

Received: 2010.04.15
Accepted: 2010.07.09
Published: 2010.08.06

Zakażenia bakteriami rodzaju *Helicobacter* spp. w przewlekłym uszkodzeniu wątroby

Helicobacter spp. infections in chronic liver damage

Magda Rybicka¹, Piotr Stalke², Krzysztof Piotr Bielawski¹, Joanna Nakonieczna¹

¹ Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

² Klinika Chorób Zakaźnych, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Wątroba jest jednym z głównych organów odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy. Prawidłowe funkcjonowanie tego narządu warunkuje detoksykację produktów metabolizmu w organizmie oraz udział w regulacji procesów metabolicznych makrocząsteczek (białek, lipidów, węglowodanów). Najważniejszymi czynnikami zakaźnymi, które prowadzą do uszkodzeń wątroby są wirusy pierwotnie hepatotropowe, a zwłaszcza wywołujące przewlekłe zapalenie wątroby (HBV, HCV, HDV), co może doprowadzić do marskości i/lub pierwotnego raka wątroby (HCC). W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie zakażeniami bakteriami z rodzaju *Helicobacter*, jako potencjalnego czynnika promującego uszkodzenia wątroby i prowadzącego do raka wątrobowokomórkowego. Związek między rakiem wątrobowokomórkowym a obecnością bakterii z rodzaju *Helicobacter* został dobrze udokumentowany w literaturze opisującej wyniki badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych (*Helicobacter hepaticus*, a rak wątroby u myszy). Liczne dane literaturowe wskazują również na prawdopodobny związek takiego zakażenia z HCC u człowieka, gdzie obecność bakterii *Helicobacter* stwierdza się częściej u chorych na raka wątrobowokomórkowego, niż w wątrobach osób zdrowych lub przewlekłe chorych. Molekularne mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska nie są dokładnie poznane, ale wiedza na ten temat staje się coraz bogatsza.

W pracy przedstawiono dostępne dane literaturowe na temat związku między obecnością *Helicobacter* spp. w wątrobie a uszkodzeniami tego narządu oraz przedstawiono rolę, jaką odgrywają te bakterie w przewlekłych chorobach wątroby.

Słowa kluczowe:

Helicobacter spp. • *Helicobacter pylori* • rak wątrobowokomórkowy • przewlekłe zapalenie wątroby

Summary

Liver is a key organ responsible for organism's homeostasis. A proper function of this organ is crucial for detoxification of metabolic products and regulation of metabolic processes of macromolecules (proteins, lipids, carbohydrates). The most important infectious factors, leading to liver damage, are primary hepatotropic viruses, particularly those causing chronic inflammation of the organ (HBV, HCV, HDV), which may subsequently cause cirrhosis and/or primary hepatocellular carcinoma. There has been a growing interest in *Helicobacter* spp. liver infections as a potential factor promoting injury of the organ towards hepatocellular carcinoma. The association between hepatocellular carcinoma and the presence of *Helicobacter* in the liver has been well documented in animal models (*Helicobacter hepaticus* versus liver cancer in mice). Some reports also indicate similar association in humans, where the presence of *Helicobacter* antigens

in patients with liver cancer is detected more often in comparison to healthy or chronically infected population. Although the molecular mechanisms underlying such a phenomenon are not well known, the knowledge on this subject has considerably increased during recent years. The review presents data on the association between the presence of *Helicobacter* spp. in the liver and injuries of the organ, as well as the role that is played by the bacteria in chronic liver diseases.

Key words: *Helicobacter* spp. • *Helicobacter pylori* • hepatocellular carcinoma • chronic liver diseases

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=916527>

Word count: 4542

Tables: 1

Figures: 2

References: 83

Adres autorki: dr Joanna Nakonieczna, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk; e-mail: strzala@biotech.ug.gda.pl

Wykaz skrótów: **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen presenting cell); **EHS** – gatunki pozajelitowe (enterohepatic species); **HCC** – rak wątrobowokomórkowy (hepatocellular carcinoma); **HBV** – wirus zapalenia wątroby typu B (hepatitis B virus); **HCV** – wirus zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus); **IFN** – interferon; **IL** – interleukina; **LPS** – lipopolisacharyd; **PBC** – pierwotna żółciowa marskość wątroby (primary biliary cirrhosis); **PSC** – pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych (primary sclerosing cholangitis); **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor); **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor).

WPROWADZENIE

Wątroba jest jednym z głównych organów warunkujących utrzymanie homeostazy. Pełni wiele funkcji, spośród których najważniejszymi są: detoksykacja ksenobiotyków i produktów metabolizmu organizmu (w tym różnych hormonów), współdziałanie w regulacji metabolizmu białek, lipidów i węglowodanów, synteza białek przekaźnikowych oraz układu krzepnięcia, współdziałanie w procesie odpowiedzi immunologicznej [46].

Ten największy ludzki narząd u osoby dorosłej waży 1300–1800 g i zawiera 3×10^{11} hepatocytów (około 171 mln/g tkanki). Do wątroby dopływa 1500 (± 300) ml krwi/min poprzez żyłę wrotną (około 60%) i tętnicę wątrobową. Wraz z krwią z przewodu pokarmowego żyłą wrotną docierają do wątroby liczne antygeny. Wyjątkowe położenie wątroby warunkuje jej wielorakie funkcje, zwłaszcza rozkład spożytych ksenobiotyków (np. alkohol, leki, ale także toksyny) oraz usuwanie z krążenia antygenów (w tym bakterii, które uległy translokacji ze światła jelit) [69].

Uszkodzenie wątroby w trakcie infekcji może dotyczyć hepatocytów, komórek śródbłonki, ale także nabłonka przewodów żółciowych. Odbywa się to bezpośrednio przez wydzielanie różnego rodzaju toksyn, bądź pośrednio poprzez indukcję nadmiernej odpowiedzi immunologicznej. Reakcja wywołana przez pozakomórkowe czynniki chorobotwórcze jest związana z uwalnianiem w miejscu działania patogenu granulocytów obojętnochłonnych (neutrofilów) i powstaniem miejscowej reakcji zapalnej. Szczególnym uszkodzeniem wątroby w trakcie trwania

infekcji są zaburzenia perfuzji prowadzące do hipoksji miąższu (w trakcie wstrząsu, rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego) [46].

Najważniejszym czynnikiem etiologicznym infekcyjnych chorób wątroby są pierwotnie hepatotropowe wirusy (HAV, HBV, HCV, HDV, HEV), które odpowiadają za większość uszkodzeń wątroby, zwłaszcza przewlekłych zapaleń (HBV, HCV, HDV). Pozostałe wirusy pierwotnie niehepatotropowe, bakterie, grzyby oraz pasożyty mogą w pewnych sytuacjach wywoływać uszkodzenie wątroby. W zakażeniach bakteryjnych szczególną uwagę poświęca się oddziaływaniu ich toksyn na komórki wątroby. Większość zakażeń bakteryjnych (ropnych) toczy się w przewodach żółciowych, tworząc nacieki złożone z neutrocytów w przestrzeni wrotnej. Klasycznym obrazem chorobowym jest wówczas bakteryjne (ropne) zapalenie dróg żółciowych. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym jest *E. coli*, ale także inne patogeny jelitowe: *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* spp., *Proteus vulgaris*, *Bacteroides* spp., *Actinomyces* spp.

Niektóre zakażenia bakteryjne w wątrobie tworzą zmiany zapalne o typie ziarniniaków np. *Mycobacterium tuberculosis*, *Treponema pallidum*. W ostatnich latach wykazano obecność w tkance wątroby antygenów i materiału genetycznego bakterii rodzaju *Helicobacter* spp. Wyniki badań potwierdziły możliwość związku pomiędzy występowaniem tych bakterii, a rakiem wątrobowokomórkowym (HCC) [1]. Ponadto dowiedziono, że niektóre szczepy *Helicobacter pylori* mogą kolonizować nie tylko błonę śluzową żołądka, ale także inne nisze ekologiczne w przewodzie pokarmowym [71].

AKTYWNOŚĆ IMMUNOLOGICZNA WĄTROBY

Spośród wielu złożonych procesów metabolicznych, które zachodzą w wątrobie, wyróżnić można syntezę układu dopełniacza. Jest to grupa około 20 białek surowicy, które odgrywają główną rolę w mechanizmie obronnym organizmu przed zakażeniami wywoływanymi przez bakterie Gram-ujemne. Biorą one udział w fagocytozie, kontrolują stan zapalny oraz współdziałają z przeciwciałami w trakcie obrony immunologicznej. Większość białek dopełniacza jest wytwarzana przez hepatocyty i monocyty [38].

