

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ  
ИМ. АКАДЕМИКА И.Н. БЛОХИНОЙ»

*На правах рукописи*

**МОХОНОВА ЕКАТЕРИНА ВАЛЕРЬЕВНА**

**АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПАЦИЕНТОВ  
С ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ, ИНФИЦИРОВАННЫХ  
*HELICOBACTER PYLORI***

3.2.7. Иммунология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

**Новиков Виктор Владимирович,**

доктор биологических наук, профессор

Нижний Новгород – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                                                             |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>                                                                                                                                                        | <b>5</b>  |
| <b>ГЛАВА 1 – ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>                                                                                                                                      | <b>12</b> |
| 1.1 – Характеристика <i>Helicobacter pylori</i> .....                                                                                                                       | 12        |
| 1.2 – Иммунный ответ на инвазию <i>Helicobacter pylori</i> .....                                                                                                            | 17        |
| 1.3 – <i>Helicobacter pylori</i> и аутоиммунные заболевания.....                                                                                                            | 25        |
| 1.3.1 – <i>Helicobacter pylori</i> и системная красная волчанка .....                                                                                                       | 27        |
| 1.3.2 – <i>Helicobacter pylori</i> и антифосфолипидный синдром.....                                                                                                         | 29        |
| 1.3.3 – <i>Helicobacter pylori</i> и ревматоидный артрит .....                                                                                                              | 30        |
| 1.3.4 – <i>Helicobacter pylori</i> и тиреоидные аутоиммунные заболевания.....                                                                                               | 34        |
| <b>ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>                                                                                                                      | <b>37</b> |
| 2.1 – Общая схема исследования.....                                                                                                                                         | 37        |
| 2.2 – Взятие венозной крови от условно здоровых доноров и больных<br>хроническим гастритом .....                                                                            | 39        |
| 2.3 – Получение плазмы крови от условно здоровых доноров и больных<br>хроническим гастритом методом центрифугирования .....                                                 | 39        |
| 2.4 – Определение суммарных антител (IgM, IgA, IgG) к CagA <i>Helicobacter pylori</i><br>в плазме крови условно здоровых доноров методом иммуноферментного анализа<br>..... | 40        |
| 2.5 – Получение фракции мононуклеарных клеток из периферической крови<br>условно здоровых доноров, их подсчет и определение жизнеспособности.....                           | 41        |
| 2.6 – Получение неадгезивной фракции лимфоцитов из мононуклеарных клеток<br>условно здоровых доноров.....                                                                   | 42        |
| 2.7 – Получение CD4 <sup>+</sup> -клеток методом иммуномагнитной сепарации из<br>неадгезивной фракции лимфоцитов условно здоровых доноров.....                              | 42        |
| 2.8 – Взятие образцов ткани желудка от больного хроническим гастритом для<br>бактериологического исследования .....                                                         | 44        |
| 2.9 – Проведение быстрого уреазного теста в образце ткани желудка, полученного<br>от больного хроническим гастритом.....                                                    | 44        |
| 2.10 – Первичный посев биопсийного материала желудка, полученного от                                                                                                        |           |

|                                                                                                                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| больного хроническим гастритом с целью выделения <i>H. pylori</i> .....                                                                                                                    | 45        |
| 2.11 – Идентификация <i>Helicobacter pylori</i> методом времяпролетной масс-спектрометрии.....                                                                                             | 46        |
| 2.12 – Стимуляция лимфоцитов суспензиями <i>Helicobacter pylori</i> в присутствии или отсутствии антител к CD3 и CD28 в модели <i>in vitro</i> .....                                       | 47        |
| 2.13 – Определение концентрации IFN- $\gamma$ и IL-10 в супернатантах клеточных культур методом иммуноферментного анализа.....                                                             | 48        |
| 2.14 – Иммунофенотипирование Treg и Th17 в культурах лимфоцитов методом проточной лазерной цитофлуориметрии .....                                                                          | 49        |
| 2.15 – Получение образцов желудочного сока от больных хроническим гастритом .....                                                                                                          | 51        |
| 2.16 – Обнаружение ДНК <i>Helicobacter pylori</i> в образцах желудочного сока больных хроническим гастритом методом полимеразной цепной реакции в реальном времени .....                   | 51        |
| 2.17 – Иммунофенотипирование Th17 и Treg в крови больных хроническим гастритом методом проточной лазерной цитофлуориметрии.....                                                            | 53        |
| 2.18 – Экстракция нуклеиновых кислот из образцов периферической крови больных хроническим гастритом.....                                                                                   | 56        |
| 2.19 – Определение экспрессии мРНК IL-17A, FoxP3, TNF- $\alpha$ в крови больных хроническим гастритом методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени..... | 57        |
| 2.20 – Определение концентрации цитокинов и уровня аутоантител в плазме крови больных хроническим гастритом методом иммуноферментного анализа...                                           | 59        |
| 2.21 – Статистическая обработка данных .....                                                                                                                                               | 60        |
| <b>ГЛАВА 3 – РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....</b>                                                                                                                  | <b>61</b> |
| 3.1 – Реакция Т-лимфоцитов человека на сокультивирование с <i>Helicobacter pylori</i> в модели <i>in vitro</i> без участия антигенпрезентирующих клеток.....                               | 61        |
| 3.1.1 – Влияние <i>Helicobacter pylori</i> на содержание Th17 и IFN- $\gamma$ в культурах лимфоцитов.....                                                                                  | 62        |

|                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.2 – Влияние <i>Helicobacter pylori</i> на содержание Treg и IL-10 в культурах лимфоцитов.....                                                                    | 67  |
| 3.1.3 – Влияние <i>Escherichia coli</i> на содержание Treg в культурах лимфоцитов.....                                                                               | 72  |
| 3.2 – Сравнительный анализ клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных <i>Helicobacter pylori</i> ..... | 75  |
| 3.2.1 – Содержание Th17 и экспрессия мРНК IL-17A в крови больных хроническим гастритом .....                                                                         | 75  |
| 3.2.2 – Содержание Treg и экспрессия мРНК FoxP3 в крови больных хроническим гастритом .....                                                                          | 77  |
| 3.2.3 – Содержание IL-2 и IL-23 в плазме крови больных хроническим гастритом .....                                                                                   | 79  |
| 3.2.4 – Содержание TNF- $\alpha$ и экспрессия мРНК TNF- $\alpha$ в крови больных хроническим гастритом .....                                                         | 83  |
| 3.2.5 – Уровень аутоантител к ssДНК и dsДНК класса IgG в крови больных хроническим гастритом .....                                                                   | 86  |
| 3.2.6 – Уровень аутоантител к $\beta$ -2-гликопротеину I класса IgM и IgG в крови больных хроническим гастритом.....                                                 | 88  |
| 3.2.7 – Уровень ревматоидного фактора в крови больных хроническим гастритом .....                                                                                    | 90  |
| 3.2.8 – Уровень аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе в крови больных хроническим гастритом.....                                                           | 92  |
| <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....                                                                                                                                              | 95  |
| <b>ВЫВОДЫ</b> .....                                                                                                                                                  | 102 |
| <b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....                                                                                                                               | 103 |
| <b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ</b> .....                                                                                                                | 104 |
| <b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....                                                                                                                                       | 110 |

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность и степень разработанности темы исследования.**

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является одной из широко распространенных инфекций человека и ведущим этиологическим фактором хронического гастрита, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, аденокарциномы и MALT-лимфомы (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) [25; 146]. Распространение *H. pylori*-инфекции значительно различается в зависимости от географической области, возраста, этнической принадлежности и социально-экономического статуса. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что приблизительно половина населения мира инфицирована данным микроорганизмом [114; 134]. Организм хозяина реагирует на появление *H. pylori*, вырабатывая иммунный ответ, который не всегда оказывается достаточно эффективным для устранения инфекции [7]. *H. pylori* модулирует иммунный ответ и оказывает значимое влияние на гомеостаз организма хозяина. Результатом служит ограниченная воспалительная реакция, которая, с одной стороны, поддерживается на протяжении длительного времени, а с другой стороны, не обладает способностью обеспечить освобождение организма от инфекционного агента. Возникает хроническое течение хеликобактерной инфекции, часто без выраженных симптомов и проявлений, но с носительством *H. pylori* [261]. В случаях активного характера течения провоспалительных реакций, когда ослабевает модулирующее действие регуляторных Т-лимфоцитов и активируются популяции провоспалительных клеток, возникают выраженные деструктивно-воспалительные изменения слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки при сохранении инфицирования *H. pylori* [63; 111]. Длительное сохранение воспаления вызывает локальную активизацию мутагенеза, приводящую к накоплению драйверных мутаций, инициирующих развитие злокачественных новообразований слизистой желудка. Однако взаимодействие *H. pylori* и макроорганизма не ограничивается исключительно слизистой оболочкой желудочно-кишечного тракта – механизмы,

определяющие адаптацию этой бактерии к условиям жизни в человеческом организме, потенциально могут вызывать системные нарушения иммунного равновесия, провоцируя развитие разнообразных заболеваний.

В доступной литературе представлены результаты исследований, указывающих, с одной стороны, на способность *H. pylori* участвовать в инициации аутоиммунных реакций [57; 139; 166], а с другой стороны, не подтверждающих указанную роль *H. pylori* [131; 354]. Достаточно сложная и неоднозначная картина влияния *H. pylori* на иммунологические процессы организма, представленная в литературных источниках, явилась основанием для выполнения исследований, направленных на оценку иммунологических параметров у больных хроническим гастритом, инфицированных *H. pylori*. Результаты позволят как дополнить представления о роли *H. pylori* в развитии хронического гастрита в целом, так и получить информацию о возможности патогенетического влияния *H. pylori* на развитие аутоиммунных реакций у больных хроническим гастритом.

**Цель исследования** – провести анализ иммунологических параметров при инфицировании *Helicobacter pylori* в модели *in vitro* и у больных хроническим гастритом.

**Задачи исследования:**

1. Исследовать реакцию Т-лимфоцитов человека при сокультивировании с *Helicobacter pylori* в модели *in vitro* без участия профессиональных антигенпрезентирующих клеток.
2. Оценить содержание Т-хелперов 17-го типа (Th17) и Т-регуляторных клеток (Treg), а также уровень цитокинов в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*.
3. Провести сравнительный анализ в содержании аутоантител против одноцепочечной и двухцепочечной ДНК (анти-ssДНК-IgG и анти-dsДНК-IgG), ревматоидного фактора (РФ), бета-2-гликопротеина I (anti- $\beta$ -2-Glycoprotein I-IgM/IgG), тиреоглобулина (анти-ТГ) и тиреопероксидазы (анти-ТПО) в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*.

**Научная новизна.** Впервые обнаружено, что в модели *in vitro* сокультивирование *H. pylori* с CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами периферической крови условно здоровых доноров без участия профессиональных антигенпрезентирующих клеток приводит к увеличению популяции Treg, повышению концентрации интерлейкина-10 (IL-10) и интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ), при этом уровень Th17 не изменяется.

Впервые показано, что в крови больных хроническим гастритом, несмотря на повышение уровня интерлейкина-2 (IL-2) и интерлейкина-23 (IL-23) при детектированном инфицировании *H. pylori*, количество Т-лимфоцитов с фенотипами (Th17 и Treg), относительный уровень мРНК мастер-генов этих популяций (мРНК IL-17A и мРНК FoxP3), а также содержание фактора некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) и мРНК TNF- $\alpha$  не зависят от *H. pylori*-статуса.

Установлено, что в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*, содержание аутоантител против одноцепочечной и двухцепочечной ДНК,  $\beta$ -2-гликопротеина I и ревматоидного фактора не превышает верхнюю границу нормы, что указывает на отсутствие связи между инфицированием данным микроорганизмом и развитием аутоиммунных реакций, сопровождающихся повышением уровня указанных маркеров. При этом уровень аутоантител против  $\beta$ -2-Glycoprotein I-IgM/IgG достоверно выше у больных хроническим гастритом, не инфицированных *H. pylori*, в сравнении с инфицированными больными.

Обнаружено достоверное повышение, не выходящее за пределы нормальных значений, уровня аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы в крови инфицированных *H. pylori* больных хроническим гастритом в сравнении с больными, у которых *H. pylori*-инфекция отсутствует.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость работы заключается в получении новых знаний о влиянии *H. pylori* на функциональное состояние CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в условиях *in vitro* и на показатели гуморального и клеточного иммунитета больных хроническим гастритом. Продемонстрированы изменения в количестве и способности к продукции цитокинов популяции Treg клеток при сокультивировании с *H. pylori*, что отражает

способность этого микроба индуцировать супрессорные изменения и, возможно, связано с прямым воздействием патогена на Т-лимфоциты. В крови больных хроническим гастритом, инфицированных *H. pylori*, обнаружено повышенное в сравнении с неинфицированными больными содержание IL-2 и IL-23, отражающее индукцию провоспалительных процессов с возможной аутоиммунной компонентой. Однако *H. pylori*-инфекция у больных хроническим гастритом не сопровождается нарушением баланса Th17/Treg клеток и не приводит к смещению Т-хелперного ответа в сторону Th17 клеток. Анализ уровня аутоантител, являющихся маркерами системной красной волчанки, антифосфолипидного синдрома и ревматоидного артрита, не выявил различий в сравнении с нормой и между больными, инфицированными и не инфицированными *H. pylori*. В то же время аутоиммунные маркеры тиреоидных заболеваний, сохраняясь в пределах нормы, были достоверно повышены у больных – носителей *H. pylori*, что послужило возможным подтверждением роли *H. pylori* в патогенезе аутоиммунных заболеваний, ассоциированных с щитовидной железой.

*Практическая значимость работы* заключается в получении данных, свидетельствующих о целесообразности выделения *H. pylori*-положительных больных хроническим гастритом в группу риска по развитию тиреоидных аутоиммунных заболеваний. Результаты работы могут использоваться при дальнейшем изучении механизмов иммунного ответа на *H. pylori*-инфекцию, при прогнозировании возможных рисков, обусловленных инфицированием этим микроорганизмом, а также в учебном процессе в рамках курсов по иммунологии и микробиологии, читаемых для студентов биологических и медицинских специальностей.

**Методология и методы исследования.** Диссертационная работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора) на базе лаборатории иммунохимии.

Методологической основой работы стал комплексный анализ иммунологических параметров при инфицировании *Helicobacter pylori* в модели *in vitro* и у больных хроническим гастритом. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (протокол №6 от 25.11.2021). Для достижения цели исследования и решения поставленных задач были использованы современные микробиологические, иммунологические, молекулярно-генетические и статистические методы. Полученные результаты систематизированы и обсуждены в сравнении с литературными данными. Исходя из результатов исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Сокультивирование *H. pylori* и Т-лимфоцитов периферической крови условно здоровых доноров в модели *in vitro* приводит к увеличению популяции Treg и Т-хелперов 1-го типа (Th1) при неизменном количестве Th17 и усилении продукции IL-10 и IFN- $\gamma$ .
2. Содержание Treg и Th17 клеток в периферической крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*, не различается.
3. Медиана уровня аутоантител против одноцепочечной и двухцепочечной ДНК, бета-2-гликопротеина I и ревматоидного фактора в крови больных хроническим гастритом не превышает границ нормы и не зависит от инфицирования *H. pylori*.
4. В периферической крови больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом уровень IL-2, IL-23 и аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы достоверно значимо выше, чем у больных с хроническим гастритом, не ассоциированным с *H. pylori*.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Результаты получены с помощью стандартизованных методов, на выборках достаточного объема и воспроизведены в нескольких сериях экспериментов. Для оценки достоверности выявленных различий использованы адекватные статистические критерии.

Результаты экспериментов проанализированы и сопоставлены с известными клиническими данными других исследователей. Сформулированные в диссертации научные положения и выводы согласуются с известными фактами, обоснованными теоретическими решениями и экспериментальными данными и не противоречат известным положениям иммунологии.

Результаты, полученные в ходе выполнения работы, неоднократно представлялись на конференциях различного уровня: Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (Санкт-Петербург, 2018 г.); XXIII Нижегородской сессии молодых ученых (Нижний Новгород, 2018 г.); 71, 73, 76 Всероссийских школах-конференциях молодых ученых с международным участием «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2018, 2020, 2023 гг.); Всероссийской научно-практической конференции «Научное обеспечение противэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения» (Нижний Новгород, 2019 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы» к 100-летию со дня рождения академика И.Н. Блохиной (Нижний Новгород, 2021 г.); Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологии и гигиены: наука и практика. Ответы на глобальные вызовы» (Нижний Новгород, 2022 г.); XV Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (Москва, 2023 г.).

**Личный вклад автора.** Автор принимал непосредственное участие в выполнении всех этапов диссертационного исследования. Создание основной идеи, планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, целей, задач работы, определение методологии диссертационного исследования, интерпретация и анализ полученных результатов, а также подготовка публикаций по теме диссертации осуществлялась соискателем совместно с научным руководителем – доктором биологических наук, профессором В.В. Новиковым. Анализ, систематизация, обобщение литературных данных по изучаемой

проблеме, экспериментальные исследования, статистическая обработка данных, оформление рукописи диссертации и автореферата, формулировка положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, представление результатов в виде докладов на конференциях осуществлялись соискателем лично.

#### **Внедрение результатов исследования в практику.**

Создан и внедрен на местном уровне (ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора) результат интеллектуальной деятельности (ноу-хау) «Способ культивирования *Helicobacter pylori*», который используется в работе лаборатории иммунохимии.

