22.03.1960 in Freiburg i. Br.

Reifeprüfung am 03.06.1980 in Freiburg i. Br.

Studium der Biologie mit Hauptfach Mikrobiologie vom WS 1982 bis WS 1990

Vordiplom am 10.04.1986 an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Diplom am 21.01.1991 an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Professor Dr. Dr. h.c. Hans-Günther Sonntag

Helicobacter pylori ist ein humanpathogenes, mikroaerophiles, gram-negatives Bakterium, das erst im Jahr 1983 entdeckt wurde. Es ist in der Lage den menschlichen Magen zu kolonisieren, ein Habitat das normalerweise einer mikrobiellen Besiedlung widersteht. Die *Helicobacter pylori*-Infektion ist eine der häufigsten bakteriellen Infektionen weltweit und steht in kausalem Zusammenhang zur Entstehung der chronisch-aktiven Gastritis, dem peptischen Ulcusleiden, dem MALT-Lymphom und dem Magenkarzinom.

Zwei wichtige Virulenzfaktoren des Bakteriums sind das vakuolisierende Zytotoxin (VacA) und das Zytotoxin-assoziierte Genprodukt A (CagA), die beide chromosomal lokalisiert sind. Das vakuolisierende Zytotoxin schädigt Eukaryontenzellen durch massive Vakuolenbildung im Zytoplasma. Im Tierversuch führt es zu erosiven Veränderungen an der Magenschleimhaut. Das VacA wird daher für die Entstehung von Ulzera des Magens und des Duodenums verantwortlich gemacht. Das VacA, welches zur Klasse der sezernierten Exotoxine gehört, wird von einem Mosaik-Gen kodiert. Es werden 2 Signalsequenztypen (s1, s2) und 2 Typen des Mittelteils des Gens (m1, m2) unterschieden, die weltweit eine geographisch unterschiedliche Verteilung zeigen und sich wiederum in Subtypen aufsplittern.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte ein Zusammenhang zwischen *vacA*-Genotyp und dem Auftreten eines bestimmten Krankheitsbildes des Keimträgers retrospektiv untersucht werden. Dabei sollte sich auch zeigen ob die Prävalenzen der *vacA*-Genotypen deutscher *H.p.*-Isolate denen der bis dato untersuchten amerikanischen Isolate entsprechen. Desweiteren sollten

Korrelationen von *vacA*-Genotypen zum Virulenzfaktor *cagA* untersucht werden. Im Laufe dieser Arbeit wurden von 158 infizierten Personen *H.p.*-Isolate in Kultur gebracht und mit Hilfe allelspezifischer PCR die *vacA*-Genotypen bestimmt. 105 dieser infizierten Patienten litten an einem Ulkus duodeni, 52 Personen litten an einer nicht-ulzerösen Gastritis.

Die Untersuchungen zeigten eine starke Korrelation zwischen dem Auftreten von Ulkus duodeni und dem *vacA*-Genotyp s1a ($p < 0,001$), eine Korrelation zwischen dem Auftreten einer nicht-ulzerösen Gastritis und dem *vacA*-Genotyp s2 ($p < 0,001$). Eine statistisch stark signifikante Korrelation zeigte sich auch zwischen dem Vorhandensein des Pathogenitätsmarkers *cagA* und dem *vacA*-Genotyp s1a ($p < 0,001$). Diese Ergebnisse lassen die Annahme zu, daß s1a/m1 und s1a/m2 -*Helicobacter pylori* Stämme ein erhöhtes ulzerogenes Potential besitzen und die Entstehung eines peptischen Ulkusleidens auf dem Boden einer chronisch-aktiven Gastritis wahrscheinlicher machen; während s2/m2-Stämme weniger Virulenz zeigen und wahrscheinlich nicht zu einem ulzerösen Geschehen beitragen.

Die Untersuchungen zeigten weiterhin, daß in deutschem *H.p.*-Isolaten die gleichen *vacA*-Genotypen in vergleichbarer Verteilung vorhanden sind wie in amerikanischen Isolaten. Zusätzlich wurde in deutschen Isolaten ein neuer Genotyp entdeckt, der in 18 % der Isolate vorkam und als s1a/m1a bezeichnet wurde. Dieser neue Genotyp war bisher nicht beschrieben und detektierbar, und konnte durch DNA-Sequenzierungen charakterisiert werden. Der neue Genotyp zeigte in dieser Untersuchung keine Assoziation zum Krankheitsbild. Die partiellen Gensequenzen von fünf s1a/m1a-Isolaten wurden unter folgenden Zugriffsnummern in der EMBL-Gendatenbank niedergelegt: Y14740, Y14741, Y14742, Y14743, Y14744. Um den Genotyp s1a/m1a mittels allelspezifischer PCR nachweisen zu können, wurden anhand der Sequenzdaten neue spezifische Primer entworfen, die erfolgreich eingesetzt wurden.

Die in dieser Arbeit an einem vergleichsweise großen Untersuchungskollektiv erzielten Ergebnisse sind in internationaler Übereinstimmung mit anderen Autoren. Das Vorkommen eines neuen Genotyps in deutschen Isolaten konnte von einer weiteren Arbeitsgruppe bestätigt werden (Han et al. 98). Da sich die klinische Relevanz und auch die geographisch unterschiedliche Verteilung der *vacA*-Genotypen bestätigt hat, ist die *vacA*-Typisierung weiterhin für epidemiologische Untersuchungen interessant. Die von uns entworfenen neuen Primer sind dazu eine wertvolle methodische Ergänzung. Die weitere Erforschung der Bedeutung der m-Typen für die Bindung des Toxins an seinen Rezeptor und eine möglicherweise ethnisch unterschiedliche Verteilung dieser Oberflächenproteine wären weitere interessante Forschungsziele.