Z aktywnością immunologiczną wątroby są związane również komórki nieparenchymalne, które stanowią 30% komórek wątroby. W ich skład wchodzi komórki endotelium (50%), limfocyty (25%), makrofagi wątrobowe – komórki Kupffera (20%), komórki epitelium dróg żółciowych (biliary epithelial cells, BEC – 5%).

Spośród wszystkich komórek wątroby 13–15% stanowią komórki gwiaździste, tzw. komórki Ito (hepatic stellate cells – HSC) [7,64]. Odgrywają one istotną rolę w patofizjologii włóknienia wątroby przez stymulację za pomocą cytokin w trakcie odpowiedzi zapalnej. Komórki Ito są uważane za główne źródło wytwarzania kolagenu i pozostałych składników macierzy pozakomórkowej (extracellular matrix – ECM) [21]. Komórki Kupffera są wędrującymi makrofagami przytwierdzonymi do warstwy komórek endotelium zatok wątrobowych (liver sinusoidal endothelial cells – LSEC). Odpowiadają za syntezę wielu cytokin oraz ekspresję adhezyn. Komórki te ulegają aktywacji przez czynniki infekcyjne, takie jak endotoksyny bakteryjne (lipopolisacharyd, LPS) czy superantygeny. Pochłaniają, neutralizują i niszczą różnego rodzaju cząsteczki, m.in. patogeny zakaźne oraz prezentują antygeny limfocytom T. Ważną rolę w kontrolowaniu prezentacji antygenów limfocytom T mają także inne czynniki, np. LPS. Lipopolisacharyd w sposób ciągły indukuje syntezę IL-10 z komórek Kupffera, co hamuje z kolei zdolność LSEC do prezentacji antygenów limfocytom T [16].

Aktywność immunologiczną wykazują również komórki BEC, które wyściełają wewnątrz- i zewnątrzwątrobowe przewody żółciowe. Wpływają na przepływ żółci z wątroby do dwunastnicy, syntetyzują chemokiny i cytokiny oraz indukują ekspresję wielu adhezyn, co umożliwia im działanie jako profesjonalne komórki prezentujące antygeny (antigen-presenting cell – APC). Sama żółć także jest aktywna immunologicznie, gdyż zawiera znaczne ilości immunoglobulin, zwłaszcza IgA [18].

MECHANIZM USZKODZENIA WĄTROBY

Pod wpływem działania substancji chemicznych lub biologicznych może dochodzić do uszkodzenia hepatocyta. Proces ten przebiega różnie i może ostatecznie doprowadzić do powstania przewlekłego procesu zapalnego lub pełnego wyzdrowienia [46].

Uszkodzenie komórki wątrobowej

Morfologicznymi wykładnikami uszkodzenia hepatocyta jest jego zwyrodnienie. Najczęściej występującym typem zwyrodnienia komórki wątrobowej jest stłuszczenie

drobno- i wielkokropelkowe polegające na gromadzeniu kropel tłuszczu w cytoplazmie komórki. Kontakt hepatocyta z wirusami, toksynami może zablokować proces glikolizy i doprowadzić do gromadzenia się złogów glikogenu – zwyrodnienie glikogenowe [46,48]. Oba typy zwyrodnienia nie muszą prowadzić do śmierci komórki i często są odwracalne. Nieodwracalnymi zwyrodnieniami komórki wątrobowej prowadzącymi do jego śmierci są zwyrodnienia: balonowate, pierzaste i kwasochłonne (jest to ostatni etap zaprogramowanej śmierci komórki – apoptozy) [46,48]. Martwicę komórki może inicjować proces bezpośrednio zaburzający jej funkcjonowanie lub poprzez uruchomienie procesu apoptozy. Uwolnione w wyniku cytolizy antygeny powodują formowanie się nacieku z komórek jednojądrzastych, uprzątnięcie terenu i inicjowanie procesów reperacyjnych. Proces ten może się zakończyć włóknieniem wątroby. Następstwem apoptozy są ciała apoptotyczne fagocytowane przez makrofagi, bez formowania się nacieku zapalnego i włóknienia wątroby [48].

Zapalenie wątroby

Obecność obcych antygenów stymuluje odpowiedź układu immunologicznego w wątrobie, powstaje nacieki z komórek jednojądrzastych. W ostrej fazie choroby nacieki stwierdza się śródzrazikowo, bez towarzyszącego włóknienia. Morfologicznie najbardziej podobne do ostrego zapalenia wątroby jest przewlekłe zrazikowe zapalenie wątroby. Przewlekłe przetrwałe zapalenie wątroby charakteryzuje się obecnością nacieków komórek jednojądrzastych w poszerzonych przestrzeniach wrotnych, bez naciekania blaszki granicznej oraz włóknieniem ograniczonym do przestrzeni wrotnej i okołowrotnej. W przewlekłym aktywnym (agresywnym, postępującym) zapaleniu wątroby widoczny jest obraz martwicy pomostującej, z obecnością nacieków zapalnych uszkodzających blaszkę graniczną, z dużą ilością włókien kolagenu tworzących blizny łącznotkankowe [46,48]. Następstwem przewlekłego zapalenia wątroby może być marskość wątroby prowadząca do przewlekłej niewydolności wątroby, a niekiedy do raka wątrobowokomórkowego [46].

Włóknienie wątroby

W przebiegu procesu zapalnego, a następnie regeneracji czy włóknienia wątroby, istotną rolę pełnią cytokiny prozapalne. Pobudzone przez kontakt z antygenem makrofagi wydzielają transformujące czynniki wzrostu α i β (TGF- α i TGF- β), a płytki krwi po kontakcie z kolagenem, płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF). TGF- β i PDGF aktywują transformację gwiazdkowatych komórek Ito w miofibroblasty wytwarzające białka substancji pozakomórkowej (extracellular matrix – ECM) do przestrzeni Dissego [22,46]. Aktywowane komórki Ito wytwarzają ponadto znaczne ilości prostacykliny oraz metaloproteinaz (kolagenaza), które zapobiegają dalszej aktywacji płytek i nadmiernemu wytwarzaniu kolagenu. Z kolei aktywność metaloproteinaz w wątrobie jest hamowana przez osoczowe inhibitory proteaz, takie jak α_2 -makroglobulina, czy tkankowe inhibitory metaloproteinaz (tissue inhibitor of metalloproteinase – TIMP) [22,46]. PDGF pełni także rolę chemokiny dla makrofagów wątrobowych, które migrują do ogniska martwicy. Podobne do TGF- β i PDGF działanie pobudzające komórki Ito, lecz słabiej wyrażone wykazują

nieliczne interleukiny (IL-1 β , IL-4, IL-6). Działanie przeciwstawne wykazują natomiast TGF- α , TNF- α , IL-1 α , IFN- α , IFN- γ , które hamują syntezę kolagenu w wątrobie. Dodatkowo TNF- α działając poprzez swoisty receptor może wywoływać apoptozę, a IL-1 α , IL-1 β , TGF- β , glikokortykosteroidy stymulują syntezę czynnika wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor – HGF). Cytokiny stymulujące wzrost hepatocytów jednocześnie hamują syntezę kolagenu. W przebiegu włóknienia wątroby w komórkach Ito zwiększa się zawartość α -aktyny mięśni gładkich, a w obrębie sinusoidów wątrobowych wzrasta ilość kolagenu typu I oraz fibronektyny w błonie podstawnej, co doprowadza do zanikania porów między śródbłonkami [22,46].

ZAKAŻENIE BAKTERIAMI RODZAJU *HELICOBACTER* U CZŁOWIEKA

Charakterystyka *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori (*H. pylori*) jest u ludzi najpowszechniej występującą bakterią w kwaśnym środowisku treści pokarmowej żołądka. Po raz pierwszy pałeczkę opisał Marshall i Warren [49]. Bakteria *H. pylori* jest obecnie uznawana za najważniejszy czynnik wywołujący przewlekłe i ostre stany zapalne żołądka, a jej obecność znacznie zwiększa ryzyko rozwoju choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy. Udowodniono również, że przewlekłe stany zapalne wywołane przez *H. pylori* mogą prowadzić do rozwoju choroby nowotworowej żołądka. W związku z tym Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization – WHO) zaliczyła *H. pylori* do czynników karcynogennych klasy I [45].

Główną przyczyną patogenności tej bakterii jest jej zdolność do wieloletniego przebywania w organizmie gospodarza. Mimo istnienia wielu szczepów różniących się zjadliwością, duża część szkód powstałych podczas infekcji w większym stopniu wynika z odpowiedzi immunologicznej organizmu gospodarza na obecność bakterii niż z toksycznego działania wywieranego bezpośrednio przez sam patogen [47].