Основные результаты диссертационного исследования и методологические подходы внедрены в научно-исследовательскую работу лаборатории иммунохимии, а также используются в комплексе обследования пациентов с хроническим гастритом, проходящих лечение в Клинике инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.

**Публикации по теме диссертационной работы.** Результаты диссертации опубликованы в 17 печатных работах, из них 4 статьи в научных изданиях, рецензируемых ВАК по специальности 3.2.7. Иммунология, и/или индексируемых в Scopus, RSCI .

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 149 страницах, содержит 3 таблицы и 19 рисунков, включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений и список литературы (366 источников, из них 27 отечественных и 339 иностранных).

## ГЛАВА 1 – ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 – Характеристика *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* – это мелкие, грамнегативные, микроаэрофильные, неспорообразующие бактерии, по форме напоминающие спиралевидные изогнутые палочки [311]. Кроме того, довольно часто встречаются S-образные и достаточно редко U-образные и V-образные формы этих микробов. При неблагоприятных условиях *H. pylori* могут трансформироваться в кокковые формы, у которых редуцируется обмен веществ, снижается ферментативная активность и репродуктивная способность, но при этом они становятся устойчивыми к внешним воздействиям, в том числе к действию антибактериальных препаратов [186; 189; 241]. Способность трансформироваться из спиральной формы в кокковую является одним из механизмов, который использует патоген в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) хозяина [293]. Попадая в благоприятные условия, некоторые кокковые формы *H. pylori* могут вновь колонизировать слизистую оболочку желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) [23; 302].

Важным фактором, способствующим эффективной колонизации желудка, является высокая подвижность бактерии, связанная с наличием жгутиков [10; 135; 236]. На одном из полюсов *H. pylori* располагаются от 2 до 6 жгутиков, представленные у разных штаммов разнообразными белковыми комплексами из флагеллина (FlaA, FlaB, FlaD, FlgK) [45; 186]. С помощью жгутиков бактерии как бы ввинчиваются внутрь слизистого слоя, тем самым обеспечивая себе менее кислое окружение в сравнении с просветом желудка [107; 109; 236; 272]. Мутантные штаммы *H. pylori*, у которых отсутствуют жгутики, не способны колонизировать слизистую желудка [276; 303].

*H. pylori* имеет большой набор (около 64) наружных мембранных белков OMPs (Outer membrane proteins), необходимых для прикрепления к клеткам хозяина [187; 250; 289]. К наиболее известным адгезинам относят: BabA (Lewis

blood group antigen-binding adhesion), SabA (sialic Lewis X antigen-binding adhesion), AlpA (Adherence-associated lipoprotein A), AlpB (Adherence-associated lipoprotein B), HopZ (*H. pylori* outer protein Z), OipA (Outer inflammatory protein A), HopQ (*H. pylori* outer protein Q), которые распознают определенные фрагменты желудочного эпителия [99; 352]. Мишенями для BabA служат LeB (Fucose residues of Lewis-like antigens type B), а для SabA – sLeX (Sialo-Lewis X-sphingolipid), экспрессируемые на эпителиальных клетках желудка [9; 145; 183; 203; 309]. В результате связывания BabA с LeB происходит активация T4SS (Type four secretion system), по которой в эпителиоциты доставляются эффекторные белки [145; 270; 319; 326; 332]. В то же время SabA может взаимодействовать и с другими молекулами хозяина, такими как ламинин и фибронектин [203]. AlpA и AlpB также являются белками внешней мембраны *H. pylori*, которые участвуют в прикреплении бактерии к эпителиальным клеткам желудка и индуцируют экспрессию провоспалительных цитокинов (IL-6 и IL-8) [126]. Предполагается, что рецептором для AlpA и AlpB является ламинин (компонент внеклеточного матрикса желудочного эпителия), а рецептор для HopZ до сих пор не идентифицирован [71; 91; 132; 280; 294]. В то же время у *H. pylori* обнаружен внешний воспалительный белок OipA, который ведет себя как адгезин и участвует в воспалении слизистой желудка за счет секреции IL-8 [104; 179; 212; 273]. HopQ – один из важных белков внешней мембраны *H. pylori*, который связывается с молекулами клеточной адгезии CEACAMs (Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules) на поверхности клетки хозяина и обеспечивает транслокацию CagA (Cytotoxin-associated gene A) в эпителиальные клетки желудка, что приводит к секреции воспалительного цитокина IL-8 [138; 335].

Важным фактором патогенности *H. pylori* является способность продуцировать никель-зависимый металлофермент – уреазу, которая разрушает проникающую в просвет желудка через стенку капилляров сосудистого русла мочевины [45; 303]. При этом образуется углекислый газ и аммиак, нейтрализующий соляную кислоту желудочного сока и создающий вокруг *H. pylori* наиболее благоприятную для его существования локальную среду с pH 7,0 [189;

276]. Недостаточная доступность никеля в цитоплазме или избыточное его поступление ухудшают активацию уреазы и выживание патогена. Штаммы *H. pylori*, дефектные в отношении продукции уреазы, не способны колонизировать слизистую желудка и двенадцатиперстной кишки [8; 67; 262; 357]. В то же время аммиак, образующийся в результате гидролиза мочевины под действием уреазы, способен повреждать эпителиальные клетки желудка и разрушать межклеточные контакты, а также взаимодействовать с нейтрофилами и макрофагами, активируя в них образование активных форм кислорода, которые могут пагубно воздействовать на слизистую оболочку желудка [45; 238; 269; 324]. Уреаза, локализованная на поверхности бактерий, способна связываться с МНС II (Major histocompatibility complex II class) на эпителиоцитах желудка, и это взаимодействие опосредуется субъединицей UreA (Urease subunit A), что приводит к апоптозу желудочных клеток [64; 269; 333]. В свою очередь, субъединица Ure B (Urease subunit B) связывается с молекулой CD74 (Cluster of differentiation 74), экспрессирующейся на желудочном эпителии, и индуцирует активацию NF-κB (Nuclear factor kappa B) и выработку IL-8 [146].

В геноме практически всех штаммов *H. pylori* присутствуют различные подтипы и аллельные комбинации вакуолизирующего цитотоксин-ассоциированного гена A, продуктом которого является VacA (Vacuolating cytotoxins) [46]. Данный токсин взаимодействует с рецепторами желудочных эпителиоцитов и посредством эндоцитоза проникает внутрь клетки [25; 253; 315]. Поглощенный клетками токсин встраивается в мембрану эндосом и активирует транспорт ионов хлора и воды внутрь вакуоли. Из-за разницы осмотического давления в вакуоли поступает жидкость, что приводит к их набуханию, слиянию, разрыву клеточной мембраны и гибели эпителиоцита [94; 221]. Также сообщалось, что VacA связывается с митохондриями, аппаратом Гольджи и эндоплазматическим ретикулумом [252]. Важной внутриклеточной мишенью для VacA являются митохондрии. Токсин встраивается во внутреннюю митохондриальную мембрану, в результате чего нарушается энергетический обмен и синтез АТФ (аденозинтрифосфорная кислота), далее клетка-мишень погибает

[127; 296]. Из-за воздействия VacA в париетальных клетках желудка снижается выработка соляной кислоты, что, с одной стороны, способствует выживанию патогена, а с другой стороны, снижает активность некоторых желудочных ферментов, что приводит к развитию гипоацидного гастрита и диспепсии. Необходимо отметить, что VacA свое цитотоксическое действие может оказывать не только на эпителиальные клетки желудка, но и на клетки-мишени различных типов (лимфоциты, макрофаги, эозинофилы, тучные и дендритные клетки), подавляя активацию специфических иммунных клеток и ингибируя выработку цитокинов [3; 293].

Важным свойством *H. pylori* является присутствие в геноме острова патогенности Cag-PAI (Cytotoxin-associated gene Pathogenicity Island), который кодирует бактериальную систему секреции IV типа и эффекторный белок CagA [61; 119; 348]. Поскольку не все штаммы *H. pylori* способны экспрессировать CagA, их подразделяют на Cag PAI-положительные и Cag PAI-отрицательные [37]. Для действия CagA требуется непосредственный контакт *H. pylori* с эпителиальной клеткой, в ходе которого токсин вводится внутрь эпителиоцита с помощью T4SS. [189; 287]. Таким образом, специализированные компоненты системы секреции IV типа (CagL и CagH) связываются с интегриновыми рецепторами на эпителиальных клетках желудка и участвуют в транслокации белка CagA, последний локализуется на плазматической мембране эпителиоцитов и подвергается фосфорилированию тирозина по мотиву Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) на С-конце молекулы протеинкиназами Src (Sarcoma virus kinase) и Abl (Abelson kinase) клетки-хозяина [32; 80; 149; 155; 355]. Фосфорилированная форма CagA активирует ERK1/2 (Extracellular signal-regulated kinase1/2) в эпителиоцитах, что приводит к реорганизации цитоскелета (клетки удлиняются и приобретают фенотип «колибри») [35; 189]. В то же время нефосфорилированный CagA способен нарушать контакты между эпителиальными клетками желудка за счет связывания с каркасным и адгезионным белками ZO-1 (Zona occludens protein) и JAM (Junction adhesion molecule) соответственно [134; 147; 310]. Необходимо отметить, что помимо CagA по T4SS в желудочный эпителий может доставляться пептидогликан

*H. pylori*, который распознается внутриклеточным цитоплазматическим рецептором NOD1 (Nucleotide-binding oligomerization domain 1), ДНК *H. pylori*, которая распознается TLR9 (Toll-like receptor 9), а также предшественники гептозы липополисахарида *heptose-1,7-bisphosphate* и *ADP-glycero- $\beta$ -D-manno heptos*), которые взаимодействуют с ALPK1 (Alpha Kinase 1), что приводит к активации NF- $\kappa$ B и синтезу провоспалительных цитокинов [40; 42; 177; 267; 277].

У *H. pylori* описан белок IceA (Induced by contact with epithelium), кодируемый геном *iceA*, который отвечает за взаимодействие бактерии с эпителием желудка. Данный белок присутствует практически у всех штаммов *H. pylori*. Он существует в двух аллельных вариантах: *iceA1* и *iceA2*. Ген *iceA1*, ассоциирован с язвенной болезнью желудка, а ген *iceA2* ассоциирован с хроническим гастритом [309].

В повреждении эпителия желудка также может участвовать цитоплазматический белок, активирующий нейтрофилы, HP-NAP (*Helicobacter pylori*-neutrophil-activating protein). При разрушении микроба HP-NAP способен мигрировать через эпителиальный барьер в собственную пластинку желудка, где стимулирует нейтрофилы и моноциты к выработке активных форм кислорода и азота, а также образованию IL-12 и IL-23 [69; 338]. Регуляторные цитокины IL-12 и IL-23 играют важную роль в Т-клеточно-опосредованных реакциях при воспалении. Под действием IL-12 и IL-23 активируются Т-лимфоциты, которые синтезируют IFN- $\gamma$  – ключевой цитокин, играющий важную роль в поляризации иммунного ответа в сторону Th1 клеток в слизистой оболочке желудка пациентов, инфицированных *H. pylori* [345; 359; 363].

К факторам вирулентности *H. pylori* относят протеазу HtrA (High-temperature requirement A), которая локализуется в периплазме бактерий и обеспечивает их устойчивость к высоким температурам и pH [43; 160]. *H. pylori* активно секретируют HtrA во внеклеточную среду, где она воздействует на клетки хозяина. Под воздействием HtrA происходит разрушение белков межклеточных контактов эпителиальных клеток (*occludin*, *claudin-8* и *E-cadherin*), благодаря чему микроб проникает в межклеточные пространства [160; 205; 286]. Все штаммы *H. pylori*

содержат HtrA [81; 82; 136; 160; 283]. В то же время HtrA участвует в удалении поврежденных высокой температурой белков [253].

В везикулах внешней мембраны OMVs (Outer Membrane Vesicle) *H. pylori* располагается GGT (Gamma-Glutamyl Transpeptidase) – фермент, который взаимодействует с эпителиальными клетками желудка и катализирует превращение в них глутамина и глутатиона в глутамат, последний используется бактериями в азотном и углеводном обмене. В то же время под воздействием GGT образуются активные формы кислорода, в частности перекись водорода и аммиак, которые участвуют в повреждении желудочного эпителия. GGT активирует в эпителиоцитах провоспалительные функции за счет избыточной секреции IL-8 [71; 129].

## **1.2 – Иммунный ответ на инвазию *Helicobacter pylori***

Оказавшись в полости желудка, *H. pylori* с помощью уреазы нейтрализует соляную кислоту, а затем внедряется в слизистый слой, покрывающий эпителий [318]. Большинство бактерий располагаются свободно внутри слоя слизи, лишь некоторые из них (приблизительно около 20 %) способны прикрепляться к клеткам желудка [17]. В то же время в слизи присутствуют муцины, которые взаимодействуют с *H. pylori*, тем самым ограничивая его связывание с поверхностью желудочного эпителия. Несмотря на подобное положение вещей, *H. pylori* вырабатывает протеолитические ферменты, разрушающие муцины, что позволяет микробу в дальнейшем прикрепляться с помощью белков-адгезинов к апикальной поверхности эпителиальных клеток и участвовать в их повреждении [19; 79; 87; 120; 248]. При успешной колонизации *H. pylori* продуцирует множество различных факторов вирулентности (включая два известных цитотоксина CagA и VacA), ответственных за повреждение тканей хозяина [39; 45; 250]. Из поврежденных клеток высвобождаются «сигналы опасности», называемые молекулярными паттернами, связанными с повреждением, DAMPs (Damage-associated molecular pattern), которые совместно с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns)

принимают участие в воспалении [74; 133]. PAMPs и DAMPs взаимодействуют с мембранными и цитозольными паттерн-распознающими рецепторами PRRs (Pattern-recognition receptors), которые играют важную роль в активации врожденных и адаптивных иммунных реакций, направленных на борьбу с патогеном [84; 223]. К PRR относят: TLRs (Toll-like receptors), NLRs (NOD-like receptors), CLRs (C-type lectin receptors), RLRs (RIG-I-like receptors) [245]. У человека известно десять Toll-подобных рецепторов, которые участвуют в распознавании различных PAMPs *H. pylori* [229]. В слизистой оболочке желудка, инфицированной *H. pylori*, наиболее интенсивно экспрессируется TLR2 [164; 343], который является лигандом для бактериального ЛПС (липополисахарида) [196; 217; 345; 350]. В то же время, по мнению некоторых авторов, ЛПС *H. pylori* также может распознаваться с помощью TLR4, хотя роль последнего в этом процессе является предметом дискуссий, что, вероятно, зависит как от иммунной системы хозяина, так и от различий штаммов *H. pylori* [133; 292; 313; 344; 345]. Более того, сообщалось, что секретируемый *H. pylori* белок HP0175 распознается желудочными TLR4, экспрессия которых значительно повышается при *H. pylori*-инфекции [114; 182]. В распознавании флагеллина большинства бактериальных клеток принимают участие TLR5, экспрессирующиеся на эпителиоцитах желудка [30]. В исследованиях нескольких коллективов авторов сообщалось, что флагеллин *H. pylori* активирует ядерный фактор транскрипции NF-κB и стимулирует синтез IL-8 и TNF-α, принимающих участие в воспалении [216; 342]. В то же время в литературе встречаются сообщения, демонстрирующие, что флагеллин, входящий в состав жгутиков *H. pylori*, не распознается TLR5 желудочного эпителия, поскольку имеет измененную структуру в N-концевом домене D1, который отвечает за связывание с TLR5 [95; 116; 325]. В недавних исследованиях было обнаружено, что лигандом для TLR5 являются белки CagY и Cag L, являющиеся компонентами системы секреции IV типа, которые активируют NF-κB для последующего синтеза провоспалительных цитокинов и привлечения в очаг инфекции иммунных клеток [325; 346]. Более того, *H. pylori* с помощью T4SS способен доставлять в клетки хозяина собственную ДНК, которая взаимодействует

с TLR9 и может стимулировать как провоспалительные, так и противовоспалительные реакции [277; 358]. В недавних исследованиях было продемонстрировано, что TLR7 и TLR8 играют важную роль при инфицировании *H. pylori*, поскольку способны распознавать бактериальную РНК (рибонуклеиновую кислоту), вызывая экспрессию интерферона I типа [170].