Helicobacter pylori, znany wcześniej jako *Campylobacter pylori* jest Gram-ujemną pałeczką o długości 2–4 μm i szerokości 0,5–1 μm . *H. pylori* jest mikroaerofilem, tzn. do wzrostu wymaga obecności 5% stężenia tlenu w środowisku, do 10% stężenia dwutlenku węgla oraz temperatury około 37°C. Odporność bakterii na działanie kwasu żołądkowego zapewnia obecność enzymu ureazy, który katalizuje reakcję rozkładu mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla neutralizując w ten sposób działanie kwasów żołądkowych [19,47].

H. pylori może występować w dwóch postaciach morfologicznych. Pierwszą jest postać spiralna (wegetatywna), która ma na jednym z biegunów 2–7 rzęsek o długości ok. 3 μm . Rzęski te odpowiadają za przemieszczanie się bakterii w przestrzeniach międzykomórkowych, penetrację lepkiego i gęstego śluzu pokrywającego błonę śluzową żołądka oraz adhezję do powierzchni komórek. Wegetatywna postać *H. pylori* w niekorzystnych dla siebie warunkach może się przekształcić w niezdolną do wzrostu na podłożach laboratoryjnych postać kokoidalną (przetrwalnikową), z zachowaniem innych podstawowych funkcji życiowych. Postać ta umożliwia przetrwanie bakterii i we właściwych

warunkach środowiskowych ponowne jej przeistoczenie w postać wegetatywną. Taka właściwość tłumaczyłaby m.in. trudności w izolacji *H. pylori* z wycinków wątroby, a także okresowe nawroty choroby wrzodowej [5,10,35].

Epidemiologia zakażenia

Helicobacter pylori jest jednym z najczęstszych patogenów człowieka, zakażając ponad połowę populacji ludzkiej, a głównym rezerwuarem zakażenia jest człowiek. Stwierdzono znaczące różnice w częstości występowania zakażenia w poszczególnych krajach. Odsetek infekcji w krajach wysoko rozwiniętych wynosi 40–50%, natomiast w krajach rozwijających się problem ten dotyka nawet 80–90% [44,54]. W trakcie życia częstość zakażeń wzrasta o 1% rocznie, a do zakażenia dochodzi najczęściej we wczesnym dzieciństwie. Najwyższą zachorowalność obserwuje się w wieku 10–12 lat [9,14,54].

Polska jest krajem, w którym wskaźnik infekcji *H. pylori* jest wysoki, dotyczy 70–80% dorosłej populacji. W przedziale wiekowym 0–18 lat częstość występowania zakażenia *H. pylori* wynosi 30,41%, natomiast wśród małych dzieci (od 6 miesiąca życia do 4 roku życia) – 18,38% [13].

Do najważniejszych czynników odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie się bakterii w populacji należą: złe warunki sanitarno-higieniczne, niski standard ekonomiczny i mieszkaniowy oraz bliskie kontakty międzyludzkie. Czynnikiem sprzyjającym może być niedożywienie oraz niedobór witamin w diecie [19,54]. Uważa się, że zakażenie następuje drogą oralno–oralną, fekalno–oralną lub gastro–oralną. Możliwość infekcji są więc bardzo duże, a ich bezpośrednią przyczyną może być źle wyjałowiony sprzęt medyczny czy zanieczyszczona fekaliami woda. Najczęstszą przyczyną jest jednak spożywanie pokarmu nadjęzonymi rękami oraz wymiana wśród dzieci zabawek trzymanyh uprzednio w ustach [19,54].

Interakcje gospodarz – *H. pylori*

Bakteria *Helicobacter pylori* wywołuje silną i wyjątkowo zróżnicowaną odpowiedź immunologiczną gospodarza, prowadzącą do rozwoju stanu zapalnego błony śluzowej żołądka. Mimo znacznych zasobów energii przeznaczonych na zwalczanie *H. pylori*, infekcja najczęściej jest trwała i utrzymuje się w zainfekowanym organizmie do końca życia [58]. Wykazano zróżnicowany typ odpowiedzi immunologicznej organizmu zakażonego *H. pylori*. W reakcję odpornościową zaangażowane są zarówno elementy odporności wrodzonej (nieswoistej), takie jak neutrofile aktywowane antygenami patogenu i chemokinami wytwarzanymi przez komórki epitelium oraz elementy odporności nabytej (swoistej), w tym głównie limfocyty T [75].

Odpowiedź wrodzona (nieswoista)

Odpowiedź wrodzona, jako pierwsza linia obrony przed zakażeniami, jest odpowiedzialna za rozpoznanie drobnoustroju i odgrywa ważną rolę w określeniu natury swoistej odpowiedzi immunologicznej. Jest to proces nieswoisty, który polega na reakcji różnych komórek m.in. makrofagów z antygenami powierzchniowymi *H. pylori*, co ostatecznie prowadzi do zniszczenia patogenu. Za zjawisko

rozpoznawania cząsteczek bakterii odpowiadają receptory typu Toll (Toll-like receptors – TLR), które znajdują się na powierzchni komórek prezentujących antygeny (antigen-presenting cells – APC), takich jak monocyty i komórki dendrytyczne. Pobudzone w ten sposób komórki uwalniają cytokiny prozapalne, m.in. TNF, IL-1 oraz IL-8, wywołujące silny efekt chemotaktyczny na granulocyty obojętnochłonne i monocyty krwi obwodowej. Bakterie *H. pylori* niszczone są w procesie fagocytozy przez powstałe z monocytów makrofagi. Jednakże udowodniono, iż poprzez inaktywację enzymów lizosomalnych, bakterie te mogą przeżyć wewnątrz makrofagów [50,63].

Podobnie jak w przypadku innych Gram-ujemnych bakterii, w skład ściany komórkowej *H. pylori* wchodzi lipopolisacharyd (LPS), który należy do rodziny toksycznych fosforyzowanych glikolipidów nazywanych również endotoksynami. Jest on głównym antygenem powierzchniowym uczestniczącym w oddziaływaniach bakterii ze środowiskiem i organizmami wyższymi, stanowiącym istotny czynnik wirulencji [51].

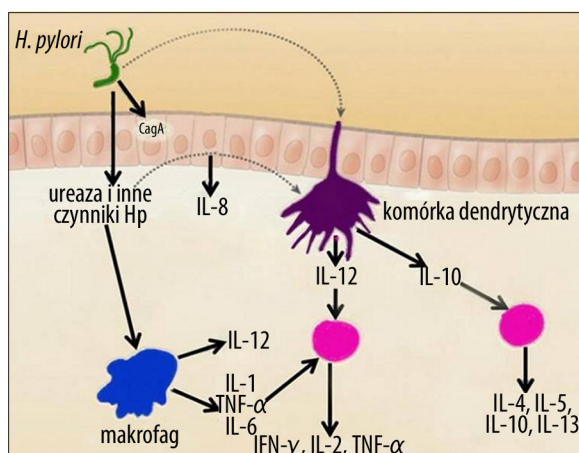
Porównanie struktury LPS *H. pylori* i najlepiej do tej pory poznanej bakterii Gram-ujemnej *E. coli*, wykazało znaczne różnice we wszystkich elementach składowych lipopolisacharydu. Dodatkowo udowodniono, że LPS *H. pylori* wykazuje 1000-krotnie mniejszą pirogenność i 500-krotnie mniejszą toksyczność niż *Salmonella enterica* sv. Typhimurium u myszy [51].

W porównaniu do bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae*, LPS *H. pylori* w znacznie mniejszym stopniu indukuje tkankowy inhibitor aktywatora plazminogenu typu 2 (plazminogen activator inhibitor type 2 – PAI-2) i aktywność prokoagulacyjną (procoagulant activity – PCA) oraz cytokiny prozapalne, w tym IL-1, IL-6, IL-8 i czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor – TNF). Słaba odpowiedź układu immunologicznego na obecność LPS *H. pylori* tłumaczy zjawisko długotrwałego zasiedlenia błon śluzowych człowieka oraz skuteczne unikanie odpowiedzi immunologicznej gospodarza, przy zachowaniu podstawowych funkcji LPS [36,51].

Mimo obniżonych właściwości immunogennych LPS odgrywa istotną rolę w stymulacji komórek układu odpornościowego do wytwarzania interleukin prozapalnych (np. IL-1 i IL-8), TNF oraz interferonu gamma. Pośredniczy także w aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który jest odpowiedzialny za transkrypcję genów cytokin, chemokin oraz enzymów biorących udział w rozwoju stanu zapalnego związanego z infekcją bakteryjną [70].

Odpowiedź nabyta (swoista)

Odpowiedź nabyta jest reakcją opóźnioną, która jest swoista dla pojedynczego antygeny i prowadzi do aktywacji limfocytów oraz wytworzenia pamięci immunologicznej [15]. Główną rolę w przebiegu i rozwoju przewlekłych chorób zapalnych odgrywają procesy immunologiczne, w które zaangażowane są zarówno mechanizmy odpowiedzi komórkowej z udziałem limfocytów T pomocniczych (Th) i cytotoksycznych (Tc), jak i odpowiedzi humoralnej z udziałem przeciwciał wytwarzanych przez limfocyty B [36]. Odpowiedź komórkowa jest realizowana przez



Ryc. 1. Odpowiedź gospodarza na obecność bakterii *H. pylori* w błonie śluzowej żołądka (na podstawie [82])

limfocyty Th oraz Tc o fenotypach CD4⁺ i CD8⁺. Większość danych literaturowych wskazuje, że w przypadku chronicznej infekcji pula limfocytów T jest zdominowana przez komórki CD4⁺ [75].

Istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu immunologicznego człowieka odgrywają wydzielane do otoczenia cząsteczki białkowe – cytokiny, które umożliwiają wzajemne komunikowanie się komórek. Ze względu na rodzaj wydzielanych cytokin, limfocyty Th podzielono na subpopulacje: Th₁ i Th₂. Limfocyty Th₁, które są efektorami odpowiedzi komórkowej, wytwarzają cytokiny prozapalne, takie jak: IL-2, IL-6, IL-8, INF- γ oraz TNF. Komórki Th₂ działają pomocniczo w stosunku do odpowiedzi immunologicznej typu humoralnego, przede wszystkim skierowują ją na wytwarzanie IgE, IgA i IgG1, promują także proliferację eozynofiliów i komórek tucznych. Wytwarzają przede wszystkim cytokiny antyzapalne: IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 (ryc. 1) [36,67].

Zakażenie bakteriami rodzaju *Helicobacter* poza żołądkiem

Wraz z opisaniem korelacji pomiędzy zakażeniem *H. pylori* a przewlekłym stanem zapalnym żołądka, chorobą wrzodową żołądka i dwunastnicy oraz rakiem żołądka, wzrosło zainteresowanie bakteriami z rodzaju *Helicobacter*. W ciągu ostatnich lat drobnoustroje te były izolowane głównie z przewodu pokarmowego wielu gatunków zwierząt, ptaków i ludzi (tab. 1).

Zakażenia bakteriami rodzaju *Helicobacter* u zwierząt

U świnek morskich stwierdzono związek zakażenia *Helicobacter mustellae* z wrzodami trawiennymi, natomiast w żołądku psów i kotów wykryto: *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. bizozzeronii* i *H. bilis*. U myszy zaś zidentyfikowano: *H. hepaticus*, *H. muridarum*, *H. bilis*, *H. rodentium* i *Flexispira rappini* [71,78].

Bakterie z rodzaju *Helicobacter*, ze względu na miejsce bytowania, podzielić można na dwie grupy: gatunki kolonizujące błonę śluzową żołądka oraz gatunki zasiedlające dolne

Tabela 1. Gatunki *Helicobacter* spp. zidentyfikowane u kręgowców (na podstawie [60])

<i>Helicobacter</i> spp.	Organizm	Choroba	Lokalizacja	Źródło
<i>H. bilis</i>	mysz	przewlekłe zapalenie wątroby	żółć, wątroba	[29]
<i>H. canis</i>	pies	zapalenie wątroby	wątroba	[25]
<i>H. pullorum</i>	kurczak	zapalenie wątroby	wątroba	[73]
<i>H. marmotae</i>	świstak	nowotwory	wątroba	[30]
<i>H. mastomyrinus</i>	szczur	zapalenie wątroby	wątroba	[68]
<i>H. cinaedi</i>	makak	zapalenie wątroby i jelit	wątroba	[27]
<i>H. macacae</i>	pawian	amyloidoza wysp trzustkowych i zapalenie wątroby	wątroba i jelito kręte	[33]
<i>H. pylori</i>	kot	limfocytarne zapalenie dróg moczowych	żółć	[6]
<i>H. hepaticus</i>	mysz	przewlekłe i ostre zapalenie wątroby	wątroba	[24]
<i>H. cholecystus</i>	chomik	zwłóknienie kanalików żółciowych	pęcherzyk żółciowy	[32]

odcinki przewodu pokarmowego (jelito kręte, jelito grube, odbytnicę, drogi żółciowe oraz wątrobę). Przedstawicielem pierwszej grupy jest głównie *Helicobacter pylori*, a także *H. mustellae* i *H. felis*. Jelitowo-wątrobowe gatunki *Helicobacter* (enterohepatic helicobacter species – EHS), to m.in. *H. hepaticus*, *H. bilis*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. canis*, *H. cholecysticus* oraz *H. rodentium* [4]. EHS, które po raz pierwszy wykryto u gryzoni laboratoryjnych, mają zdolność do przeżycia w środowisku żółci. W związku z tym mogą zasiedlać drogi żółciowe i wątrobę zwierząt oraz indukować powstawanie zmian zapalnych, a nawet nowotworowych [71,78].

Najlepiej poznanym gatunkiem jelitowo-wątrobowym z rodzaju *Helicobacter* jest *H. hepaticus*. Bakteria ta jest przyczyną chorób jelita grubego, przewlekłych zapaleń wątroby oraz pierwotnego raka wątroby u myszy. Na podstawie badań prowadzonych na modelach zwierzęcych udowodniono, że długotrwałe zasiedlanie wątroby myszy przez *H. hepaticus* wpływa na rozwój martwiczo-zapalnych uszkodzeń wątroby, zwłóknienia, martwicy, co w konsekwencji może prowadzić do HCC [66,80,81]. Wykazano także, że różne gatunki *Helicobacter* spp. izolowane z próbek wątroby ssaków, biorą udział w etiopatogenezie przewlekłego zapalenia wątroby i nowotworów wątroby [28,31,32]. Obecnie *H. hepaticus* jest jedynym naturalnym patogenem mysim zdolnym do indukcji HCC. Mechanizm, za pomocą którego *H. hepaticus* indukuje hiperproliferyację komórek wątroby, a w konsekwencji prowadzi do rozwoju raka u myszy, może odgrywać rolę w progresji HCC u innych zwierząt zakażonych *H. pylori*, w tym człowieka [77]. Rozwój HCC u myszy na skutek infekcji *H. hepaticus* uzależniony jest od czynników genetycznych gospodarza. Osobniki męskie myszy zakażone *H. hepaticus* są bardziej podatne na HCC niż żeńskie, zatem hormony również najpewniej odgrywają istotną rolę w progresji chorób wątroby [76]. Podobnie jest u ludzi – obecność HCC stwierdza się częściej u mężczyzn niż u kobiet [12]. Podczas zakażenia u myszy A/JCr obserwuje się ogniskowe, nieropne, nekrotyczne zapalenie wątroby, które może przejść w postać przewlekłą. Zmiany te mają szybszy i ostrzejszy przebieg u męskich osobników myszy, ale przyczyna tego zjawiska nie jest do końca wyjaśniona. Zmiany zapalne u myszy A/JCr, takie

jak hiperplazja komórek owalnych, komórek Kupffera, zapalne zmiany w drogach żółciowych oraz nekroza nieznacznego stopnia, prowadzą do powstania guzów, a nawet do śmierci [74]. Mechanizm, poprzez który dochodzi do tych zmian nie został dobrze wyjaśniony. Sugeruje się, że obecność *H. hepaticus* może wpływać na rozwój karcynogenezy. U zakażonych myszy obserwuje się bowiem wzrastający wskaźnik wątrobowej proliferacji oraz apoptozę. Ponadto u myszy A/JCr z HCC dotychczas nie znaleziono mutacji w genie supresorowym *p53* ani w onkogenie *ras*, które są charakterystyczne dla karcynogenezy w wątrobie gryzoni [71]. Doustna iniekcja laboratoryjnego szczepu myszy C57BL/6 zawieszoną *H. pylori* skutkuje po około 2 miesiącach ostrym zapaleniem żołądka, a w dalszej kolejności (po 8 miesiącach) wielogniskowymi zmianami zapalnymi w wątrobie. Wynika z tego, że bakterie te mogą się przedostać do wątroby jako niezależny czynnik etiologiczny uszkadzający komórki wątroby [40].

Wyniki ostatnich badań przeprowadzonych na modelach mysich i szczurzych wskazują, że infekcje *H. pylori* są istotnym czynnikiem rozwoju marskości wątroby [34]. Niektórzy badacze proponują zakażenia bakteriami z rodzaju *Helicobacter* jako dodatkowe czynniki wpływające na rozwój raka wątroby, oprócz wirusów hepatotropowych, czy też chemicznych karcynogenów. Szeroko zakrojone badania z wykorzystaniem wielu technik molekularnych i immunologicznych wykazały, że sama kolonizacja jelit przez *H. hepaticus* u myszy z wprowadzonym transgenem HCV indukuje HCC. Przy czym translokacja bakterii z warstwy śród błonka jelit do wątroby nie jest konieczna do indukcji HCC. Badania przeprowadzone w oparciu o technikę mikromacierzy, ilościowy PCR oraz western blotting wykazały, że *H. hepaticus* aktywuje ścieżkę zależną od jądrowego czynnika NF-κB, zarówno w jelitach, jak i w wątrobie [26].