Желудочные эпителиоциты экспрессируют цитозольные NOD1-рецепторы, с которыми взаимодействует пептидогликан *H. pylori*, доставляемый в клетки-хозяина с помощью T4SS или через OMVs [180; 267], что приводит к активации NF-κB и выработке антимикробных пептидов HBD (human β-defensin) эпителиоцитами [266; 268]. Было показано, что желудочные эпителиоциты в ответ на *H. pylori* экспрессируют cathelicidin LL-37, HBD1, HBD2 и HBD3 [70; 117; 128; 199]. HBD связываются с отрицательно заряженными молекулами ЛПС микроорганизма и проявляют бактерицидную активность [197; 201]. Однако стоит отметить, что штаммы *H. pylori*, у которых присутствуют ферменты LpxE и LpxF, способны видоизменять ЛПС путем удаления отрицательно заряженных фосфатных групп дисахаридной цепи липида A, что затрудняет связывание антимикробных пептидов с инфектантом, и в конечном итоге способствует колонизации слизистой желудка. Кроме того, *H. pylori* способен управлять сигнальными каскадами, которые регулируют экспрессию антимикробных пептидов. Было показано, что CagA и CGT подавляют синтез HBD3 в эпителиальных клетках желудка [153; 334]. R.P. Semper и соавт. [156] продемонстрировали, что *H. pylori*-инфекция приводит к зависимому от NLRC4 инфламмасомы созреванию IL-18 в желудочном эпителии, что активирует передачу сигнала NF-κB и снижает экспрессию конститутивно экспрессируемого HBD1. Таким образом, β-дефензины взаимодействуют с *H. pylori* намного слабее, чем с большинством других микроорганизмов [366]. Контакт *H. pylori* или его структур с Toll-подобными и NOD-подобными рецепторами слизистой желудка запускает сигнальный каскад с вовлечением ряда адаптерных белков, что приводит к активации ядерных факторов транскрипции (NF-κB, IRF, AP-1) и синтезу провоспалительных цитокинов и хемокинов с последующей активацией

нейтрофилов и мононуклеарных клеток [347; 361]. В ответ на инфекцию *H. pylori* желудочные эпителиоциты, макрофаги и дендритные клетки экспрессируют IL-8 – мощный хемокин для привлечения нейтрофилов в очаг инфекции [38]. В то же время через поврежденный эпителиальный барьер в собственную пластинку желудка мигрируют разнообразные компоненты *H. pylori*, которые также участвуют в запуске воспалительных реакций посредством активации клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета [178; 338]. Было показано, что мигрирующие в очаг воспаления макрофаги способны активироваться бактериальной уреазой, ЛПС, Hsp 60 (Heat shock protein 60), HP-NAP, а также гептозными метаболитами *H. pylori*, что в конечном итоге приводит к запуску воспалительных реакций [159; 224; 338]. Так, уреазы способна проникать в собственную пластинку желудка, где стимулирует макрофаги к выработке NO (Nitric oxide) [51; 98], а белок теплового шока Hsp 60 в условиях слизистой может индуцировать макрофаги к высвобождению IL-6 [158; 191]. Более того, недавно было обнаружено, что *H. pylori* при помощи T4SS доставляет в макрофаги метаболиты гептозы, которые участвуют в активации NF-κB и экспрессии IL-8 [92]. В то же время, помимо IL-6 и IL-8, макрофаги секретируют IL-1β, IL-10, IL-12 и IL-23 [88].

В ответ на HP-NAP нейтрофилы активируются с высвобождением IL-8, а в ответ на FlaA – экспрессией IL-1β и активных форм кислорода ROS (Reactive oxygen species) и азота RNS (Reactive nitrogen species) [178; 337; 355]. В то же время в недавнем исследовании сообщалось, что HP-NAP способен также индуцировать образование нейтрофильных внеклеточных ловушек NETs (Neutrophil extracellular traps) [76; 178]. Основная функция нейтрофилов и макрофагов заключается в уничтожении вторгшихся патогенов путем фагоцитоза или высвобождения активных форм кислорода [265; 275]. Однако следует отметить, что *H. pylori* запускает механизмы, которые, с одной стороны, ограничивают количество активных фагоцитов, а также препятствуют фагоцитозу, а с другой стороны, защищают от пагубного воздействия продуктами окислительного стресса. *H. pylori* ингибирует размножение макрофагов, нарушая работу генов, связанных с

клеточным циклом, а также индуцирует апоптоз макрофагов ERK-зависимым путем [163; 322]. Более того, было обнаружено, что *H. pylori* CagA-зависимым образом влияет на активацию нейтрофилов, подавляя экспрессию активатора нейтрофильной протеазы CtsC (Cathepsin C) в эпителиальных клетках желудка [36]. Кроме того, *H. pylori* нарушает полярность нейтрофилов, что приводит к нарушению хемотаксиса по отношению к IL-8 и снижению скорости миграции [193]. Другой механизм персистенции *H. pylori* включает ингибирование фагоцитоза. Так, бактериальная уреазы способна оказывать прямое ингибирующее действие на фагоцитоз, а аммиак, образующийся в результате гидролиза мочевины под действием внеклеточной уреазы, участвует в повреждении мембраны фагоцитов и снижает их активность [195]. Кроме того, гемагглютинины, экспрессирующиеся *H. pylori*, тормозят процессы адгезии, что также препятствует фагоцитозу [297]. *H. pylori* может нарушать работу фагоцитарных механизмов уничтожения и оказывается хорошо подготовленным к выживанию в условиях высвобождения активных форм кислорода и азота. *H. pylori* нарушает работу NADPH-oxidases (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidases) в нейтрофилах человека, в результате чего супероксид-анионы накапливаются не внутри фагосом, а во внеклеточном пространстве [154]. В то же время созревание фагосом ингибируется VacA и CGT *H. pylori*. [150; 365]. В обезвреживании активных форм кислорода принимают участие ферменты *H. pylori*. Супероксиддисмутаза способствует расщеплению супероксида до кислорода, а каталаза преобразует перекись водорода в воду и молекулярный кислород [65; 68]. Аргиназа ингибирует выработку оксида азота, что в конечном итоге приводит к снижению бактерицидной активности макрофагов [51; 143; 144], а ферменты NO-редуктаза (NoRH) и GSNO-редуктаза (FtxA) расщепляют токсичный оксид азота и химически активный азотистый промежуточный продукт GSNO (S-nitrosoglutathione) [124; 157]. Таким образом, нейтрофилы и макрофаги, несмотря на успешную активацию, не способны эффективно справиться с *H. pylori*-инфекцией, однако продолжают участвовать в дальнейших иммунных реакциях, высвобождая высокие уровни провоспалительных цитокинов [38].

В ответ на *H. pylori* желудочный эпителий экспрессирует хемокины, необходимые для привлечения в очаг инфекции DCs (Dendritic cells), последние распознают *H. pylori* и определяют дальнейшие адаптивные иммунные реакции. Активированные DCs высвобождают IL1- $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 и IL-23, которые совместно с презентацией антигена выступают в роли микроокружения и необходимы для дифференцировки в различные подмножества эффекторных клеток [88].

Врожденный иммунный ответ не всегда оказывается достаточно эффективным для устранения инфекции, поэтому важное место в борьбе с *H. pylori* занимают процессы адаптивного иммунитета [242]. Особый вклад в борьбу с патогеном вносит гуморальный иммунный ответ. Антитела, синтезируемые В-лимфоцитами в ответ на *H. pylori*, играют важную роль в формировании местных защитных механизмов. У людей, инфицированных *H. pylori*, слизь желудка содержит преимущественно мономерный IgA (иммуноглобулин А) и небольшие количества sIgA (секреторный иммуноглобулин А) [93; 102]. Предполагается, что при повреждении эпителия слизистой оболочки желудка мономерный IgA обходит секреторную транспортную систему, вследствие чего возникает дефицит sIgA, который необходим для предотвращения связывания микроба с поверхностью желудочного эпителия. Ограниченная продукция sIgA в желудке не может полностью устранить персистирующую *H. pylori*-инфекцию, поэтому защитная функция IgA оказывается недостаточной [11; 24; 93; 102; 260]. Наличие IgE (синтезируется плазмócитами собственной пластинки слизистой) также связано с иммунным ответом на *H. pylori*-инфекцию [4; 118; 206]. Микроорганизмы, которые преодолели защитный барьер, создаваемый IgA, связываются с IgE на поверхности тучных клеток с высвобождением последними медиаторов и хемотаксических факторов, обеспечивающих приток нейтрофилов и макрофагов. Таким образом, повышенный уровень IgE указывает на выраженность местной защиты слизистой оболочки от персистирующих патогенов и их секретируемых антигенов, обеспечивая противоинфекционный иммунитет [5; 13; 26].

В то же время у всех инфицированных *H. pylori* лиц развивается клеточный иммунный ответ, в ходе которого наивные CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты выбирают, по какому пути пойдет их дифференцировка в ту или иную субпопуляцию Т-хелперов [89; 260]. Важная роль принадлежит цитокиновому окружению [161]. Рекрутированные в слизистую оболочку желудка нейтрофилы и макрофаги в ответ на НР-НАР экспрессируют IL-12 и IL-23, которые необходимы для поляризации лимфоцитов в сторону Th1 ответа [359]. Активация Th1 клеток сопровождается экспрессией ключевого цитокина IFN- $\gamma$ , созревание которого зависит от IL-12p70 и ядерного фактора транскрипции T-bet. [63; 90]. IFN- $\gamma$  является одним из сильнейших медиаторов *H. pylori*-ассоциированного воспаления, повышенная экспрессия которого приводит к атрофии слизистой оболочки желудка [338; 345; 359; 363]. Наряду с IFN- $\gamma$  важная роль при *H. pylori*-ассоциированных гастритах отводится интерлейкину 17A (IL-17A) – ключевому цитокину Th17-клеток. IL-17A, с одной стороны, участвует в защите организма от внеклеточных, бактериальных и грибковых инфекций, но в то же время излишняя его экспрессия ассоциирована с аутоиммунными заболеваниями [85; 111; 234; 274]. Дифференцировка CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов в популяцию Th17 зависит от IL-23, IL-1 $\beta$ , IL-6, которые секретируются в ответ на *H. pylori*-инфекцию. Из литературных сообщений известно, что в культурах лимфоцитов из собственной пластинки желудка лиц, инфицированных *H. pylori*, наблюдается повышенная экспрессия IL-17A [208]. В ответ на IL-17A желудочный эпителий и лимфоциты собственной пластинки желудка синтезируют IL-8 – важный медиатор при *H. pylori*-ассоциированном гастрите, поскольку этот цитокин активирует нейтрофилы и вызывает их хемотаксис в очаг воспаления [16; 200]. Было показано, что экспрессия IL-17A положительно коррелирует с уровнем IL-8 в биоптатах слизистой желудка *H. pylori*-инфицированных лиц. В то же время IL-17A стимулирует экспрессию IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  как иммунными, так и неиммунными клетками и индуцирует фибробласты к синтезу матриксной металлопротеиназы, последняя способна расщеплять различные компоненты экстрацеллюлярного матрикса, участвуя таким образом в повреждении слизистой [75; 356]. Нокаут гена IL-23 ведет к подавлению

продукции IL-17A в СОЖ инфицированных *H. pylori* мышей и обильной колонизации патогена, но при этом к ослаблению воспаления [209]. Нокаут гена IL-17A и его рецептора ведет к ослаблению инфильтрации нейтрофилами слизистой оболочки желудка [207].

Th1 и Th17 способны вызывать воспаление слизистой оболочки желудка на разных стадиях. На ранней стадии инфекции индуцируется Th17 иммунный ответ, на более поздней – Th1 ответ. Поскольку популяция Th17 является гетерогенной, то при определенных условиях в ней могут встречаться Th17/Th1-клетки, которые продуцируют одновременно IL-17A и IFN- $\gamma$  [44; 323]. По данным нескольких исследований было продемонстрировано, что Th17/Th1-клетки обнаруживаются в биоптатах больных с язвенной болезнью желудка, однако у лиц, не инфицированных *H. pylori*, данные клетки отсутствуют [130].

Помимо провоспалительных Th1 и Th17 клеток *H. pylori* способен индуцировать Т-регуляторный ответ, который направлен на подавление чрезмерной активности со стороны Th1 и Th17 клеток [77; 161]. Для дифференцировки наивных CD4<sup>+</sup>-клеток в сторону Treg необходимы цитокины TGF- $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ ), IL-10 и IL-18, экспрессируемые DCs [100; 103]. Специфическим маркером Treg служит экспрессия гена Foxp3 (Forkhead-Box Protein 3), который отвечает за развитие Treg клеток и их супрессорную функцию. Белок Foxp3 является ключевым фактором транскрипции, который контролирует развитие и функцию Treg и экспрессируется главным образом в их ядре [111; 274]. Различают натуральные или естественные Treg (nTreg). Естественные Treg клетки подавляют активацию и экспансию аутореактивных Т-лимфоцитов, избежавших селекции в тимусе и вышедших на периферию, а также контролируют толерантность к собственным антигенам [121; 123; 266]. Содержание nTreg у человека составляет приблизительно 1–5 % от общего числа CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови и повышается с возрастом без существенных изменений их функциональной активности [78; 339]. Повышенное содержание натуральных Т-регуляторных клеток способствует развитию иммунодефицитных состояний, хронизации воспалительных процессов, развитию злокачественных

новообразований. В свою очередь, сниженная генерация nTreg-клеток может приводить к развитию патологий аутоиммунного характера [27].

Помимо nTreg, существует популяция индуцированных Т-регуляторных клеток (iTreg), возникших на периферии под влиянием антигенного стимула. Супрессорное действие iTreg опосредуется через вырабатываемые цитокины, которые способны ограничивать эффекторные функции Т-лимфоцитов и, таким образом, ослаблять воспаление в слизистой оболочке желудка [123; 251; 321]. Нарушение как количественного, так и функционального баланса Th17/Treg и смещение этого соотношения в сторону повышения Th17 или в сторону снижения Treg клеток, может свидетельствовать о развитии аутоиммунных реакций [247; 279].

Необходимо также отметить, что в последние годы несколько исследований выявили важную роль CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в иммунном ответе на инфекцию *H. pylori*. Значительная часть Т-клеток, которые инфильтрируют желудок мышей, инфицированных *H. pylori*, являются CD8<sup>+</sup> и экспрессируют высокие уровни IFN- $\gamma$  [190; 231]. Koch и соавт. [73] продемонстрировали, что популяции CD8<sup>+</sup> Т-клеток, обладающих фенотипом тканерезидентной памяти, проникают в слизистую оболочку желудка вскоре после заражения *H. pylori* и способствуют борьбе с микробом на ранней стадии заражения, проявляя антигенспецифические эффекторные свойства. Однако по мере прогрессирования инфекции CD8<sup>+</sup> Т-клетки памяти сменяются на CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты, что указывает на изменение иммунного ответа во время фазы хронической инфекции.

### **1.3 – *Helicobacter pylori* и аутоиммунные заболевания**

В настоящее время активно ведутся дискуссии о возможной связи между инфицированием организма агентами бактериальной и вирусной природы и развитием разнообразных аутоиммунных реакций [34; 264; 301]. В группу инфекционных агентов, которые могут служить потенциальными факторами развития аутоиммунных заболеваний, включен *Helicobacter pylori* [139; 184], который в то же время является основной причиной хронического гастрита и основным фактором риска рака желудка [96; 139]. Предположение о возможной

роли *H. pylori* в качестве триггера развития аутоиммунных заболеваний возникло в связи со способностью микроба оказывать постоянное и серьезное воздействие на иммунную систему человека [33; 140]. В литературе активно обсуждаются несколько механизмов патоген-индуцированного аутоиммунитета, однако большинство из них остаются гипотезами и требуют тщательного изучения [33; 137]. Одним из предполагаемых механизмов, с помощью которого *H. pylori* способен участвовать в развитии разнообразных аутоиммунных реакций, является феномен молекулярной мимикрии – способность бактерии «копировать» антигенную структуру какого-либо белка человека. Антитела, вырабатываемые против белков-антигенов микроорганизма, могут перекрестно реагировать с белками различных органов и тканей человека, приводя к их повреждению [271]. Так,  $\beta$ -субъединица уреазы у *H. pylori* в высокой степени имеет сходства с  $\beta$ -субъединицей  $H^+/K^+$ -АТФазы в париетальных клетках желудка, а плазминоген-связывающий белок *H. pylori* (PBP-plasminogen-binding protein) имеет гомологию с компонентом фермента UBR2 (ubiquitin-protein ligase E3 component n-recognin 2) в ацинарных клетках поджелудочной железы, что в конечном итоге может приводить к аутоиммунной реакции и, как следствие, к развитию аутоиммунного гастрита и аутоиммунного панкреатита [56; 204; 256]. В то же время антитела могут вырабатываться в ответ на антигены Льюиса (Lex, Ley и Lex/y), которые обнаруживаются в структуре ЛПС многих штаммов *H. pylori*, а также экспрессируются на клетках человека [282; 353]. В свою очередь, антитела, вырабатываемые против белка теплового шока (Hsp B) *H. pylori*, могут вступать в перекрестную реакцию с человеческим Hsp60 [52; 86], а антитела, экспрессирующиеся против CagA микроба, могут перекрестно реагировать с GPI и GPII (Glycoprotein I и II) тромбоцитов [112; 257]. Кроме того, тромбоциты экспрессируют антигены Льюиса, которые также могут быть распознаны антителами против Le, выработка которых усиливается в ответ на *H. pylori*-инфекцию [316]. Спектр аутоиммунных заболеваний, в патогенезе которых определенная роль отводится *H. pylori*-инфекции, достаточно широк и пополняется данными как в плане патогенеза, так и клинических составляющих.

Далее мы рассмотрим отдельные аутоиммунные состояния, как органоспецифические, так и неорганоспецифические, которые имеют экспериментальную базу, как положительную, так и отрицательную, в отношении инфекции *H. pylori*.

### 1.3.1 – *Helicobacter pylori* и системная красная волчанка

Среди наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний в группу лидеров входит системная красная волчанка (СКВ) – системное ревматическое аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующиеся аномальной продукцией аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и развитием иммуновоспалительного повреждения внутренних органов [108; 239; 244]. Важное диагностическое и прогностическое значение при СКВ еще до появления клинических признаков обострения заболевания имеет определение уровня антинуклеарных антител (АНА), а также аутоантител против одноцепочечной и двуцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), которые не только являются диагностическими маркерами заболевания, но и непосредственно вызывают повреждение органов и тканей [281]. В литературе встречаются неоднозначные и противоречивые данные, касающиеся способности *H. pylori* участвовать в инициации аутоиммунных реакций, ассоциированных с СКВ. В двух работах было продемонстрировано, что очищенная уреaza *H. pylori* стимулирует В1а-лимфоциты мышей к продукции аутоантител против ssДНК, которые потенциально могли бы быть вовлечены в развитие аутоиммунных реакций [211; 285]. М. Ram и соавт. [184] обнаружили у лиц с СКВ и *H. pylori*-инфекцией достоверно значимое повышение аутоантител против ssДНК в сравнении с лицами с СКВ, у которых отсутствовала *H. pylori*-инфекция.

Эпидемиологические исследования распространенности *H. pylori*-инфекции у лиц с СКВ, а также у населения в целом показали противоречивые результаты. Так, Y. Showji и соавт. [171] и L. Kalabay и соавт. [305] сообщили, что обнаружение антител против *H. pylori* у лиц с СКВ аналогично таковому у здоровых людей. В то же время С. Mendoza-Pinto и соавт. [169] обнаружили, что частота инфицирования

*H. pylori* у лиц с СКВ достигает 39 % и представляется низкой в сравнении с распространенностью среди населения в целом в японском [165] и мексиканском исследованиях [29]. Связь между инфекцией *H. pylori* и аутоиммунными заболеваниями имеет множество аспектов и направлений [307]. Несмотря на имеющиеся в литературе данные, демонстрирующие потенциальную роль *H. pylori* выступать в качестве триггера в развитии аутоиммунных заболеваний, М. Versini и соавт. [354] выдвинули гигиеническую гипотезу, согласно которой *H. pylori* может также оказывать иммуномодулирующее действие на иммунную систему, что приводит к защитному эффекту от иммуноопосредованных состояний, таких как аллергия и аутоиммунные заболевания. А.Н. Sawalha и соавт. [53] провели масштабное исследование, в котором обнаружили, что частота инфицирования *H. pylori* у афроамериканских женщин с СКВ была достоверно ниже (38,1 %), чем в контрольной группе условно здоровых лиц (60,2 %). Авторы пришли к выводу, что инфицирование *H. pylori* может оказывать защитное воздействие на патологические процессы при СКВ.

В недавно опубликованной работе при проведении масштабного популяционного когортного исследования на Тайване, М-С Wu. и соавт. [214] продемонстрировали существенную связь между *H. pylori*-инфекцией и СКВ, особенно среди пациенток в возрасте до 30 лет. Авторы обратили внимание на то, что *H. pylori*-инфекция увеличивала риск развития СКВ в 1,63 раз по сравнению с контрольной группой. В последующей своей работе исследователи сообщили, что эрадикация *H. pylori* в течение трех месяцев после постановки диагноза значительно снижала риск развития СКВ в течение трехлетнего периода наблюдения [110]. Противоположные данные были получены М. Youssefi и соавт. [166], которые обобщили существующие метаанализы и систематические обзоры и пришли к заключению, что не существует достоверно значимой связи между инфекцией *H. pylori* и восприимчивостью к СКВ. Таким образом, взаимосвязь между *H. pylori*-инфекцией и СКВ многогранна и разнонаправлена. В то же время нет убедительных доказательств и единого мнения, могут ли люди, инфицированные *H. pylori*, быть предрасположены к СКВ или защищены от нее.

### 1.3.2 – *Helicobacter pylori* и антифосфолипидный синдром

Антифосфолипидный синдром (АФС) – приобретенная аутоиммунная тромбофилия, которая характеризуется развитием рецидивирующих тромбозов сосудов любого калибра и локализации или акушерской патологией и обязательным наличием стойкой позитивности по антифосфолипидным антителам (АФА) [20]. В настоящее время для диагностики АФС ориентируются как на клинические признаки, так и на лабораторные показатели. Важными лабораторными показателями при постановке АФС является определение антител к кардиолипину, бета-2-гликопротеину I и волчаночному антикоагулянту [228]. Также стоит отметить, что АФА определяются у 50 % пациентов с СКВ и в 5-20 % при других заболеваниях соединительной ткани [48; 50; 288; 328]. Возможным этиологическим фактором в развитии клинических проявлений АФС у восприимчивых лиц может выступать как генетическая предрасположенность, так и инфекция [304]. V. Cicconi и соавт. [106] опубликовали случай женщины с диагнозом АФС, у которой после эрадикации *H. pylori* клинические и лабораторные показатели нормализовались. Авторы предположили, что развитие АФС может быть ассоциировано с *H. pylori*-инфекцией. По их мнению, микроб может выступать в качестве специфического индуктора в образовании антифосфолипидных антител посредством хронической активации провоспалительных клеток и высвобождаемых ими цитокинов. Основой для аутоиммунной реакции, индуцированной *H. pylori*, может быть образование перекрестно реагирующих антител между структурными компонентами *H. pylori* и некоторыми фосфолипидами клеточных мембран. Было высказано предположение, что некоторые инфекционные агенты способны индуцировать выработку аутоантител против  $\beta$ -2-гликопротеина I, тем самым способствуя развитию АФС. Как оказалось, некоторые бактерии содержат белки, структурно гомологичные  $\beta$ -2-гликопротеину I. Молекулярная мимикрия между  $\beta$ -2-гликопротеином I и микробными продуктами является одним из аспектов возможной инфекционной этиологии антифосфолипидного синдрома [62; 219]. По данным, полученным M. Ram и соавт. [184], распространенность антител IgG к *H. pylori* у европейцев с

первичным АФС достоверно значимо выше (56 %) в сравнении с контрольной группой здоровых лиц (39 %). Авторы также обнаружили, что среди европейского и латиноамериканского населения с подтвержденным АФС и *H. pylori*-инфекцией уровень аутоантител к  $\beta$ -2-гликопротеину I класса IgG был достоверно ниже в сравнении с лицами, у которых *H. pylori*-инфекция отсутствовала. В то же время уровень аутоантител к  $\beta$ -2-гликопротеину I класса IgM среди инфицированных и не инфицированных *H. pylori* больных с АФС не различался, однако наблюдалась тенденция к повышению данных антител среди лиц, у которых отсутствовала *H. pylori*-инфекция.

### 1.3.3 – *Helicobacter pylori* и ревматоидный артрит

Среди аутоиммунных заболеваний одним из наиболее распространенных является ревматоидный артрит (РА), который характеризуется хроническим воспалением синовиальной оболочки, повреждением суставного хряща и околосуставной кости [41]. Одним из обязательных критериев для диагностики РА является определение ревматоидного фактора (РФ) [295]. РФ – это аутоантитела, направленные против Fc-части IgG. В клинической практике чаще всего определяются РФ класса IgM. Данные антитела обнаруживаются как среди пациентов с РА (до 80 %), так и при других ревматологических состояниях (СКВ, синдром Шегрена), а также при инфекционных заболеваниях (вирус Эпштейна-Барр, вирус гепатита С) и злокачественных новообразованиях [222]. В то же время аутоантитела РФ класса IgM также можно обнаружить и у 4–5 % здоровых людей [360]. Причины и условия возникновения ревматоидного артрита до сих пор остаются не известными, а связь инфекции *H. pylori* с патогенезом РА является дискуссионной и спорной. Способность *H. pylori* индуцировать гуморальный иммунный ответ и развитие аутоиммунных заболеваний, в частности РА, была продемонстрирована S. Yamanishi и соавт. [211], которые обнаружили, что очищенная уреaza *H. pylori* стимулирует В1-лимфоциты *in vitro*, последние продуцируют аутоантитела в виде РФ класса IgM, и, как следствие, могут участвовать в запуске аутоиммунных реакций, ассоциированных с РА. Близкие

данные были получены F. Kobayashi и соавт. [285], которые описали механизм активации клеточного иммунного ответа под влиянием фиксированной на поверхности *H. pylori* уреазы. Выделенные из селезенки мышей CD5-позитивные B1a клетки совместно культивировали с фиксированными в 2 % параформальдегиде *H. pylori* (для сохранения поверхностной уреазы) *in vitro*. В супернатантах клеточных культур с помощью иммуноферментного анализа определяли продукцию аутоантител, в частности против РФ. Было показано, что бактериальная уреазы взаимодействовала с TLR2 на CD5-позитивных B-1a клетках, в результате происходила активация синтеза провоспалительных цитокинов и дальнейшая стимуляция В-лимфоцитов, последние вырабатывали аутоантитела против РФ, которые потенциально могли участвовать в запуске аутоиммунных реакций. Одним из цитокинов, участвующих в патогенезе РА, по-видимому, является IL-32. К. Sakitani и соавт. [298] на фоне *H. pylori*-ассоциированного гастрита выявили существенное повышение этого цитокина, что может быть одной из потенциальных причин развития РА. Согласно приведенным выше данным, *H. pylori* теоретически может влиять на развитие РА, тем не менее, не все клинические исследования подтверждают этот факт. Так, израильские ученые М.К. Meron и соавт. [218] показали, что в плазме крови больных РА уровень антител к *H. pylori* был аналогичным уровню, наблюдаемому у здоровых людей. В свою очередь, когортное исследование, проведенное Е. Tanaka и соавт. [284], продемонстрировало, что у японских пациентов с РА уровень серопозитивности к *H. pylori* составил 49,3 %, что ниже по сравнению со здоровыми лицами. Датские ученые L.B. Graff и соавт. [141] оценили распространенность *H. pylori*-инфекции у лиц с РА, а также сравнили ряд лабораторных показателей. Было показано, что среди 59 пациентов с ревматоидным артритом у 18 (31 %) лиц в сыворотке крови были выявлены антитела IgG к *H. pylori*, у остальных пациентов (n=41) данные антитела отсутствовали. Что касается лабораторных показателей, то существенных различий в СОЭ (скорость оседания эритроцитов), СРБ (С реактивный белок) и РФ у лиц с РА как с инфекцией, так и без инфекции *H. pylori* выявлено не было, за исключением достоверно более высокого уровня утренней скованности у

инфицированных пациентов. В другом исследовании S. Saad и соавт. [300] продемонстрировали, что среди 100 пациентов с ревматоидным артритом у 48 % обнаруживалась *H. pylori*-инфекция, однако существенных различий в лабораторных показателях между пациентами, положительными или отрицательными по *H. pylori*, не наблюдалось. Похожие результаты были продемонстрированы Z. Shariaty и соавт. [308], которые показали, что у больных с ревматоидным артритом и подтвержденной *H. pylori*-инфекцией, лабораторные показатели (СОЭ, СРБ, РФ и антитела к циклическому цитруллинированному пептиду) достоверно не отличались от лабораторных показателей больных ревматоидным артритом, у которых отсутствовала *H. pylori*-инфекция. В то же время Н. Nakamura и соавт. [131] обнаружили у пациентов с РА и *H. pylori*-инфекцией более низкие уровни РФ в сравнении с *H. pylori*-отрицательными пациентами с РА. Два недавних исследования также не обнаружили достоверно значимой связи между *H. pylori*-инфекцией и РА и пришли к выводу, что инфекция *H. pylori* не влияет на патогенез РА [166; 176].

Иные данные получили китайские ученые Н. Wen и соавт. [173], согласно которым инфекция *H. pylori* выявлялась у 88 % лиц с РА, то есть достоверно чаще в сравнении с лицами без ревматических заболеваний. Некоторые исследователи предположили, что взаимосвязь между инфекционным агентом и аутоиммунным ответом может различаться в зависимости от вирулентности инфицирующего штамма *H. pylori*. А. Ebrahimi и соавт. [291] также подтвердили, что среди 100 пациентов с РА у большинства (57,9 %) наблюдалась *H. pylori*-инфекция. В то же время у пациентов, инфицированных CagA<sup>+</sup> *H. pylori*, сывороточные уровни РФ, СОЭ, СРБ и anti-MCV (Modified Citrullinated Vimentin Antibody) были достоверно выше в сравнении с лицами, у которых диагностировался РА, но отсутствовала *H. pylori*-инфекция. А.В. Александров и соавт. [18] среди пациентов с РА у 68,5 % обнаружили антитела к *H. pylori* класса IgG. Причем 40% пациентов данной группы являлись носителями CagA<sup>+</sup> штамма *H. pylori*.

По данным недавнего общенационального ретроспективного когортного исследования Т.-Н. Lee и соавт. [220], частота заболеваемости РА была достоверно

выше в группе инфицированных *H. pylori* лиц в сравнении с неинфицированными пациентами в течение периода наблюдения (от первого года до пяти лет). Интересно, что частота заболеваемости РА значительно возрастала у пациентов с инфекцией *H. pylori* в возрасте до 30 лет как у мужчин, так и у женщин. Таким образом, на сегодняшний день это первая и крупнейшая когорта национального продольного популяционного набора данных, которая выявила более высокий риск развития РА среди пациентов, инфицированных *H. pylori*.

Необходимо также отметить, что особый интерес для понимания роли *H. pylori* при РА представляют работы, демонстрирующие влияние эрадикации микроба на активность заболевания. Так, P. Zentilin и соавт. [113] оценили эффект эрадикации *H. pylori* у больных РА. В исследовании принимали участие 58 взрослых пациентов с РА. В основную группу вошли 28 лиц с РА и *H. pylori*-инфекцией, а в группу сравнения вошли 30 лиц с РА, у которых отсутствовала инфекция *H. pylori*. В дальнейшем в течение 2 лет в обеих группах определяли показатели активности РА. Согласно полученным данным, в группе пациентов после эрадикации *H. pylori* отмечалось значительное улучшение клинических показателей РА, а также снижение СОЭ, уровня фибриногена,  $\alpha$ -2-глобулина, антинуклеарных антител в сравнении с лицами, исходно не инфицированными *H. pylori*. Авторы пришли к выводу, что эрадикация *H. pylori* может привести к значительному улучшению активности заболевания. A. El-Hewala и соавт. [320], также оценили влияние эрадикации *H. pylori* на активность заболевания у пациентов с РА и продемонстрировали похожие результаты, описанные в предыдущей работе. В исследовании принимали участие 17 пациентов с РА и с инфекцией *H. pylori* и 23 пациента с РА, без *H. pylori*-инфекции. Через 2 месяца после успешной эрадикации микроба у лиц с РА отмечалось достоверно значимое снижение показателей воспаленных и болезненных суставов, а также наблюдалось снижение СРБ и РФ в сравнении с группой лиц, у которых был диагностирован РА, но изначально отсутствовала *H. pylori*-инфекция. Немного иные данные представлены в работе Z. Shariaty и соавт. [308], которые оценили влияние эрадикации *H. pylori* на показатели активности РА. В основную группу вошли лица

(n=20) с РА и подтвержденной *H. pylori*-инфекцией, которым была проведена стандартная схема эрадикации микроба. Контрольная группа состояла из 20 лиц с РА, исходно не инфицированных *H. pylori*. Через год после эрадикации число болезненных и воспаленных суставов снизилось в обеих группах, однако в группе лиц с РА, исходно инфицированных *H. pylori*, эти показатели оставались достоверно повышенными. Хотя инфицирование *H. pylori* у пациентов с РА сопровождалось увеличением числа воспаленных и болезненных суставов, эрадикация *H. pylori* не улучшала клинические симптомы и лабораторные показатели пациентов. Таким образом, имеются как экспериментальные, так и клинические доказательства влияния *H. pylori* на развитие и прогрессирование РА, однако уровень доказательств относительно невысок, а связь инфекции *H. pylori* с патогенезом РА до сих пор вызывает дискуссии среди исследователей.

#### **1.3.4 – *Helicobacter pylori* и тиреоидные аутоиммунные заболевания**

Среди патологических состояний, которые могут формироваться с участием *H. pylori*, рассматриваются аутоиммунные заболевания щитовидной железы [55; 139; 175]. К классическим органоспецифическим аутоиммунным заболеваниям щитовидной железы относятся диффузный токсический зоб (болезнь Грейвса) и аутоиммунный тиреоидит (болезнь Хашимото) [105]. Болезнь Грейвса представляет собой системное аутоиммунное заболевание, которое развивается в результате продукции аутоантител к рецептору тиреотропного гормона (рТТГ) и проявляется поражением щитовидной железы (ЩЖ), что приводит к развитию синдрома тиреотоксикоза в сочетании с экстраклеточной патологией [317]. В свою очередь, в основе патогенеза тиреоидита Хашимото лежит выработка иммунной системой аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы, которые направлены против клеток паренхимы ЩЖ. Воздействуя на тиреоциты, данные аутоантитела вызывают их деструктивную трансформацию и снижение выработки тиреоидных гормонов, что приводит к повышению образования тиреотропного гормона (ТТГ) и развитию гипотиреоза [47; 55].

Этиологические причины развития этих заболеваний являются многофакторными. По мнению большинства авторов, генетическая предрасположенность играет главную роль в развитии аутоиммунных процессов, однако немаловажная роль отводится *H. pylori*-инфекции как одного из предрасполагающих триггеров в развитии аутоиммунных реакций, ассоциированных с щитовидной железой [97; 259].