Zakażenia bakteriami rodzaju *Helicobacter* u człowieka

Dotychczas jednoznacznie nie udowodniono roli bakterii z rodzaju *Helicobacter* spp. w etiopatogenezie chorób wątroby i dróg żółciowych u człowieka. Obecnie trwają badania nad korelacją zakażenia bakterii z rodzaju *Helicobacter*

a chorobami u ludzi, także poza przewodem pokarmowym (tab. 1). Eksperymenty kliniczne skupiły się głównie na związku zakażenia *H. pylori* z przewlekłymi chorobami układu naczyniowo-sercowego, rakiem okrężnicy, czy też przewlekłymi chorobami wątroby i kanalików żółciowych [60].

Powiązano związek przewlekłego zapalenia wątroby, podobnie jak przewlekłego zapalenia błony śluzowej żołądka, z rozwojem swoistego narządowo procesu nowotworowego [52,61]. Wykazano ponadto, że bakterie z rodzaju *Helicobacter* mogą być współodpowiedzialne za zapalenie pęcherzyka żółciowego, przewodów i kanalików żółciowych u ludzi [23,55,71].

Pierwsze wyniki badań wskazujące na związek między zakażeniem *Helicobacter* spp., a chorobami wątroby przedstawiono w 1998 roku. W badaniach przeprowadzonych na próbkach żółci oraz tkance z usuniętych pęcherzyków żółciowych od pacjentów cierpiących na przewlekłe kamiczne zapalenie pęcherzyka żółciowego wykazano obecność materiału genetycznego drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter*. Hodowla drobnoustrojów z zamrożonych materiałów nie powiodła się, jednakże obecność DNA *Helicobacter* stwierdzono w 13/23 przebadanych próbek żółci i w 9/23 pęcherzykach żółciowych [23]. Podobne badania przeprowadzono na próbkach od pacjentów z Ukrainy. Do badań użyto fragmenty tkanek pęcherzyka żółciowego utrwalone formaliną i przechowywane w postaci bloczków parafinowych. Spośród 22 pacjentów cierpiących na zapalenie pęcherzyka żółciowego, u 16 (73%) wykryto obecność 16S rDNA *Helicobacter* spp. Analizy prowadzono stosując metodę elektroforezy w gradiencie denaturującym (denaturing gradient gel electrophoresis – DGGE) oraz barwienie immunohistochemiczne [2].

Wyniki badań przeprowadzonych w naszym zespole z zastosowaniem metody DGGE oraz sekwencjonowania pozwoliły na identyfikację bakterii z rodzaju *Helicobacter* w 25/97 (26%) tkankach wątroby [72]. Wyniki te wskazują, że występowanie bakterii *H. pylori* w wątrobie pacjentów populacji Polski Północnej z przewlekłymi chorobami wątroby jest powszechne. Dodatkowo, zdecydowana większość wykrywanych w wątrobie *H. pylori* nie ma genu *cagA*, który jest uznawany za marker szczepów potencjalnie karcynogennych. Wskazuje to, że inne typy *H. pylori* występują w żołądku, a inne w wątrobie [72].

Stosując metodę PCR wykazano obecność DNA rodzaju *Helicobacter* w 20/24 (83%) tkankach wątroby pacjentów chorych na pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych (primary sclerosing cholangitis – PSC) i pierwotną żółciową marskość wątroby (primary biliary cirrhosis – PBC), z czego 8/24 (33%) zidentyfikowano jako *H. pylori* [56]. W ten sam sposób potwierdzono obecność materiału genetycznego *Helicobacter* spp. w bioptatach wątroby i dróg żółciowych od pacjentów chorych na pierwotnego raka wątroby (85%) i raka pęcherzyka żółciowego [3,59]. W kolejnych badaniach wśród 22 pacjentów cierpiących na zapalenie pęcherzyka żółciowego obecność bakterii potwierdzono u 11 (50%) w wątrobie i 16 (73%) w pęcherzyku żółciowym [2]. Wyniki badań prowadzonych przez Ponzetto i wsp. wykazały, że *H. pylori* odgrywa istotną rolę w patogenezie i progresji marskości wątroby u pacjentów

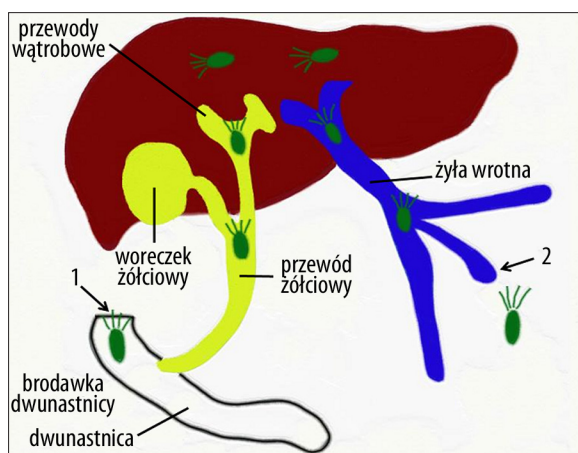
z wirusowym zapaleniem wątroby typu C i pierwotnym rakiem wątroby [62].

Najnowsze wyniki badań potwierdziły zależność między występowaniem *Helicobacter* a rakiem wątrobowo-komórkowym. Materiał DNA *Helicobacter* spp. wykryto w 58% (7/12) próbek wątroby pacjentów z rakiem wątrobowo-komórkowym i 62% (8/13) z rakiem wewnątrzwątrobowych kanalików żółciowych (intrahepatic cholangiocarcinoma). Jedynie u 3/24 (12,5%) pacjentów z grupy kontrolnej z łagodnymi schorzeniami wątroby wykryto obecność *Helicobacter* spp. [1]. Wyniki badań opublikowane przez autorów ze Szwecji (Lund), badających od lat *Helicobacter* spp., potwierdzają obecność materiału genetycznego różnych gatunków należących do tego rodzaju w materiale pochodzącym od dorosłych i dzieci z przewlekłymi chorobami wątroby, m.in. PBC. Jednocześnie negatywne wyniki testów serologicznych w badanym materiale wskazują na potrzebę zgłębiania roli tych bakterii w patogenezie chorób wątroby [8].

Mimo częstego wykrywania DNA *Helicobacter* spp. w tkankach wątroby osób cierpiących na przewlekłe choroby tego narządu, wciąż nie udaje się wyhodować drobnoustrojów z materiału klinicznego. Pałeczki *Helicobacter* rosną bardzo wolno i wymagają kilkudniowej inkubacji na wybiórczych podłożach, które muszą być wzbogacone w różne składniki (m.in. krew). Warunki wzrostu powinny być typowo mikroaerofilne (mieszanka gazów: 3% H₂, 10% CO₂, 5% O₂ i 82% N₂). Ponadto trudności w wyhodowaniu bakterii z zamrożonych tkanek wątroby mogą być spowodowane niszczącym wpływem temperatury na bakterie, podawaniem antybiotyku przed pobraniem próbki, obecnością żółci w wątrobie, zbyt małą liczbą bakterii w tkance. Bakterie mogą również ulegać transformacjom fizjologicznym, tak że pozostają aktywne i zdolne do życia, ale mają niski potencjał replikacyjny. Mogą się również znajdować w postaci kokoidalnej, której nie udaje się hodować. Argumentem potwierdzającym takie przypuszczenie są wyniki badań nad zakażeniem *H. trogonatum* u myszy, u których zmiany w wątrobie zwierząt zaobserwowano dopiero po 6 miesiącach od zakażenia [53].

Jedynie opisane dotychczas w literaturze przypadki wyhodowania *H. pylori* z materiału wątrobowego dotyczą 23-letniej pacjentki z marskością wątroby w przebiegu choroby Wilsona [17] oraz materiału pobranego od trzech pacjentów z rakiem wątrobowo-komórkowym [83]. Identyfikacja bakterii w tych przypadkach oparta była na analizie morfologicznej, biochemicznej oraz potwierdzona badaniem sekwencji genu 16S rRNA.

Dostrzeżono współzależność między obecnością bakterii a występowaniem wczesnego raka wątroby. Avenaud i wsp. wykryli obecność *Helicobacter* spp. we wszystkich bioptatach pobranych od pacjentów z nowotworem (8/8), podczas gdy u pacjentów ze zmianami nienowotworowymi bakteria wystąpiła tylko w jednym przypadku (1/8) [3]. Obecność materiału genetycznego *H. pylori* stwierdzono także u 9/15 (60%) pacjentów z HCC, jednocześnie nie wykrywając bakterii w grupie kontrolnej (0/13) [20]. Częstość wykrywania bakterii z gatunku *Helicobacter* w tkankach pobranych od pacjentów z rakiem wątroby nie jest stała i waha się 0–100% [3,39,41,55,65,79].