Существует достаточно сложная и неоднозначная картина относительно возможной связи между инфекцией *H. pylori* и тиреоидными аутоиммунными заболеваниями. В нескольких исследованиях сообщалось о повышенной распространенности *H. pylori*-инфекции у людей с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы, а также о связи между инфекцией *H. pylori* и наличием высоких титров аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы, направленных против щитовидной железы [54; 167; 168; 175; 290]. Напротив, другие исследования не выявили различий в сывороточных уровнях тиреоидных гормонов или аутоантител к щитовидной железе у пациентов, инфицированных и не инфицированных *H. pylori* [172; 230]. Несмотря на имеющиеся разногласия, большинство перекрестных исследований подтверждают связь между инфекцией *H. pylori* и повышенным риском развития тиреоидных аутоиммунных заболеваний в западной [167; 168; 314; 364], ближневосточной [329] и азиатской популяциях [54]. V. Bassi и соавт. [60] обследовали пациентов с впервые выявленными аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы и обнаружили выраженную корреляцию между наличием *H. pylori* и болезнью Грейвса, однако эта корреляция не была подтверждена у лиц с тиреоидитом Хашимото. Аналогичным образом в метанализе W.J. Shi и соавт. [58] с использованием данных семи исследований было продемонстрировано, что инфекция *H. pylori* была достоверно связана с болезнью Грейвса, но не с тиреоидитом Хашимото. В пяти из семи исследований сообщалось, что инфицирование CagA-положительными штаммами *H. pylori* значительно увеличивало риск развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы в 2,24 раза. D. Larizza и соавт. [167] предположили, что *H. pylori*-инфекция может вызывать или усугублять болезнь Грейвса у пациентов с носительством

HLA-DRB10301, и в дальнейшем предлагают ликвидировать ее в определенных группах риска. Напротив, в недавнем исследовании М.Р. Dore и соавт. [57], а также в метаанализе Y. Hou и соавт. [254] с использованием данных пятнадцати исследований сообщалось, что ассоциация инфекции *H. pylori* была достоверной как для болезни Грейвса, так и для тиреоидита Хашимото. По мнению некоторых авторов, CagA<sup>+</sup> штаммы *H. pylori* способны выступать в качестве индуктора при тиреоидных аутоиммунных заболеваниях [249], поскольку сообщалось о сходстве аминокислотных последовательностей между CagA *H. pylori* и тиреоидной пероксидазой [258; 330]. Кроме того, было продемонстрировано, что искоренение *H. pylori*-инфекции помогает снизить уровень аутоантител против щитовидной железы [101; 254]. А.Р. Delitala и соавт. [148] сообщили, что у лиц, инфицированных CagA<sup>+</sup> *H. pylori*, наблюдалось повышение уровня аутоантител против ТПО, связанных с аутоиммунитетом щитовидной железы и ее дисфункцией. N. Figura и соавт. [168] продемонстрировали, что средние значения аутоантител против тиреоглобулина у лиц с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы и с CagA<sup>+</sup> *H. pylori*-инфекцией были значительно выше в сравнении с CagA-негативными по *H. pylori* пациентами, а также с контрольной группой добровольцев (без аутоиммунных заболеваний, но с подтвержденной CagA<sup>+</sup> *H. pylori*-инфекцией). Похожие данные были продемонстрированы и другими исследователями, которые сообщили, что CagA-позитивные штаммы *H. pylori* повышают риск развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и вовлечены в патогенез тиреоидита Хашимото [148; 240]. Напротив, M.S. Arslan и соавт. [340] отметили, что положительная связь между *H. pylori* и тиреоидными аутоиммунными заболеваниями присутствует, однако данная ассоциация строго не зависит от присутствия CagA<sup>+</sup> штаммов *H. pylori*. Таким образом, большинство имеющихся данных указывает на вероятную связь между *H. pylori*-инфекцией и аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.

## ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 – Общая схема исследования

На начальном этапе работы оценивали реакцию Т-лимфоцитов человека на совместное культивирование с *H. pylori* в модели *in vitro* при отсутствии в культурах профессиональных антигенпрезентирующих клеток. От больного хроническим гастритом и положительным уреазным тестом во время проведения эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) было получено 4 образца тканей желудка (два из антрального отдела и два из тела желудка). Один из биоптатов использовался для проведения быстрого уреазного теста (тест-система Хелпил<sup>®</sup>, Россия), а остальные помещались в пробирки типа «эппендорф» (Медполимер, Россия) и использовались для получения гомогенизата, необходимого для первичного посева на питательную среду, с целью выделения чистой культуры *H. pylori*. На 7-е сутки на чашках Петри наблюдался рост мелких, круглых, гладких, прозрачных, влажных колоний диаметром около 1 мм, по морфологии сходных с *H. pylori*. Для предварительной идентификации выделенной культуры использовалась окраска по Граму с последующим микроскопическим анализом. Видовую идентификацию полученной культуры осуществляли с помощью масс-спектрометрического анализа с использованием MALDI-TOF-MS (Matrix-assisted laser desorption/ionization – Time of Flight) серии Autoflex Speed LRF (Bruker Daltonics, Германия). Достоверность идентификации оценивали по полученным значениям Score (коэффициент достоверности), сравнивая с данными спектров рефересной библиотеки BioTyper 3.0. Результат анализа показал, что значение Score для анализируемых образцов составил от 2,300 и более (идентификация до вида). Таким образом, была получена чистая культура *H. pylori*, которую использовали для сокультивирования с CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами взрослых условно здоровых доноров *in vitro*. Через 18-24 часа культивирования при помощи проточной лазерной цитофлуориметрии оценивалась возможность бактерии

индуцировать лимфоциты дифференцироваться в направлении Th17 и Treg. Параллельно в супернатантах клеточных культур с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) оценивалась концентрация IFN- $\gamma$  и IL-10.

На последующих этапах работы в исследование было включено 350 пациентов с впервые выявленным хроническим гастритом (186 женщин и 164 мужчины, средний возраст  $47,22 \pm 12,43$ ). Диагноз хронический гастрит устанавливался врачами-гастроэнтерологами при поступлении пациентов в стационар клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Пациенты с подозрением на аутоиммунный гастрит исключались из исследования.

Во время проведения ЭГДС у всех больных забирался желудочный сок, который использовался для выделения ДНК *Helicobacter pylori* с последующей полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени. В зависимости от результата анализа ПЦР (положительный или отрицательный), больные с хроническим гастритом были разделены на две группы (основную и группу сравнения). В основную группу вошли лица с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом ( $n=179$ ), а в группу сравнения – лица с *H. pylori*-неассоциированным хроническим гастритом ( $n=171$ ). С целью оценки влияния *H. pylori* на возможность развития аутоиммунных реакций в крови больных хроническим гастритом с помощью проточной лазерной цитофлуориметрии, полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР РВ) и ИФА определялось относительное количество клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) и CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg), относительный уровень мРНК IL-17A, мРНК FoxP3, мРНК TNF- $\alpha$ , содержание IL-2, IL-23, TNF- $\alpha$ , уровень аутоантител против односпиральной и двухспиральной ДНК,  $\beta$ -2-гликопротеина I класса IgM и IgG, ревматоидного фактора, тиреоглобулина и тиреопероксидазы.

Весь биологический материал был предоставлен клиникой инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Исследования проводились согласно биоэтическим и этическим принципам,

установленным Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве испытуемого». Все обследованные подписали информированное согласие на использование их биологического материала в научном исследовании. Проведение данного исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 6 от 25.11.2021).

## **2.2 – Взятие венозной крови от условно здоровых доноров и больных хроническим гастритом**

Венозная кровь из локтевой вены от условно здоровых лиц (n=9) и больных хроническим гастритом (n=350) забиралась в утренние часы (натощак) младшим медицинским персоналом клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Взятие венозной крови от взрослых условно здоровых доноров осуществлялось однократно, в вакуумные пробирки Vacuette с гепарином натрия (Greiner Bio-One, Австрия) в объеме 18 мл. Получение венозной крови от больных хроническим гастритом осуществлялось однократно, в вакуумные пробирки Vacuette с калиевой солью этилендиаминтетраацетата ( $K_3ЭДТА$ ) (Greiner Bio-One, Австрия) в объеме 9 мл до начала лечения антибиотиками и антисекреторными препаратами. Пробирки с образцами венозной крови доставлялись в лабораторию иммунохимии, где хранились при +4 °C не более 2 часов, а затем использовались в работе.

## **2.3 – Получение плазмы крови от условно здоровых доноров и больных хроническим гастритом методом центрифугирования**

Образцы периферической крови с гепарином натрия от взрослых условно здоровых доноров (n=9) и образцы венозной крови с  $K_3ЭДТА$ , полученные от больных хроническим гастритом (n=350), центрифугировали при комнатной температуре (18–22 °C) в течение 10 минут при 1500 g для разделения плазмы и эритроцитов. Плазму крови отбирали и аликвотировали в заранее

промаркированные пробирки типа «эппендорф» (Медполимер, Россия), а затем помещали на хранение при – 80 °С (Sanyo, Япония) до выполнения исследования.

#### **2.4 – Определение суммарных антител (IgM, IgA, IgG) к CagA *Helicobacter pylori* в плазме крови условно здоровых доноров методом иммуноферментного анализа**

Донорами венозной крови были девять добровольцев (5 женщин и 4 мужчины), у которых, по данным анамнеза, отсутствовала симптоматика, связанная с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, аллергические реакции, персистирующие вирусные инфекции, аутоиммунные и онкологические заболевания. В плазме крови добровольцев определяли суммарные антитела классов IgM, IgA, IgG к CagA *H. pylori* (*Helicobacter pylori*-CagA-антитела-ИФА-БЕСТ, Россия) с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), согласно протоколу производителя. Принцип выявления антител основан на твердофазном иммуноферментном анализе, в ходе которого при взаимодействии исследуемых образцов плазмы крови с иммобилизованным рекомбинантным антигеном CagA *H. pylori*, происходит связывание специфических антител с образованием комплекса антиген-антитело, который выявляется с помощью иммуноферментного конъюгата. Во время инкубации с 3,3',5,5'-тетраметилбензидином (ТМБ) раствор в лунках, содержащих комплексы антиген-антитело, окрашивается в синий цвет. Реакцию останавливали внесением стоп-реагента. Оптическую плотность образцов измеряли при длине волны (450/620 нм) на микропланшетном ридере Infinite M200 Pro (TECAN, Austria). Количественную оценку концентрации суммарных антител классов IgM, IgA, IgG к CagA *H. pylori* в образцах определяли с помощью программного обеспечения Magellan 7.2 (TECAN, Austria). У всех добровольцев, принимавших участие в исследовании, концентрация суммарных антител не превышала верхнюю границу нормы и составила менее 0,9 Ед/мл (отрицательный анализ на суммарные антитела IgM, IgA, IgG к CagA *H. pylori*).

## 2.5 – Получение фракции моноклеарных клеток из периферической крови условно здоровых доноров, их подсчет и определение жизнеспособности

Работу с клетками крови осуществляли в стерильных условиях с использованием бокса абактериальной воздушной среды биологической безопасности II класса (Lamsystems, Россия). Для выделения моноклеарных клеток (МНК) использовали девять образцов (по 18 мл) стабилизированной гепарином (25 Ед/мл) периферической крови взрослых условно здоровых доноров. Цельную кровь от каждого донора разбавляли RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) в соотношении 1:1 и тщательно перемешивали. Разбавленную кровь наслаивали на градиент фикола с удельной плотностью 1077 г/см<sup>3</sup> (ДиаЭм, Россия) в соотношении 1:3. В пробирку (V=50 мл) вносили 1 часть (12 мл) фикола и 3 части (36 мл) разбавленной крови, затем центрифугировали (45 минут, 450g). После центрифугирования отбирали слой (интерфазное кольцо), содержащий моноклеарные клетки, и переносили в центрифужную пробирку (V=15 мл). Суспензию с моноклеарами трижды отмывали средой RPMI-1640 путем центрифугирования (15 минут, 450g). После третьей отмывки супернатант удаляли, а осадок с клетками ресуспендировали в 1 мл среды RPMI-1640. Далее проводили подсчет количества выделенных клеток в камере Горяева (Линза, Россия) по общепринятой методике, а также определяли их жизнеспособность с использованием 0,4 %-го раствора трипанового синего (ПанЭко, Россия). Для этого отбирали аликвоту (100 мкл) клеточной суспензии в заранее подготовленную пробирку «эппендорф» (Медполимер, Россия) и добавляли 10 мкл 0,4 %-го раствора трипанового синего, тщательно перемешивали и инкубировали в течение 3–4 минут. По окончании инкубации, отбирали 10 мкл клеточной суспензии и вносили ее под покровное стекло камеры Горяева. Жизнеспособность (V, %) выделенных моноклеарных клеток рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{a}{A} \cdot 100, \quad (1)$$

где V – жизнеспособность клеток;

a – количество неокрашенных (жизнеспособных) клеток;

$A$  – общее количество (окрашенных и неокрашенных) клеток.

Жизнеспособность клеток после выделения составляла более 95 %. Далее суспензию с моноклеарами от каждого донора центрифугировали (15 минут, 450g), супернатант удаляли, а осадок с клетками ресуспендировали и разводили в 10 мл полной питательной среды (RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 10 % инактивированной FCS (Fetal calf serum, Biochrome, Германия) и 300 мг/л L-глутамина (ПанЭко, Россия) до рабочей концентрации  $5 \times 10^6$  кл/мл.

## **2.6 – Получение неадгезивной фракции лимфоцитов из моноклеарных клеток условно здоровых доноров**

Полученные моноклеарные клетки методом адгезии на пластике разделяли на адгезивную (моноцитарную) и неадгезивную (лимфоцитарную) фракции. Для получения лимфоцитарной фракции в лунки 24-луночного культурального планшета (Costar, USA) вносили 10 аликвот от каждого донора (по 1 мл на лунку моноклеарных клеток с концентрацией  $5 \times 10^6$  кл/мл) и инкубировали (2 часа, 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$  в увлажненной атмосфере). После окончания инкубации из каждой лунки планшета отбирали по 0,9 мл лимфоцитарной фракции клеток и переносили их в центрифужную пробирку. Суспензию с клетками центрифугировали (450g, 15 минут), затем супернатант удаляли, а образовавшийся осадок с клетками ресуспендировали и разводили в 1 мл полной питательной среды (ППС). Далее подсчитывали количество выделенных клеток в камере Горяева (Линза, Россия) по общепринятой методике, а также оценивали их жизнеспособность с использованием 0,4 %-го раствора трипанового синего (ПанЭко, Россия). Жизнеспособность клеток после выделения составила 95 %. Таким образом, в дальнейшей работе использовали только неадгезивную (лимфоцитарную) фракцию моноклеарных клеток.

## **2.7 – Получение CD4<sup>+</sup>-клеток методом иммуномагнитной сепарации из неадгезивной фракции лимфоцитов условно здоровых доноров**

Для выделения популяции CD4<sup>+</sup>-клеток использовали неприлипающую к пластику (лимфоцитарную) фракцию моноклеарных клеток, полученную из

периферической крови взрослых условно здоровых доноров. Выделение CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов осуществляли методом иммуномагнитной сепарации (негативная селекция) с использованием коммерческого набора EasySep™ Human CD4<sup>+</sup> T Cell Enrichment Kit (Stemcell technologies, USA), в соответствии с инструкцией производителя. Пробирки с фракцией мононуклеарных клеток от каждого донора помещали в центрифугу (450g, 15 минут), супернатант удаляли, а осадок с клетками ресуспендировали и разводили средой для сепарации (состав: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (HiMedia, Индия) + 2 % Fetal calf serum (Biochrome, Германия) + 1Mm этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) (Gibco, «Invitrogen», США) до концентрации 5x10<sup>7</sup> кл/мл. Клетки переносили в 5 мл полистироловые пробирки для цитометрии (Falcon™ 5 mL Polystyrene Round-Bottom Tubes BD Biosciences), к которым добавляли коктейль антител (EasySep™ Human CD4<sup>+</sup> T Cell Enrichment Cocktail, Stemcell technologies, USA) против поверхностных антигенов (CD8, CD14, CD16, CD19, CD20, CD36, CD56, CD66b, CD123, TCR  $\gamma/\delta$ , glycophorin A) из расчета 50 мкл/мл клеточной суспензии. Суспензию с клетками и антителами перемешивали и инкубировали 10 минут при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации вносили магнитные частицы, покрытые декстраном (EasySep™ D Magnetic Particles, Stemcell technologies, USA) из расчета 100 мкл/мл клеточной суспензии, тщательно перемешивали и инкубировали 5 минут при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации объем содержимого в пробирке доводили до 2,5 мл средой для сепарации и аккуратно перемешивали. Далее пробирку с суспензией клеток помещали в магнит (Purple EasySep™ Magnet, Stemcell technologies, USA) и инкубировали 5 минут при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации жидкую фракцию с несвязавшимися CD4<sup>+</sup>-клетками переносили в новую 5 мл полистироловую пробирку для цитометрии и повторяли процедуру еще раз. После инкубации фракцию с CD4<sup>+</sup>-клетками переносили в чистую пробирку и проводили подсчет количества клеток в камере Горяева (Линза, Россия) по общепринятой методике и определяли их жизнеспособность с использованием 0,4 %-го раствора трипанового синего. Жизнеспособность выделенных клеток составила не менее 95 %. После

подсчета пробирки с клетками помещали в центрифугу (15 минут, 450g), супернатант удаляли, а осадок с клетками ресуспендировали и разводили в полной питательной среде до рабочей концентрации  $5 \times 10^5$  кл/мл. Чистоту полученных клеток контролировали с помощью проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием Anti-Human CD4 Antibody, Clone OKT4, FITC (Stemcell technologies, USA). В работе использовали популяции лимфоцитов с чистотой 96 %. Полученные CD4<sup>+</sup>-лимфоциты использовали для сокультивирования с *H. pylori in vitro*.

## **2.8 – Взятие образцов ткани желудка от больного хроническим гастритом для бактериологического исследования**

Биопсийный материал для выделения *H. pylori* был получен от больного хроническим гастритом до начала терапии антибиотиками и антисекреторными препаратами. Во время проведения ЭГДС врач-эндоскопист Клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора осуществлял взятие двух биоптатов из антрального отдела и двух из тела желудка (объемом 5 мм<sup>3</sup> каждый). Один из биоптатов использовался для проведения быстрого уреазного теста, а остальные помещались в пробирки типа «эппендорф», содержащие по 1 мл стерильного физиологического раствора (Медполимер, Россия) и доставлялись в лабораторию иммунохимии, где хранились при +4 °C не более 30 минут, а затем использовались в работе.

## **2.9 – Проведение быстрого уреазного теста в образце ткани желудка, полученного от больного хроническим гастритом**

Метод быстрого уреазного теста основан на способности *H. pylori* продуцировать фермент уреазу, которая разлагает мочевины до аммиака и углекислоты. Во время проведения ЭГДС врач-эндоскопист один образец ткани желудка от больного хроническим гастритом помещал на поверхность индикаторного диска (тест-система Хелпил<sup>®</sup>, Россия), пропитанного мочевиной и кислотным индикатором, а затем инкубировал в течение 3-х минут при комнатной температуре (18–22 °C). По истечении времени инкубации индикаторный диск

окрашивался в синий цвет, что свидетельствовало о присутствии в биоптате бактерий *H. pylori*.

### **2.10 – Первичный посев биопсийного материала желудка, полученного от больного хроническим гастритом с целью выделения *H. pylori***

Основой для питательной среды был колумбийский агар (НИЦФ, Санкт-Петербург), который варили на водяной бане в течение 20–30 минут. Далее питательную основу смешивали с 10 % дефибринированной донорской кровью (не содержала антител IgA, IgM, IgG к CagA *H. pylori*) и антибиотиками (10 мкг/л ванкомицина, 5 мг/л триметоприма, 2 мг/л нистатина, Teva, Израиль) для ингибирования роста сопутствующей микрофлоры. Питательную среду разливали по чашкам Петри (Greiner Bio-One, Австрия) и использовали для первичного посева биопсийного материала желудка с целью выделения *H. pylori*.

Образцы ткани желудка, полученные в ходе ЭГДС от больного хроническим гастритом и положительным уреазным тестом, перед посевом на питательные среды механически измельчали для получения гомогенизированного раствора. Для этого в ступку вносили 1 мл стерильного физиологического раствора, а затем при помощи микробиологической петли (из пробирок с транспортной средой) переносили образцы ткани желудка, которые тщательно растирали с помощью пестика в течение 1 минуты. Используя автоматический дозатор со стерильным наконечником из ступки отбирали 200 мкл гомогенизированного раствора, который переносили на поверхность чашек с питательной средой, а затем втирали сплошным газоном при помощи шпателя Дригальского (LAB-Medica, Китай). Чашки с посевами помещали в герметичные пакеты для инкубации, где с помощью газогенерирующих пакетов (Campy Pak, Becton Dickinson, США) создавали микроаэрофильные условия ( $O_2$  – 5 %,  $CO_2$  – 10 %,  $N_2$  – 80 %). Посевы инкубировали в термостате при температуре +37 °C и влажности 95 %. На 7-е сутки на чашках Петри наблюдали обильный рост мелких, круглых, гладких, прозрачных, влажных колоний диаметром около 1 мм, похожих на *H. pylori*.

### 2.11 – Идентификация *Helicobacter pylori* методом времяпролетной масс-спектрометрии

При получении роста колоний на чашках Петри по морфологии сходных с *H. pylori* проводили их предварительную идентификацию с помощью окраски по Граму (ООО «Агат-Мед», Россия) с последующим микроскопированием с иммерсией при увеличении 100х (Nikon Eclipse 50i, Япония). На мазках наблюдали тонкие, изогнутые, нежно-розовые палочки, похожие на *H. pylori*. Видовую идентификацию выделенной культуры осуществляли с помощью масс-спектрометрического анализа с использованием MALDI-TOF-MS серии Autoflex Speed LRF (Bruker Daltonics, Германия). Метод времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией обусловлен воздействием импульсами твердотельного лазерного излучения на матрицу с анализируемым образцом. В качестве матрицы использовали  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричную кислоту. В качестве анализируемого образца (аналита) использовали изолированные колонии микроорганизмов, полученные при первичном росте на питательной среде, которые собирали при помощи стерильной микробиологической петли и переносили в пробирки типа «эппендорф», содержащие по 0,5 мл стерильного физиологического раствора (Медполимер, Россия). Бактериальные культуры не подвергали предварительной пробоподготовке, а использовали метод прямого нанесения материала по стандартному протоколу, представленному в руководстве пользователя. Для получения достоверного результата суспензию с бактериальными клетками в объеме 1 мкл равномерно наносили на лунки MSP-мишени в трех повторях. После высыхания нанесенной на чип суспензии сверху наносили по 1 мкл раствора матрицы (насыщенный раствор  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричной кислоты готовили перед исследованием). Внешнюю калибровку проводили с использованием бактериального тест-стандарта (Bruker Daltonics, Германия). Анализ измерений осуществляли в линейном режиме, детектировали положительные ионы. Для накопления масс-спектров мощность лазерного излучения устанавливали на уровне минимального порогового значения, достаточного для десорбции-

ионизации образца. Параметры масс-спектрометра оптимизировали для диапазона масса/заряд от 2000 до 20 000 Да. Для получения пригодных для идентификации масс-спектров в настройках прибора устанавливали следующие параметры: суммирование 10-ти серий спектров по 50 импульсов лазера. С помощью программы BioTyper 3,0 RTC (Bruker Daltonics, Германия) проводили автоматическую идентификацию на основании сравнения собранных исходных спектров с референсными спектрами базы данных. Достоверность идентификации оценивали по полученным значениям Score (коэффициент соответствия), сравнивая с данными спектров референсной библиотеки BioTyper 3,0. Достоверной считали идентификацию на уровне рода при значении Score 1,700–1,999; на уровне вида при значении Score 2,000–3,000. Значения Score 0,000–1,699 рассматривали как недостоверные. Результат анализа показал, что значение Score для анализируемых образцов составил от 2,300 и более (идентификация до вида). Таким образом, была получена чистая культура *H. pylori*, которую использовали для приготовления суспензий и сокультивирования с CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами условно здоровых доноров *in vitro*. Генетические характеристики штамма не изучали.

## **2.12 – Стимуляция лимфоцитов суспензиями *Helicobacter pylori* в присутствии или отсутствии антител к CD3 и CD28 в модели *in vitro***

При помощи стерильной микробиологической петли с чашек Петри снимали колонии *H. pylori* и помещали в пробирку «эппендорф» со стерильным физиологическим раствором (Медполимер, Россия) объемом 1 мл. Далее сравнивали мутность бактериальной суспензии со стандартами мутности МакФарланда (HiMedia Laboratories, Индия). Мутность суспензии бактериальных клеток доводили до концентрации  $12 \times 10^8$  КОЕ/мл, что соответствовало стандарту МакФарланда равному 4 ед.

CD4<sup>+</sup>-лимфоциты (описание получения указано в п. 2.7) засеивали по 150 мкл на лунку (с концентрацией  $5 \times 10^5$  кл/мл) в круглодонные 96-луночные планшеты (Nunclon Delta, Thermo Fisher Scientific, США). Далее в лунки с клетками вносили аликвоты живых бактерий в разных концентрациях. Использовали соотношения

CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к *H. pylori*, равные 1:10 ( $5 \times 10^5$  лимфоцитов/мл :  $5 \times 10^6$  *H. pylori*/мл); 1:20 ( $5 \times 10^5$  лимфоцитов/мл :  $10 \times 10^6$  *H. pylori*/мл); 1:50 ( $5 \times 10^5$  лимфоцитов/мл :  $25 \times 10^6$  *H. pylori*/мл). Часть лимфоцитов сокультивировали с бактериями в присутствии моноклональных антител к CD3 и CD28 (1 мкг/мл, eBioscience, США и 3 мкг/мл Beckman Coulter, Франция). Кроме того, засекали контрольные лунки: К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; К1 (Контроль 1) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*, но с добавлением антител к CD3 и CD28 (1 мкг/мл, eBioscience, США и 3 мкг/мл Beckman Coulter, Франция). Конечный объем во всех лунках доводили полной питательной средой (RPMI-1640 с добавлением 10 % инактивированной Fetal calf serum и 300 мг/л L-глутамина) до 220 мкл/лунка. Культуры инкубировали 18–24 часа в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub>.

### **2.13 – Определение концентрации IFN-γ и IL-10 в супернатантах клеточных культур методом иммуноферментного анализа**

С целью изучения иммунорегуляторной активности *H. pylori* оценивали способность бактерии влиять на продукцию IFN-γ и IL-10 после совместного культивирования с CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами, полученными из периферической крови условно здоровых доноров.

По окончании сокультивирования *H. pylori* с CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами (в присутствии или отсутствии моноклональных антител к CD3 и CD28) планшет с клетками центрифугировали (15 минут, 450 g), а затем из каждой лунки отбирали по 200 мкл супернатанта и переносили в заранее промаркированные пробирки типа «эппендорф». С помощью иммуноферментных тест-наборов («Гамма-интерферон-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», Вектор-Бест, Россия) в супернатантах клеточных культур определяли концентрацию IFN-γ и IL-10, в соответствии с инструкциями производителя.

Исследуемые образцы вносили по 100 мкл на лунку, где происходило специфическое связывание цитокинов с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок планшета во время первой

инкубации (120 мин., 700 об/мин., 37 °C). После первой инкубации лунки планшета отмывали 5 раз однократным фосфатно-солевым буферным раствором с твином (1х ФСБТ). Далее во все лунки вносили по 100 мкл конъюгата №1 (биотинилированные поликлональные антитела к IFN- $\gamma$  и IL-10), с которыми во время второй инкубации (60 мин., 700 об/мин., 37 °C) взаимодействовали связавшиеся цитокины. После второй инкубации лунки планшета отмывали 5 раз 1х ФСБТ, как описано выше. На третьей стадии вносили конъюгат №2 (стрептавидин-пероксидаза хрена) по 100 мкл на лунку и инкубировали 30 минут (700 об/мин., 37 °C). После третьей инкубации лунки планшета промывали 1х ФСБТ, а затем вносили раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) по 100 мкл на лунку и инкубировали 25 минут при комнатной температуре (18–22 °C) в темноте. Реакцию останавливали внесением стоп-реагента (0,5 М серная кислота). Оптическую плотность образцов измеряли при длине волны (450/620 нм) на микропланшетном ридере Infinite M200 Pro (TECAN, Austria). Количественную оценку концентрации цитокинов в супернатантах клеточных культур определяли с помощью программного обеспечения Magellan 7.2 (Austria). Фирмой-производителем диагностических тест-систем рекомендовано считать нормальным среднюю концентрацию IFN- $\gamma$  – 2 пг/мл, а IL-10 – 5,0 пг/мл.

#### **2.14 – Иммунофенотипирование Treg и Th17 в культурах лимфоцитов методом проточной лазерной цитофлуориметрии**

Для определения фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) и CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток использовали иммунофлуоресцентное окрашивание и проточную лазерную цитофлуориметрию. По окончании сокультивирования CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori* (в присутствии или отсутствии антител к CD3 и CD28) осадки с клетками ресуспендировали в 200 мкл/лунка 0,09 %-го раствора NaN<sub>3</sub> (HiMedia, Индия). Затем из каждой лунки планшета отбирали 2 аликвоты (по 50 мкл), которые переносили в круглодонный 96-луночный планшет (Sovtech, Россия) и использовали для окрашивания Treg и Th17 клеток. На первом этапе проводили поверхностное окрашивание молекул CD4, CD25 и CD161, располагающихся на

наружной мембране лимфоцитов. Во все лунки для окрашивания Treg (содержащих 50 мкл суспензии с клетками) вносили 2 мкл/образец антител к CD4, меченных Fluorescein-5-isothiocyanate (FITC) (eBioscience, США), и 2 мкл/образец антител к CD25, меченных Allophycocyanin (APC) (eBioscience, США). В лунки для окрашивания Th17 (содержащих 50 мкл суспензии с клетками) вносили 2 мкл/образец антител к CD4, меченных FITC (eBioscience, США), и 2 мкл/образец антител к CD161, меченных Phycoerythrin (PE) (eBioscience, США). Суспензию с клетками и антителами перемешивали и инкубировали 40 минут в темном месте при +4 °C на мультишейкере (BioSan, Латвия). После инкубации планшет с клетками центрифугировали (5 минут, 450g), супернатант удаляли, а клетки отмывали в полной питательной среде 2 раза (150 мкл среды на лунку). После отмывки осадки с клетками ресуспендировали, а их поверхностные маркеры (CD4, CD25 и CD161) фиксировали в заранее приготовленном буфере. Fixation/Permeabilization Concentrate (eBioscience, США) разводили Fixation/Permeabilization Diluent (eBioscience, США) в соотношении 1:3, а затем в каждую лунку планшета вносили по 150 мкл приготовленного рабочего раствора. Клетки с раствором в лунках тщательно перемешивали и инкубировали 1 час в темном месте при +4 °C на мультишейкере (BioSan, Латвия). После инкубации клетки центрифугировали (5 минут, 450g), супернатанты удаляли, а к осадкам (в лунки для окрашивания Th17) добавляли по 200 мкл/лунка 0,09 %-го раствора NaN<sub>3</sub>. Каждую лунку с суспензией клеток тщательно перемешивали, а затем переносили в пробирки для цитометрии. В то же время к осадкам клеток (в лунки для окрашивания Treg) добавляли по 90 мкл на лунку заранее приготовленного пермеабилизирующего буфера (10-кратный раствор Permeabilization Buffer (eBioscience, США) разводили деионизированной водой в соотношении 1:9), клетки инкубировали 10 минут в темном месте при +4 °C на мультишейкере (BioSan, Латвия). После инкубации в лунки вносили по 3 мкл/образец антител к FoxP3 (eBioscience, США), меченных PE, тщательно перемешивали и инкубировали 30 минут в темном месте при +4 °C. После инкубации клетки центрифугировали (5 минут, 450g), супернатанты удаляли, а осадки отмывали в

пермеабилизирующем буфере 2 раза (по 150 мкл на лунку). Далее к осадкам клеток добавляли по 200 мкл на лунку 0,09 %-го раствора  $\text{NaN}_3$ . Каждую лунку с суспензией клеток тщательно перемешивали, а затем переносили в пробирки для цитометрии. Определение уровня экспрессии рецепторных молекул и внутриклеточного анализита в лимфоцитах крови проводили на проточном цитофлуориметре FacsCalibur (Beckton Dickinson, США). Оценивали содержание  $\text{CD4}^+\text{CD161}^+$  и  $\text{CD4}^+\text{FoxP3}^+$  клеток как (%) от общего числа  $\text{CD4}^+$ -лимфоцитов пробы. Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения BD CellQuest™ Pro (Beckton Dickinson, США).

### **2.15 – Получение образцов желудочного сока от больных хроническим гастритом**

Образцы желудочного сока для выявления ДНК *H. pylori* были получены от больных хроническим гастритом до начала лечения антибиотиками и антисекреторными препаратами. Процедуру аспирации желудочного содержимого осуществлял врач-эндоскопист (Клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора) через биопсийный канал в одноразовый стерильный контейнер с помощью электроотсоса. Образцы желудочного сока доставлялись в Приволжский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД и хранились при  $+4^\circ\text{C}$  не более 2 часов, а затем использовались в работе.

### **2.16 – Обнаружение ДНК *Helicobacter pylori* в образцах желудочного сока больных хроническим гастритом методом полимеразной цепной реакции в реальном времени**

Образцы желудочного сока, полученные от больных хроническим гастритом, использовали для экстракции ДНК *Helicobacter pylori* с помощью набора «РеалБест ДНК-экстракция 2» («Вектор-Бест», Россия), согласно инструкции производителя. Далее проводили качественную полимеразную цепную реакцию с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени с использованием комплекта реагентов «РеалБест ДНК *Helicobacter*

*pylori*» («Вектор-Бест», Россия). Данную процедуру выполняли врачи клинико-лабораторной диагностики Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД (И.В. Кузнецова и Т.Ю. Бутина). Принцип анализа основан на регистрации процесса амплификации фрагмента ДНК, заключающегося в серии повторяющихся циклов (температурная денатурация ДНК, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями, достройка полинуклеотидных последовательностей с этих праймеров *Taq*-ДНК полимеразой). В основе метода регистрации лежит измерение сигналов флуоресценции в каждом цикле ПЦР. Увеличение сигналов флуоресценции происходит благодаря использованию гибридизационных флуоресцентно-меченных ДНК-зондов, которые в ходе реакции связываются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени и разрушаются *Taq*-полимеразой, в результате чего разобщаются краситель и тушитель и происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Для анализа использовали пробы выделенной ДНК. Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения ДНК, содержала положительный контрольный образец (ПКО) и отрицательный контрольный образец (ОКО). Пробирки с готовой реакционной смесью для амплификации маркировали для необходимого количества проб. Далее в пробирки с маркировкой «образцы желудочного сока» вносили по 50 мкл раствора выделенной ДНК от каждого пациента, а в пробирки с маркировкой «положительный контроль (К+)» и «отрицательный контроль (К-)» вносили по 50 мкл положительного контрольного образца (ПКО) и отрицательного контрольного образца (ОКО). В пробирку с маркировкой «внутренний контрольный образец (ВКО)» вносили 50 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. Все пробы помещали в микроцентрифугу (Eppendorf, Германия) и центрифугировали 3–5 секунд для удаления капель жидкости с внутренних поверхностей крышек и стенок пробирок. Далее пробирки устанавливали в реакционный модуль прибора

DTprime5 (ООО «ДНК-Технология, Россия). Программирование амплификатора для соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала выполняли в соответствии с инструкцией к прибору. Измерение флуоресценции проводили при 60°C. Детекцию флуоресценции осуществляли по каналам «FAM» и «ROX» для ДНК ВКО и ДНК *Helicobacter pylori* и определяли значение порогового цикла Ct. Анализируемый образец считали положительным (ДНК *Helicobacter pylori* – обнаружена), если для этого образца значение Ct по каналу «ROX» было меньше или равно 40. Результат анализа образца считали отрицательным (ДНК *Helicobacter pylori* – не обнаружена), если для этого образца значение Ct по каналу «ROX» было больше 40 или не определялось. Температурно-временной профиль реакции указан в *Таблице 1*.