Ryc. 2. Prawdopodobne drogi kolonizacji wątroby przez *Helicobacter* spp. Bakterie mogą się przedostać do wątroby przez dwunastnicę i przewody żółciowe (1) lub w wyniku krążenia wrotnego poprzez żyłę wrotną (2) (na podstawie [60])

Istnieją także podejrzenia, że DNA *H. pylori* w tkankach wątroby może być wynikiem nieswoistego transportu DNA do wątroby poprzez krążenie wrotne (ryc. 2) lub wynikiem kontaminacji podczas wykonywania badań [11]. Wykrycie obecności pałeczek *H. pylori* w żołądku kobiety, której tkanka wątroby posłużyła do pomysłnego wyhodowania bakterii, również wywołało wątpliwości. Stwierdzono, że mogły one wtórnie przedostać się do wątroby wstecznie z dwunastnicy lub przez krążenie wrotne ze światła przewodu pokarmowego. Jednak wyhodowanie bakterii świadczy bardziej o kolonizacji wątroby, niż jej kontaminacji poprzez krążenie wrotne. Zdolność adaptacji bakterii *Helicobacter* spp. do kwaśnego środowiska żołądka oraz alkalicznego wątroby może umożliwiać im skuteczne długotrwałe zakażenie przewodu żółciowego i wątroby [1,41].

Helicobacter pylori korzystając z wielu mechanizmów może zasiedlać kwaśne środowisko żołądka, skąd może przedostać się do jelita. Tu dochodzi do pierwszego kontaktu bakterii z niskimi stężeniami żółci, której wydzielanie stymulowane jest przez spadek pH w opuszczonej dwunastnicy wywołany kwaśną treścią żołądkową. Stężenie żółci u człowieka wynosi 2–3 mmol/l w trakcie poszczenia i 6–10 mmol/l po posiłku, lecz w błonie jelita stężenie to jest znacznie niższe [37,43]. Niektóre kwasy żółciowe mogą hamować wzrost *H. pylori* *in vitro*. Kwasy te ulegają precypitacji pod wpływem kwasu żołądkowego, co umożliwia bakterii stopniowe przystosowanie się do alkalicznego środowiska. Kontakt bakterii z nieszkodliwą ilością żółci może ułatwiać selekcję szczepów o zwiększonej odporności na toksyczne oddziaływanie soli żółciowych. Zdolność adaptacji do środowiska żółci zaobserwowano u wielu gatunków bakterii. Gatunki jelitowo-wątrobowe *Helicobacter* opisywane u zwierząt mają zdolność do przeżycia w środowisku bogatym w sole kwasów żółciowych. *H. pylori* nie badano jak dotąd w tym kierunku. Wiadomo, że obecność bakterii w drogach żółciowych może zakłócać właściwe

funkcjonowanie wątroby i prowadzi do zmniejszenia wytwarzania żółci [37,57].

PODSUMOWANIE

Koncepcja zależności między obecnością bakterii a procesem nowotworzenia nie jest nowa. Przewlekły proces zapalny związany z obecnością *H. pylori* w żołądku może wywołać raka tego narządu. Liczne gatunki rodzaju *Helicobacter* izolowane pozajelitowo od zwierząt oraz z materiału klinicznego od ludzi wskazują na możliwość kolonizacji narządów innych niż jelita (wątroba, kanaliki żółciowe) przez te bakterie. Związek *H. hepaticus* z przewlekłym zapaleniem wątroby u myszy dostarcza pewnych informacji na temat roli bakterii z rodzaju *Helicobacter* w patogenezie chorób wątroby i dróg żółciowych oraz mechanizmu rozwoju tych chorób. Do tej pory nie udało się jednak opracować skutecznej metody hodowli *H. pylori* z pobranych tkanek. Trudności w uzyskaniu dodatkich hodowli bakterii stanowią istotny argument podnoszony przez niektórych autorów przeciwko roli tej bakterii w patologii przewlekłych chorób wątroby. Bakterię można uznać za czynnik etiologiczny danej choroby, jeżeli spełnia ona „Postulaty Kocha”. Po pierwsze musi być znaleziona u wszystkich chorych osobników i nie występować u osobników zdrowych. Bakteria powinna dać się wyizolować z chorych osobników i hodować w czystych kulturach w warunkach laboratoryjnych. Następnie wyizolowany organizm powinien powodować pojawienie się objawów choroby u zarażonych organizmów, identycznych do obserwowanych uprzednio. Ponadto powinna być możliwa ponowna izolacja mikroorganizmów z organizmów zarażonych [45]. Niestety tych warunków nie spełniają bakterie rodzaju *Helicobacter*. Warto nadmienić jednak, że także inne trudne do hodowli patogeny, o uznanym znaczeniu klinicznym, nie spełniają tych postulatów (np. krętek błady, prątek trądu, *Borrelia burgdorferi*). Mimo to, że *H. pylori* nie spełnia „Postulatów Kocha”, liczne dane literaturowe wskazują na jego udział w patogenezie przewlekłych chorób wątroby. Ponadto częstość wykrywania DNA tych bakterii wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania stadium choroby [60].

Jak dotąd, nie stwierdzono obecności innych mikroorganizmów jelitowych w tkankach HCC, co wyklucza nieswoistą obecność *Helicobacter* spowodowaną krążeniem wrotnym [60]. Nie zanotowano jeszcze przypadku, w którym *H. pylori* występuje jedynie w wątrobie pacjenta. Ponadto, bakterie *H. pylori* wnikają z większą efektywnością do hepatocytów niż do komórek nabłonkowych żołądka [42]. Wydaje się więc, że bakteria jest w stanie przeżyć wewnątrz komórek wątroby, uniknąć odpowiedzi gospodarza i skutecznie wywoływać przewlekłe choroby wątroby. Obecnie nie ma zgodności czy bezpośrednia kolonizacja wątroby jest przyczyną uszkodzeń prowadzących w kierunku nowotworzenia, czy też obecność bakterii jest czynnikiem nieswoistym. Najciekawszą i zarazem najbliższą prawdy wydaje się hipoteza, która bierze pod uwagę, oprócz właściwości samego patogenu, również czynniki osobnicze gospodarza (np. wytwarzanie hormonów, zawartość żelaza w wątrobie).

PIŚMIENICTWO

- [1] Abu Al-Soud W., Stenram U., Ljungh A., Tranberg K.G., Nilsson H.O., Wadstrom T.: DNA of *Helicobacter* spp. and common gut bacteria in primary liver carcinoma. *Dig. Liver Dis.*, 2008; 40: 126–131
- [2] Apostolov E., Al-Soud W.A., Nilsson I., Kornilovska I., Usenko V., Lyzogubov V., Gaydar Y., Wadstrom T., Ljungh A.: *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species in gallbladder and liver of patients with chronic cholecystitis detected by immunological and molecular methods. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2005; 40: 96–102
- [3] Avenaud P., Marais A., Monteiro L., Le Bail B., Bioulac Sage P., Balabaud C., Megraud F.: Detection of *Helicobacter* species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. *Cancer*, 2000; 89: 1431–1439
- [4] Biernat M., Gościński G.: *Helicobacter* species in digestive tract in humans. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006; 15: 113–120
- [5] Bode G., Brenner H., Adler G., Rothenbacher D.: Recurrent abdominal pain in children: evidence from a population-based study that social and familial factors play a major role but not *Helicobacter pylori* infection. *J. Psychosom. Res.*, 2003; 59: 417–421
- [6] Boomkens S.Y., Kusters J.G., Hoffmann G., Pot R.G., Spee B., Penning L.C., Egberink H.F., van den Ingh T.S., Rothuizen J.: Detection of *Helicobacter pylori* in bile of cats. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2004; 42: 307–311
- [7] Cassiman D., Roskams T.: Beauty is in the eye of the beholder: emerging concepts and pitfalls in hepatic stellate cell research. *J. Hepatol.*, 2002; 37: 527–535
- [8] Casswall T.H., Nemeth A., Nilsson I., Wadstrom T., Nilsson H.O.: *Helicobacter* species DNA in liver and gastric tissues in children and adolescents with chronic liver disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2010; 45: 160–167
- [9] Celińska-Cedro D., Dzierżanowska D., Socha J.: *Helicobacter pylori* w schorzeniach układu pokarmowego u dzieci – problemy diagnostyczne i terapeutyczne. *Gastroenterologia Polska*, 1995; 2: 115–119
- [10] Cellini L., Allocati N., Angelucci D., Iezzi T., Di Campi E., Marzio L., Dainelli B.: Coccoid *Helicobacter pylori* not culturable *in vitro* reverts in mice. *Microbiol. Immunol.*, 1994; 38: 843–850
- [11] Coppola N., De Stefano G., Marrocco C., Scarano F., Scolastico C., Tarantino L., Piccinino F., Sagnelli E., Giorgio A., Filippini P.: Absence of *Helicobacter* spp in the liver of patients with primary or metastatic liver cancer. *Hepatology*, 2002; 36: 1300–1301
- [12] Cortes-Espinosa T., Mondragon-Sanchez R., Hurtado-Andrade H., Sanchez-Cisneros R.: Hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis in Mexico: a 25 year necropsy review. *Hepatogastroenterology*, 1997; 44: 1401–1403
- [13] Czaja-Bulsa G., Gębala A., Matacz M., Tetera E.: Zakażenie *Helicobacter pylori* u dzieci z Regionu Pomorza Zachodniego. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 2008; 3: 196–200
- [14] Czerwionka-Szaflarska M., Mierzwa G., Bała G.: *Helicobacter pylori* – czynnik etiopatogenetyczny schorzeń żołądka i dwunastnicy u dzieci. *Pediatr. Pol.*, 1995; 7: 563–568
- [15] D'Elios M.M., Manghetti M., De Carli M., Costa F., Baldari C.T., Burroni D., Telford J.L., Romagnani S., Del Prete G.: T helper 1 effector cells specific for *Helicobacter pylori* in the gastric antrum of patients with peptic ulcer disease. *J. Immunol.*, 1997; 158: 962–967
- [16] Delves P.J., Roitt I.M.: The immune system. First of two parts. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 37–49
- [17] de Magalhaes Queiroz D.M., Santos A.: Isolation of a *Helicobacter* strain from the human liver. *Gastroenterology*, 2001; 121: 1023–1024
- [18] Donaldson P.T.: Genetics of autoimmune liver disease, in: Gershwin M.E., Vierling J.M., Manns M.P. (eds.), *Liver immunology*, Hanley & Belfus, Philadelphia, 2003; 291–309
- [19] Dunn B.E., Cohen H., Blaser M.J.: *Helicobacter pylori*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1997; 10: 720–741
- [20] Fan X.G., Peng X.N., Huang Y., Yakoob J., Wang Z.M., Chen Y.P.: *Helicobacter* species ribosomal DNA recovered from the liver tissue of Chinese patients with primary hepatocellular carcinoma. *Clin. Infect. Dis.*, 2002; 35: 1555–1557
- [21] Fletcher L.M., Dixon J.L., Purdie D.M., Powell L.W., Crawford D.H.: Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology*, 2002; 122: 281–289
- [22] Flisiak R.: Cytokiny w patogenezie włóknienia wątrobowego. *Przegląd Lekarski*, 1999; 56: 604–607
- [23] Fox J.G., Dewhirst F.E., Shen Z., Feng Y., Taylor N.S., Paster B.J., Ericson R.L., Lau C.N., Correa P., Araya J.C., Roa I.: Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. *Gastroenterology*, 1998; 114: 755–763
- [24] Fox J.G., Dewhirst F.E., Tully J.G., Paster B.J., Yan L., Taylor N.S., Collins M.J.Jr., Gorelick P.L., Ward J.M.: *Helicobacter hepaticus* sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. *J. Clin. Microbiol.*, 1994; 32: 1238–1245
- [25] Fox J.G., Drolet R., Higgins R., Messier S., Yan L., Coleman B.E., Paster B.J., Dewhirst F.E.: *Helicobacter canis* isolated from a dog liver with multifocal necrotizing hepatitis. *J. Clin. Microbiol.*, 1996; 34: 2479–2482
- [26] Fox J.G., Feng Y., Theve E.J., Raczynski A.R., Fiala J.L., Doernte A.L., Williams M., McFaline J.L., Essigmann J.M., Schauer D.B., Tannenbaum S.R., Dedon P.C., Weinman S.A., Lemon S.M., Fry R.C., Rogers A.B.: Gut microbes define liver cancer risk in mice exposed to chemical and viral transgenic hepatocarcinogens. *Gut*, 2010; 59: 88–97
- [27] Fox J.G., Handt L., Sheppard B.J., Xu S., Dewhirst F.E., Motzel S., Klein H.: Isolation of *Helicobacter cinaedi* from the colon, liver, and mesenteric lymph node of a rhesus monkey with chronic colitis and hepatitis. *J. Clin. Microbiol.*, 2001; 39: 1580–1585
- [28] Fox J.G., Li X., Yan L., Cahill R.J., Hurley R., Lewis R., Murphy J.C.: Chronic proliferative hepatitis in A/JCr mice associated with persistent *Helicobacter hepaticus* infection: a model of helicobacter-induced carcinogenesis. *Infect. Immun.*, 1996; 64: 1548–1558
- [29] Fox J.G., Rogers A.B., Whary M.T., Taylor N.S., Xu S., Feng Y., Keys S.: *Helicobacter bilis*-associated hepatitis in outbred mice. *Comp. Med.*, 2004; 54: 571–577
- [30] Fox J.G., Shen Z., Xu S., Feng Y., Dangler C.A., Dewhirst F.E., Paster B.J., Cullen J.M.: *Helicobacter marmotae* sp. nov. isolated from livers of woodchucks and intestines of cats. *J. Clin. Microbiol.*, 2002; 40: 2513–2519
- [31] Fox J.G., Yan L.L., Dewhirst F.E., Paster B.J., Shames B., Murphy J.C., Hayward A., Belcher J.C., Mendes E.N.: *Helicobacter bilis* sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. *J. Clin. Microbiol.*, 1995; 33: 445–454
- [32] Franklin C.L., Beckwith C.S., Livingston R.S., Riley L.K., Gibson S.V., Besch-Williford C.L., Hook R.R.Jr.: Isolation of a novel *Helicobacter* species, *Helicobacter cholecystus* sp. nov., from the gallbladders of Syrian hamsters with cholangiofibrosis and centrilobular pancreatitis. *J. Clin. Microbiol.*, 1996; 34: 2952–2958
- [33] Garcia A., Xu S., Dewhirst F.E., Nambiar P.R., Fox J.G.: Enterohepatic *Helicobacter* species isolated from the ileum, liver and colon of a baboon with pancreatic islet amyloidosis. *J. Med. Microbiol.*, 2006; 55: 1591–1595
- [34] Goo M.J., Ki M.R., Lee H.R., Yang H.J., Yuan D.W., Hong I.H., Park J.K., Hong K.S., Han J.Y., Hwang O.K., Kim D.H., Do S.H., Cohn R.D., Jeong K.S.: *Helicobacter pylori* promotes hepatic fibrosis in the animal model. *Lab. Invest.*, 2009; 89: 1291–1303
- [35] Goodwin C.S., Worsley B.W.: Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 1993; 22: 5–19
- [36] Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W.: *Immunologia*, PWN, Warszawa, 2010
- [37] Gunn J.S.: Mechanisms of bacterial resistance and response to bile. *Microbes. Infect.*, 2000; 2: 907–913
- [38] Horowitz H.W., Dworkin B., Forseter G., Nadelman R.B., Connolly C., Luciano B.B., Nowakowski J., O'Brien T.A., Calmann M., Wormser G.P.: Liver function in early Lyme disease. *Hepatology*, 1996; 3: 1412–1417
- [39] Huang Y., Fan X.G., Wang Z.M., Zhou J.H., Tian X.F., Li N.: Identification of *Helicobacter* species in human liver samples from patients with primary hepatocellular carcinoma. *J. Clin. Pathol.*, 2004; 57: 1273–1277
- [40] Huang Y., Tian X.F., Fan X.G., Fu C.Y., Zhu C.: The pathological effect of *Helicobacter pylori* infection on liver tissues in mice. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2009; 15: 843–849
- [41] Ito K., Nakamura M., Toda G., Negishi M., Torii A., Ohno T.: Potential role of *Helicobacter pylori* in hepatocarcinogenesis. *Int. J. Mol. Med.*, 2004; 13: 221–227
- [42] Ito K., Yamaoka Y., Ota H., El-Zimaity H., Graham D.Y.: Adherence, internalization, and persistence of *Helicobacter pylori* in hepatocytes. *Dig. Dis. Sci.*, 2008; 53: 2541–2549