**Таблица 1 – Температурно-временной профиль реакции**

| Процесс               |             | t, °C | Время,<br>мин:сек | Каналы<br>детекции | Количество<br>циклов |
|-----------------------|-------------|-------|-------------------|--------------------|----------------------|
| Начальная денатурация |             | 50    | 02:00             | –                  | 1                    |
| Амплификация          | Денатурация | 95    | 02:00             | –                  | 50                   |
|                       | Отжиг       | 94    | 00:10             | –                  |                      |
|                       | Элонгация   | 60    | 00:20             | FAM, ROX           |                      |

*Примечание:* FAM – Carboxyfluorescein (Карбоксифлуоресцеин); ROX – Carboxy-X-rhodamine (Карбокси-X-родамин); t – temperature (температура).

В зависимости от результата анализа ПЦР (положительный или отрицательный) больные с хроническим гастритом были разделены на две группы (основную и группу сравнения). В основную группу вошли лица с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом (n=179), а в группу сравнения – лица с *H. pylori*-неассоциированным хроническим гастритом (n=171).

## **2.17 – Иммунофенотипирование Th17 и Treg в крови больных хроническим гастритом методом проточной лазерной цитофлуориметрии**

Для определения фенотипа CD4<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> (Treg) и CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток использовали иммунофлуоресцентное окрашивание и проточную лазерную цитофлуориметрию. Из образцов цельной периферической крови больных хроническим гастритом выделяли фракцию лейкоцитарных клеток. Для этого в

пробирки ( $V=15$  мл) вносили периферическую кровь в объеме 0,2 мл от каждого пациента, которую смешивали с 3,8 мл однократного раствора для лизиса эритроцитов (1x RBC Lysis Buffer, eBioscience, США) и инкубировали 10 минут в темном месте при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации пробирки с клетками центрифугировали (5 минут, 450g), супернатанты удаляли. Осадки с клетками ресуспендировали и отмывали еще раз путем внесения 4 мл раствора для лизиса эритроцитов (5 минут, 450g). После отмывки супернатанты удаляли, а к осадкам с клетками добавляли 250 мкл/образец буфера для цитометрии (Flow Cytometry Staining Buffer, eBioscience, США) и тщательно перемешивали. Затем подсчитывали количество клеток в камере Горяева (Линза, Россия) по общепринятой методике и определяли их жизнеспособность с использованием 0,4 %-го раствора трипанового синего (ПанЭко, Россия). Жизнеспособность выделенных лейкоцитов составила не менее 95 %. В работе использовали суспензию клеток с концентрацией  $5 \times 10^6$  кл/мл. Далее фракцию лейкоцитов, полученную от каждого пациента с хроническим гастритом, аликвотировали по 100 мкл в два эппендорфа, а затем проводили иммунофлуоресцентное окрашивание (Th17 и Treg) с использованием коктейля меченных моноклональных антител производства eBioscience (США).

Окрашивание Th17 и Treg осуществляли следующим образом. На первом этапе проводили поверхностное окрашивание молекул CD4 и CD161, располагающихся на наружной мембране лимфоцитов. Для этого в пробирки для окрашивания Th17 (содержащих 100 мкл суспензии с клетками) добавляли 25 мкл на образец заранее приготовленного коктейля антител (0,5 мкл анти-CD4, меченных FITS, и 1 мкл анти-CD161, меченных PE, разводили в 25 мкл буфера для цитометрии). В пробирки для окрашивания Treg (содержащих 100 мкл суспензии с клетками) добавляли 25 мкл на образец заранее приготовленных антител (0,5 мкл анти-CD4, меченных FITS, разводили в 25 мкл буфера для цитометрии). Суспензии с клетками и антителами тщательно перемешивали и инкубировали 30 минут в темном месте при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации, не удаляя супернатант, в пробирки вносили физиологический раствор до объема 1 мл, а затем

образцы помещали в центрифугу (5 минут, 450g). После центрифугирования супернатанты удаляли, а осадки с клетками ресуспендировали в 100 мкл буфера для цитометрии. Затем проводили фиксацию поверхностных молекул (CD4 и CD161). В каждую пробирку с клетками вносили по 1 мл рабочего раствора для фиксации (Fixation/Permeabilization Concentrate разводили Fixation/Permeabilization Diluent в соотношении 1:3), тщательно перемешивали и инкубировали 45 минут в темном месте при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации пробирки с клетками центрифугировали (5 минут, 450g), супернатанты удаляли, а осадки с клетками (пробирки для окрашивания Th17) ресуспендировали в 100 мкл буфера для цитометрии и использовали для цитофлуориметрического анализа. В то же время осадки с клетками (пробирки для окрашивания Treg) ресуспендировали в 2 мл рабочего раствора для пермеабилзации (10-кратный раствор Permeabilization Buffer (eBioscience, США) разводили деионизированной водой в соотношении 1:9) и инкубировали 10 минут в темном месте при комнатной температуре (18–22 °C), а после центрифугировали (5 минут, 450g). Супернатанты удаляли, а осадки ресуспендировали и отмывали еще раз путем добавления 2 мл рабочего раствора для пермеабилзации с повторным центрифугированием (5 минут, 450g). Далее супернатанты удаляли, а осадки с клетками ресуспендировали в 100 мкл раствора для пермеабилзации, к которым добавляли 25 мкл на образец заранее приготовленных антител к Foxp3 (1 мкл моноклональных антител к молекуле Foxp3, меченных PE (eBioscience, США), разводили в 25 мкл буфера для цитометрии). Тщательно перемешивали и инкубировали 30 минут в темном месте при комнатной температуре (18–22 °C). После инкубации во все пробирки вносили рабочий раствор для пермеабилзации (2 мл/образец), а затем образцы помещали в центрифугу (5 минут, 450g). Супернатанты удаляли, а осадки ресуспендировали и отмывали еще раз путем добавления 2 мл рабочего раствора для пермеабилзации с повторным центрифугированием (5 минут, 450g). После повторного центрифугирования супернатанты удаляли, а осадки с клетками ресуспендировали в 100 мкл буфера для цитометрии и использовали для цитофлуориметрического анализа.

Определение уровня экспрессии рецепторных молекул и внутриклеточного анализита в лимфоцитах крови проводили на проточном лазерном цитофлуориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Оценивали содержание CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток как (%) от общего числа лимфоцитов пробы. Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения CytExpert 2,2 (США).

### **2.18 – Экстракция нуклеиновых кислот из образцов периферической крови больных хроническим гастритом**

Для выделения нуклеиновых кислот из образцов периферической крови больных хроническим гастритом использовали коммерческий набор «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). В пробирки вносили по 0,3 мл раствора для лизиса эритроцитов, а затем добавляли по 0,1 мл цельной периферической крови от каждого пациента. Все пробирки с образцами тщательно перемешивали на вортексе (BioSan, Латвия), затем помещали в микроцентрифугу (Eppendorf, Германия) и центрифугировали 3–5 секунд для удаления капель жидкости с внутренних поверхностей крышек и стенок пробирок. После центрифугирования пробы прогревали 5 минут в термостате при 65 °С (BioSan, Латвия). В пробирки добавляли раствор для преципитации (по 400 мкл на образец), перемешивали на вортексе и центрифугировали (5 минут, 13 тыс. об/мин). Используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы, отбирали надосадочную жидкость, а осадок с нуклеиновой кислотой (РНК/ДНК) отмывали два раза. Сначала вносили раствор для отмывки 3 (по 500 мкл на образец), затем раствор для отмывки 4 (по 200 мкл на образец). Пробы центрифугировали 2 минуты при 13 тыс. об/мин., супернатанты удаляли, пробирки с открытыми крышками помещали в термостат на 5 минут при 65 °С для подсушивания осадка. В пробирки вносили РНК-буфер (по 50 мкл на образец) для растворения осадка. Пробы перемешивали и помещали в термостат на 5 минут при 65 °С. После инкубации пробирки с образцами центрифугировали в течение 1 минуты при 13 тыс об/мин. Надосадочная жидкость содержала препарат очищенных РНК/ДНК.

## **2.19 – Определение экспрессии мРНК IL-17A, FoxP3, TNF- $\alpha$ в крови больных хроническим гастритом методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени**

В крови больных хроническим гастритом с использованием ПЦР-ОТ-РВ определяли относительный уровень мРНК IL-17A, мРНК FoxP3 и мРНК TNF- $\alpha$ . Для удаления ДНК из препарата очищенных нуклеиновых кислот (РНК/ДНК) использовали набор реагентов DNase I, RNase-free (Thermo Fisher scientific), согласно инструкции производителя. Для этого отбирали аликвоту нуклеиновой кислоты и доводили ее объем до 10 мкл водой, свободной от РНКаз. Далее добавляли 1 мкл 10-кратного реакционного буфера (100 mM Tris-HCl, pH 7,5, t 25 °C; 25 mM MgCl<sub>2</sub>; 1 mM CaCl<sub>2</sub>) и 1 мкл DNase I, RNase-free (1 ед. акт.). Полученную смесь перемешивали и инкубировали при 37 °C в течение 30 минут. Далее добавляли 1 мкл 50 mM ЭДТА и инкубировали 10 мин при 65 °C. Полученный препарат очищенной РНК использовали в реакции обратной транскрипции. Для этого готовили реакционную смесь с использованием набора реагентов для синтеза первой цепи кДНК (Евроген, Россия), добавляли реагенты в стерильную, свободную от нуклеаз пробирку в следующем порядке: 2,5 мкг тотальной РНК, 2 мкл Oligo(dT)<sub>15</sub>-primer (20μM) и доводили до объема 11 мкл деионизированной водой, свободной от нуклеаз. Смесь прогревали 2 минуты при 70 °C, затем переносили в лед. Добавляли 9 мкл предварительно подготовленной смеси (4 мкл 5x First standard buffer, 2 мкл dNTP<sub>mix</sub> (10mM), 2 мкл DDT (DL-Dithiothreitol, 20 mM) и 1 мкл M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase 100 ед. акт., добавляли в последнюю очередь). Суммарный объем реакционной смеси для каждого образца составлял 20 мкл. Смесь перемешивали и центрифугировали 3–5 секунд для удаления капель жидкости с внутренней поверхности крышки и стенок пробирки. Пробы инкубировали 60 минут при 37°C. Реакцию останавливали нагревом реакционной смеси до 70 °C в течение 10 минут с последующим охлаждением во льду. Продукт синтеза первой цепи кДНК использовали в ПЦР в реальном времени. Для этого в пробирки объемом 200 мкл оптически прозрачными крышками вносили 23 мкл/образец реакционной смеси,

TaqF полимеразы 5 единиц активности (Amplysens, Россия) и 2 мкл кДНК. В состав реакционной смеси входило: 20 mM Tris-HCl pH 8,4; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,4 mM dNTP; 10 пг прямого праймера, 10 пг обратного праймера, 10 пг флуоресцентно меченого зонда как для исследуемой мРНК IL-17A, мРНК FoxP3, мРНК TNF- $\alpha$ , так и для референсной мРНК YWHAZ (нуклеотидные последовательности используемых праймеров и зондов представлены в *Таблице 2*).

**Таблица 2 – Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов для определения уровней мРНК исследуемых генов**

| Ген           | Олигонуклеотид   | Последовательность (5'→3')                |
|---------------|------------------|-------------------------------------------|
| IL-17         | Прямой праймер   | TCTGTGATCTGGGAGGCAAAGT                    |
|               | Обратный праймер | GGAGTTGGGGCAGTGTGGAG                      |
|               | Зонд             | (ROX)TGGGAACGTGGACTACCACATGAACTCT(BHQ-2)  |
| FoxP3         | Прямой праймер   | GAGAAGCTGAGTGCCATGCA                      |
|               | Обратный праймер | GGAGCCCTTGTCTGGATGAT                      |
|               | Зонд             | (ROX)TGCCATTTTCCCAGCCAGGTGG(BHQ-2)        |
| TNF- $\alpha$ | Прямой праймер   | CTCTTCTCCTTCCTGATCTGT                     |
|               | Обратный праймер | TTGAGGGTTTGCTACAACATGG                    |
|               | Зонд             | (ROX)AGAGTTCCCCAGGGACCTCTCTCTAATC(BHQ-2)  |
| YWHAZ         | Прямой праймер   | TGCAATGATGTACTGTCTCT                      |
|               | Обратный праймер | ACTGATCGACAATCCCTTTC                      |
|               | Зонд             | (CY5)ATTACTACCGTTACTTGGCTGAGGTTGCC(BHQ-2) |

*Примечание:* мРНК – матричная РНК; IL-17A – Interleukin-17 (Интерлейкин-17); FoxP3 – Forkhead boxP3 (Фактор транскрипции Т-регуляторных клеток); TNF- $\alpha$  – Tumor necrosis factor- $\alpha$  (Фактор некроза опухоли альфа); YWHAZ – Tyrosine 3-монооксигеназа/tryptophan 5-монооксигеназа activation protein zeta (активационный белок тирозин 3-монооксигеназы/триптофан 5-монооксигеназы зета); ROX – Carboxy-X-rhodamine (Карбокси-X-родамин); BHQ-2 – black hole quenchers-2; CY5 – Cyanine5 (Цианин 5).

Пробирки устанавливали в реакционный модуль прибора для амплификации DTrime5 (ООО «ДНК-Технология», Россия). Программирование амплификатора для соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала проводили в соответствии с инструкцией к прибору. Детекцию флуоресценции осуществляли по каналам «ROX» и «CY5». Температурно-временной профиль реакции указан в *Таблице 3*.

**Таблица 3 – Температурно-временной профиль реакции**

| Процесс               |             | t, °C | Время,<br>мин:сек | Каналы<br>детекции | Количество<br>циклов |
|-----------------------|-------------|-------|-------------------|--------------------|----------------------|
| Начальная денатурация |             | 94    | 05:00             | –                  | 1                    |
| Амплификация          | Денатурация | 94    | 00:30             | –                  | 45                   |
|                       | Отжиг       | 55    | 00:30             | –                  |                      |
|                       | Элонгация   | 72    | 00:30             | ROX, CY5           |                      |

*Примечание:* ROX – Carboxy-X-rhodamine (Карбокси-X-родамин); CY5 – Cyanine5 (Цианин 5); t – temperature (температура).

Оценка экспрессии целевого гена (IL-17A, FoxP3, TNF- $\alpha$ ) производилась относительно экспрессии гена «домашнего хозяйства» (YWHAZ).

Уровень относительной экспрессии (RE) гена-мишени измеряли в относительных единицах и рассчитывали по формуле:

$$RE = E - (Ct_N - Ct_X), \quad (2)$$

где E – эффективность амплификации;

$Ct_N$  – значение порогового цикла амплификации в образце для референсного гена (YWHAZ);

$Ct_X$  – значение порогового цикла амплификации в образце для гена-мишени (IL-17, FoxP3, TNF- $\alpha$ ).

Эффективность амплификации (E) рассчитывали по формуле:

$$E = 10^{-(1/slope)}, \quad (3)$$

где *slope* – разница в значениях Ct при 10-кратном разведении образца (угловой коэффициент уравнения линейной зависимости Ct от логарифма (lg) концентрации матрицы).

## **2.20 – Определение концентрации цитокинов и уровня аутоантител в плазме крови больных хроническим гастритом методом иммуноферментного анализа**

Используя твердофазный иммуноферментный анализ (подобно описанию метода в 2.4), согласно инструкции по применению соответствующих коммерческих тест-наборов, в крови больных хроническим гастритом определяли

уровень IL-2 («Интерлейкин-2-ИФА-БЕСТ», Россия), фактора некроза опухоли альфа («Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», Россия), IL-23 («Human IL-23 Platinum ELISA»; «eBioscience», США), аутоантител к односпиральной и двухспиральной ДНК («Векто-ssДНК-IgG», «Векто-dsДНК-IgG», Россия), ревматоидного фактора («ВектоРевматоидный фактор класса М», Россия), аутоантител к  $\beta$ -2-гликопротеину I («Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG/IgM», Германия), аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе («Анти-ТГ-ИФА-БЕСТ», «Анти-ТПО-ИФА-БЕСТ», Россия). Оптическую плотность образцов измеряли при длине волны (450/620 нм) на микропланшетном ридере Infinite M200 Pro (TECAN, Austria), количественную оценку концентрации цитокинов и аутоантител в образцах определяли с помощью программного обеспечения Magellan 7.2 (Austria). Фирмой-производителем диагностических тест-систем рекомендовано считать нормальным уровень IL-2, находящийся в диапазоне до 10 пг/мл, ФНО-альфа – до 6 пг/мл, IL-23 – до 44 пг/мл, анти-ssДНК-IgG – до 20 Ед/мл, анти-dsДНК-IgG – до 20 Ед/мл, РФ-IgM – до 20 Ед/мл, анти- $\beta$ -2-гликопротеин I класса IgG/IgM – 8 Ед/мл, анти-ТГ – до 100 Ед/мл, анти-ТПО – до 30 Ед/мл.