- [43] Itoh M., Wada K., Tan S., Kitano Y., Kai J., Makino I.: Antibacterial action of bile acids against *Helicobacter pylori* and changes in its ultrastructural morphology: effect of unconjugated dihydroxy bile acid. *J. Gastroenterol.*, 1999; 34: 571–576
- [44] Iwańczak F., Maciorkowska E., Kaczmarski M., Bąk-Romaniszyn L., Planeta-Małecka I., Romańczuk W., Iwańczak B., Pytrus T., Czerwionka-Szaflarska M., Mierzwa G., Cichy W., Ignyś I., Dzierżanowska D., Gościński G., Vogt E.: Badania epidemiologiczne częstości występowania zakażenia *Helicobacter pylori* u dzieci w Polsce. *Pediatrica Współczesna*, 2004; 6: 345–350
- [45] Jagusztyn-Krynicka E.K., Godlewska R., Łaniewski P.: *Helicobacter pylori* – patogen roku 2005. *Kosmos*, 2005; 54: 307–319
- [46] Kuntz E., Kuntz H.D.: *Hepatology: Principles and Practice*, Springer-Verlag, Berlin, 2002
- [47] Kusters J.G., van Vliet A.H., Kuipers E.J.: Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2006; 19: 449–490
- [48] Lee R.G.: *Diagnostic Liver Pathology*, Mosby-Year Book, St. Louis, 1994
- [49] Marshall B.J., Warren J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1984; 1: 1311–1315
- [50] Meyer F., Wilson K.T., James S.P.: Modulation of innate cytokine responses by products of *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun.*, 2000; 68: 6265–6272
- [51] Moran A.P., Prendergast M.M.: Molecular mimicry in *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides: contribution of gastrointestinal infections to autoimmunity. *J. Autoimmun.*, 2001; 16: 241–256
- [52] Moss S.F., Blaser M.J.: Mechanisms of disease: Inflammation and the origins of cancer. *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, 2005; 2: 90–97
- [53] Moura S.B., Queiroz D.M., Rocha G.A., Comunian L.B., Cara D.C.: Hepatic changes in mice chronically infected with *Helicobacter troglontum*. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2003; 36: 1209–1213
- [54] Mourad-Baars P.E., Verspaget H.W., Mertens B.J., Mearin M.L.: Low prevalence of *Helicobacter pylori* infection in young children in the Netherlands. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007; 19: 213–216
- [55] Nilsson H.O., Mulchandani R., Tranberg K.G., Stenram U., Wadstrom T.: *Helicobacter* species identified in liver from patients with cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 2001; 120: 323–324
- [56] Nilsson H.O., Taneera J., Castedal M., Glatz E., Olsson R., Wadstrom T.: Identification of *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing cholangitis or primary biliary cirrhosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2000; 38: 1072–1076
- [57] Okoli A.S., Wilkins M.R., Raftery M.J., Mendz G.L.: Response of *Helicobacter hepaticus* to bovine bile. *J. Proteome Res.*, 2010; 9: 1374–1384
- [58] Pappo J., Czinn S., Nedrug J., Vaccines, in: Mobley H.L., Mendz G.L., Hazell S.L.: *Helicobacter pylori: Physiology and Genetics*. AMS Press, Washington, 2001
- [59] Pellicano R., Mazzaferro V., Grigioni W.F., Cutufia M.A., Fagoonee S., Silengo L., Rizzetto M., Ponzetto A.: *Helicobacter species* sequences in liver samples from patients with and without hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.*, 2004; 10: 598–601
- [60] Pellicano R., Menard A., Rizzetto M., Megraud F.: *Helicobacter species* and liver diseases: association or causation? *Lancet Infect. Dis.*, 2008; 8: 254–260
- [61] Pisani P., Parkin D.M., Munoz N., Ferlay J.: Cancer and infection: estimates of the attributable fraction in 1990. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1997; 6: 387–400
- [62] Ponzetto A., Pellicano R., Leone N., Cutufia M.A., Turrini F., Grigioni W.F., D'Errico A., Mortimer P., Rizzetto M., Silengo L.: *Helicobacter* infection and cirrhosis in hepatitis C virus carriage: is it an innocent bystander or a troublemaker? *Med. Hypotheses*, 2000; 54: 275–277
- [63] Ramarao N., Meyer T.F.: *Helicobacter pylori* resists phagocytosis by macrophages: quantitative assessment by confocal microscopy and fluorescence-activated cell sorting. *Infect. Immun.*, 2001; 69: 2604–2611
- [64] Reeves H.L., Friedman S.L.: Activation of hepatic stellate cells – a key issue in liver fibrosis. *Front Biosci.*, 2002; 7: d808–d826
- [65] Rocha M., Avenaud P., Menard A., Le Bail B., Balabaud C., Bioulac-Sage P., de Magalhaes Queiroz D.M., Megraud F.: Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut*, 2005; 54: 396–401
- [66] Rogers A.B., Fox J.G.: Inflammation and cancer. I. Rodent models of infectious gastrointestinal and liver cancer. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2004; 286: G361–G366
- [67] Shanahan F.: Crohn's disease. *Lancet*, 2002; 359: 62–69
- [68] Shen Z., Xu S., Dewhirst F.E., Paster B.J., Pena J.A., Modlin I.M., Kidd M., Fox J.G.: A novel enterohepatic *Helicobacter* species '*Helicobacter mastomyrinus*' isolated from the liver and intestine of rodents. *Helicobacter*, 2005; 10: 59–70
- [69] Sherlock S.: The liver in Digestive Disease Week 1997, *J. Hepatol.*, 1997; 27: 938–940
- [70] Slomiany B.L., Slomiany A.: Cytosolic phospholipase A2 activation in *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide-induced interference with gastric mucin synthesis. *IUBMB Life*, 2006; 58: 217–223
- [71] Solnick J.V., Schauer D.B.: Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001; 14: 59–97
- [72] Stalke P., Al-Soud W.A., Bielawski K.P., Bakowska A., Trocha H., Stepinski J., Wadstrom T.: Detection of *Helicobacter* species in liver and stomach tissues of patients with chronic liver diseases using polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis and immunohistochemistry. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2005; 40: 1032–1041
- [73] Stanley J., Linton D., Burnens A.P., Dewhirst F.E., On S.L., Porter A., Owen R.J., Costas M.: *Helicobacter pullorum* sp. nov. – genotype and phenotype of a new species isolated from poultry and from human patients with gastroenteritis. *Microbiology*, 1994; 140: 3441–3449
- [74] Stout M.D., Kissling G.E., Suarez F.A., Malarkey D.E., Herbert R.A., Bucher J.R.: Influence of *Helicobacter hepaticus* infection on the chronic toxicity and carcinogenicity of triethanolamine in B6C3F1 mice. *Toxicol. Pathol.*, 2008; 36: 783–794
- [75] Svennerholm A.M., Lundgren A.: Progress in vaccine development against *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2007; 50: 146–156
- [76] Theve E.J., Feng Y., Taghizadeh K., Cormier K.S., Bell D.R., Fox J.G., Rogers A.B.: Sex hormone influence on hepatitis in young male A/JCr mice infected with *Helicobacter hepaticus*. *Infect. Immun.*, 2008; 76: 4071–4078
- [77] Tian X.Y., Liu X.Q., Chen H.Y., Setterberg R.B., Li M., Jee W.S.: Greater efficacy of alfacalcidol in the red than in the yellow marrow skeletal sites in adult female rats. *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.*, 2008; 8: 257–266
- [78] Tolia V., Nilsson H.O., Boyer K., Wuertth A., Al-Soud W.A., Rabah R., Wadstrom T.: Detection of *Helicobacter ganmani*-like 16S rDNA in pediatric liver tissue. *Helicobacter*, 2004; 9: 460–468
- [79] Verhoef C., Pot R.G., de Man R.A., Zondervan P.E., Kuipers E.J., Ijzermans J.N., Kusters J.G.: Detection of identical *Helicobacter* DNA in the stomach and in the non-cirrhotic liver of patients with hepatocellular carcinoma. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2003; 15: 1171–1174
- [80] Ward J.M., Anver M.R., Haines D.C., Benveniste R.E.: Chronic active hepatitis in mice caused by *Helicobacter hepaticus*. *Am. J. Pathol.*, 1994; 145: 959–968
- [81] Ward J.M., Fox J.G., Anver M.R., Haines D.C., George C.V., Collins M.J.Jr., Gorelick P.L., Nagashima K., Gonda M.A., Gilden R.V., Tully J.G., Russel R.J., Benveniste R.E., Paster B.J., Dewhirst F.E., Donovan J.C., Anderson L.M., Rice J.M.: Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel *Helicobacter* species. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1994; 86: 1222–1227
- [82] Wilson K.T., Crabtree J.E.: Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies. *Gastroenterology*, 2007; 133: 288–308
- [83] Xuan S.Y., Li N., Qiang X., Zhou R.R., Shi Y.X., Jiang W.J.: *Helicobacter* infection in hepatocellular carcinoma tissue. *World J. Gastroenterol.*, 2006; 12: 2335–2340

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.