## 2.21 – Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием компьютерной программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., США). Перед сравнением данных проводили проверку гипотез нормальности распределения количественных признаков в каждой из групп с использованием критериев Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка. Для проверки статистических гипотез применяли двусторонний U-критерий Манна-Уитни и t-тест. Статистические характеристики переменных, соответствовавших нормальному распределению, представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – средняя арифметическая,  $m$  – стандартная ошибка средней. Во всех остальных случаях – в виде  $Me$  (25 %–75 %), – медианы, где 25 % – нижний квартиль, 75 % – верхний квартиль. При  $p \leq 0,05$  различия считали достоверно значимыми.

## ГЛАВА 3 – РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 – Реакция Т-лимфоцитов человека на сокультивирование с *Helicobacter pylori* в модели *in vitro* без участия антигенпрезентирующих клеток

Колонизируя слизистую оболочку желудка, *H. pylori* может вызывать воспаление, в которое вовлекаются клетки как с провоспалительными (Th1 и Th17), так и противовоспалительными (Treg) свойствами [142]. Из литературных источников известно, что у пациентов, инфицированных *H. pylori*, в слизистой оболочке желудка возрастает содержание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg клеток [125; 213; 261], а также обнаруживается повышенная экспрессия IFN- $\gamma$  и IL-17A – ключевых цитокинов Th1 и Th17 клеток в сравнении со здоровыми лицами [208]. Одним из факторов, влияющих на подобное положение вещей, считают способность *H. pylori* воздействовать на иммунный ответ хозяина, направляя его в сторону усиления толерогенных процессов. Дополнительным эффектом подобной стратегии может являться показанная для *H. pylori* способность влиять на протекание некоторых аутоиммунных заболеваний и патологий аллергического характера [106; 141; 184]. Однако до сих пор точно не определены механизмы, с помощью которых *H. pylori* оказывает влияние на дифференцировку Т-лимфоцитов, смещая баланс Th1/Th17/Treg в ту или иную сторону. А экспериментальные работы, в которых исследовалось влияние *H. pylori* на активацию Т-лимфоцитов с использованием дендритных клеток в модели *in vitro* приводило к тому, что в культурах отмечался смешанный иммунный ответ (Th1, Th17, Treg) без значительного доминирования какой-либо из сторон [161; 185; 200; 209; 215]. Имеющиеся данные, по-нашему мнению, наводят на мысль о наличии дополнительных механизмов, с помощью которых *H. pylori* воздействует на Т-клетки и управляет их дифференцировкой. Известно, что во время повреждения ткани желудка *H. pylori* и его метаболиты мигрируют в собственную пластинку, где взаимодействуют с клетками как

врожденного, так и адаптивного иммунитета [51; 98; 159; 224]. В то же время одним из возможных механизмов, по-нашему мнению, может служить способность *H. pylori* или его метаболитов в условиях слизистой желудка напрямую контактировать с отвечающими Т-лимфоцитами и влиять на их активацию и дифференцировку. Гипотеза существования прямого модулирующего воздействия патогена на субпопуляционный состав Т-лимфоцитов в модели *in vitro* является наиболее легко проверяемой и имеет ограниченное экспериментальное подтверждение [162; 181].

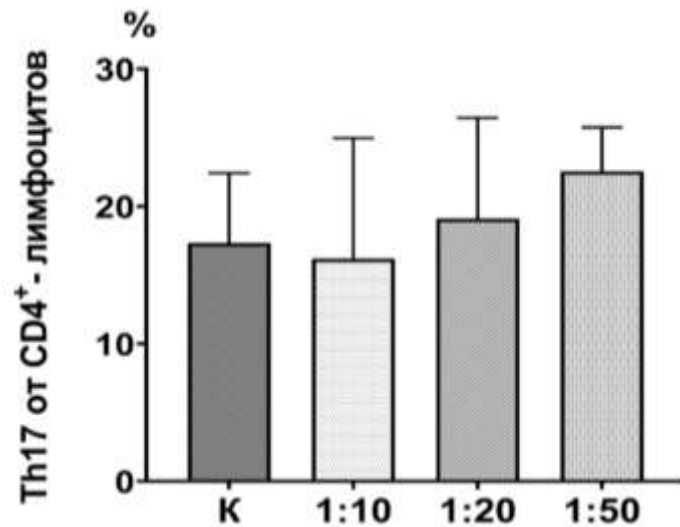
### **3.1.1 – Влияние *Helicobacter pylori* на содержание Th17 и IFN- $\gamma$ в культурах лимфоцитов**

Для проверки предполагаемой гипотезы на начальном этапе работы в мы исследовали реакцию Т-лимфоцитов человека в ответ на сокультивирование с *H. pylori* без участия антигенпрезентирующих клеток. В культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов оценивали содержание клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17), последние, по данным ряда авторов, связаны с течением ряда аутоиммунных заболеваний, таких как рассеянный склероз, ревматоидный артрит, системная красная волчанка [111; 234].

Было показано, что в контрольной культуре интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К) относительное количество клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> составило 17,34 $\pm$ 2,07 % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (*Рисунок 1*). При сокультивировании CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с различными концентрациями бактериальных суспензий *H. pylori* (1:10, 1:20 и 1:50) относительное количество CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> клеток составило 16,20 $\pm$ 3,58 %, 19,10 $\pm$ 3,00 % и 22,55 $\pm$ 1,43 % соответственно. Достоверно значимых различий как между группами, так и по отношению к контрольной культуре интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К) обнаружено не было.

Поскольку в модели данного эксперимента в культурах лимфоцитов и *H. pylori* отсутствовали профессиональные антигенпрезентирующие клетки, параллельно мы исследовали влияние *H. pylori* на реакцию CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов в присутствии моноклональных антител к компоненту Т-клеточного рецепторного комплекса (CD3) и молекуле костимуляции (CD28). Данные антитела, связываясь

с белками на поверхности Т-лимфоцитов, способны инициировать сигналы, имитирующие стимуляцию антигенпрезентирующих клеток через Т-клеточный рецептор [351].

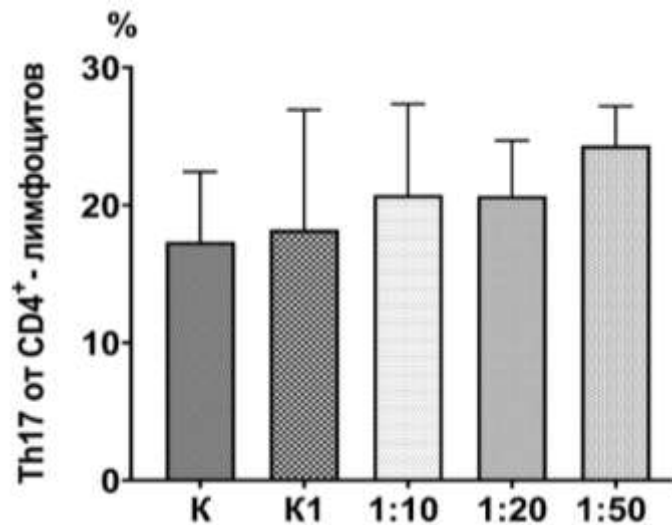


**Рисунок 1 – Относительное количество клеток (%) фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) в культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов после добавления *H. pylori***

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношения количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori*.

Было продемонстрировано, что в контрольной культуре CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К1), не стимулированных *H. pylori*, но с добавлением антител к CD3 и CD28, относительное количество клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> составило 18,21±3,90 % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов и достоверно значимо не отличалось от контрольной культуры интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К) (Рисунок 2). В то же время сокультивирование CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori* в соотношениях 1:10, 1:20 и 1:50 совместно с антителами к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28 также не приводило к достоверным изменениям относительного количества CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> клеток в сравнении с контрольными культурами лимфоцитов (К и К1). Относительное количество CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> клеток в культурах лимфоцитов составило 20,73±2,95 %, 20,66±2,02 % и 24,33±1,65 % для соотношений 1:10, 1:20 и 1:50 соответственно. Таким образом, было установлено, что *H. pylori* в модели *in vitro* при отсутствии в культурах профессиональных антигенпрезентирующих клеток не индуцировал CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, выделенные из периферической крови условно

здоровых доноров, дифференцироваться по пути CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток. И этот эффект не зависел от присутствия или отсутствия в культурах моноклональных антител к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28.

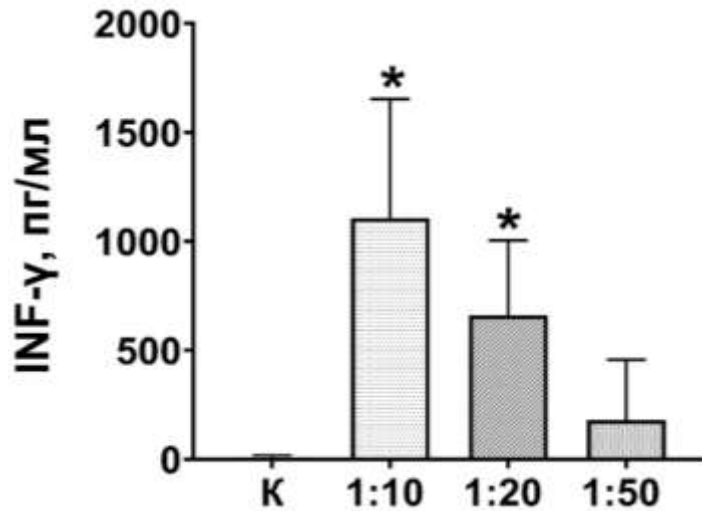


**Рисунок 2 – Относительное количество клеток (%) фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) в культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов после добавления *H. pylori* и антител к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28**

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; К1 (Контроль 1) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты + антитела к CD3 и CD28; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношения количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* + антитела к CD3 и CD28.

Субпопуляция Th17 не является единственным индуктором и участником аутоиммунных реакций, поскольку многие иммуновоспалительные процессы развиваются при участии Th1, и вопрос о значимости индивидуального вклада Th17 и Th1 в развитии конкретной патологии остается открытым. Учитывая вышеизложенное, определяли концентрацию IFN- $\gamma$  (ключевого цитокина Th1) в супернатантах клеточных культур после стимуляции лимфоцитов различными концентрациями бактериальных суспензий *H. pylori*. Мы обнаружили, что в контрольной культуре интактных клеток (CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*) концентрация IFN- $\gamma$  составила 10,00 $\pm$ 4,08 пг/мл (Рисунок 3). В то же время сокультивирование CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori* в соотношении (1:10 и 1:50) приводило к достоверному повышению концентрации IFN- $\gamma$  в супернатантах клеточных культур и составило 1107,00 $\pm$ 315,20 пг/мл и 660,00 $\pm$ 198,60 пг/мл соответственно. Для соотношения количества лимфоцитов к количеству клеток *H.*

*pylori* (1:50) концентрация IFN- $\gamma$  составила  $180,00 \pm 160,10$  пг/мл и достоверно не отличалась от контрольной культуры интактных клеток (CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*).

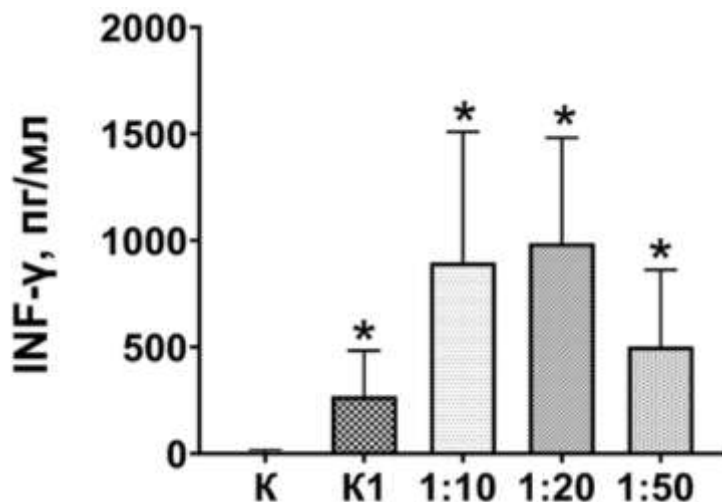


**Рисунок 3 – Концентрация IFN- $\gamma$  в супернатантах клеточных культур после сокультивирования CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori***

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношение количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori*; \* ( $p < 0,05$ ) – достоверно значимые отличия от К.

Далее мы оценили влияние сигналов, поступающих от анти-CD3 и анти-CD28 при их добавлении к культурам клеток. Было показано, что добавление антител к компоненту Т-клеточного рецепторного комплекса (CD3) и молекуле костимуляции (CD28) к контрольной культуре лимфоцитов без *H. pylori* (K1) приводило к достоверному повышению концентрации IFN- $\gamma$  в супернатантах клеточных культур до  $270,00 \pm 106,29$  пг/мл в сравнении с контрольной культурой интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К) (Рисунок 4). В то же время добавление к культурам клеток (CD4<sup>+</sup>-лимфоциты сокультивированные с различными концентрациями бактериальных суспензий *H. pylori*) антител к CD3 и CD28 приводило к достоверному повышению концентрации IFN- $\gamma$  в супернатантах клеточных культур и составило  $897,49 \pm 306,10$  пг/мл,  $987,45 \pm 247,10$  пг/мл и  $502,50 \pm 180,00$  пг/мл для соотношений количества лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* (1:10, 1:20 и 1:50). Все CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, сокультивированные с

различными концентрациями бактерий в присутствии антител к CD3 и CD28, достоверно значимо отличались от контрольной культуры интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К) и не отличались от контрольной культуры лимфоцитов, стимулированных антителами к CD3 и CD28 (К1).



**Рисунок 4 – Концентрация IFN-γ в супернатантах клеточных культур после сокультивирования CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori* и антителами к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28**

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; К1 (Контроль 1) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты + антитела к CD3 и CD28; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношение количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* + антитела к CD3 и CD28; \* (p < 0,05) – достоверно значимые отличия от К.

Таким образом, в условиях данного эксперимента мы продемонстрировали, что популяция CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток периферической крови условно здоровых доноров, по-видимому, не восприимчива к воздействию *H. pylori*, поскольку содержание Th17 клеток в культурах лимфоцитов, стимулированных различными концентрациями бактериальных суспензий, не отличалось от содержания Th17 клеток, обнаруживаемых в контрольной культуре интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. Вероятно, что ответная реакция Т-хелперов на сокультивирование с *H. pylori* при ее провоспалительном течении проходит по Th1 типу, без существенного вовлечения Th17 клеток. Было обнаружено, что стимуляция CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов разными концентрациями бактерий приводила к достоверному повышению концентрации IFN-γ в супернатантах клеточных культур в сравнении с концентрацией IFN-γ в контрольной культуре интактных

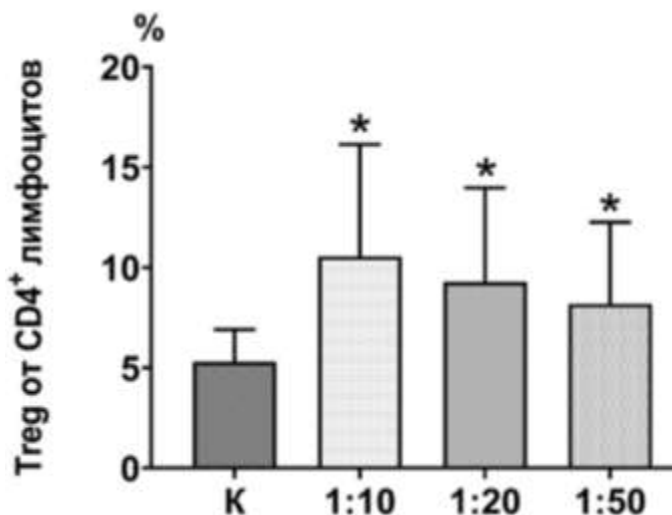
CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, что свидетельствует о функциональной активации Th1 клеток в ответ на *H. pylori*.

Полученные данные соотносятся с описанными в литературе сообщениями, согласно которым протекание *H. pylori*-ассоциированных гастритов приводит к Th1-доминантному ответу, и воспаление слизистой оболочки желудка связано с повышенной продукцией IFN- $\gamma$  [21; 63; 225; 327].

### **3.1.2 – Влияние *Helicobacter pylori* на содержание Treg и IL-10 в культурах лимфоцитов**

Известно, что Т-регуляторные клетки, продуцирующие IL-10, считаются одним из ключевых факторов, регулирующих индуцированное воспаление и позволяющее *H. pylori* персистировать в слизистой оболочке желудка. Мы оценили содержание клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) в культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов в ответ на сокультивирование с *H. pylori*.

В контрольной культуре интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (К) относительное количество Treg составило  $5,30 \pm 1,60$  % от всех CD4<sup>+</sup>-клеток (Рисунок 5). При сокультивировании CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с различными концентрациями бактериальных суспензий наблюдалось достоверное повышение относительного количества Treg (для всех соотношений лимфоцитов к *H. pylori*) в сравнении с контрольной культурой интактных клеток (К). При соотношении CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к *H. pylori* (1:10) относительное количество CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> было максимальным и составило  $10,56 \pm 5,59$  %. Как можно видеть, в ряду соотношений наблюдалась тенденция к обратной дозовой зависимости. Соотношение количества лимфоцитов к *H. pylori* (1:10) показало наибольший прирост содержания Treg, который снижался при увеличении концентрации бактерий в культурах лимфоцитов. Однако данная тенденция осталась статистически недостоверной. Относительное количество Treg клеток в культурах лимфоцитов для соотношений (1:20 и 1:50) составило  $9,28 \pm 4,69$  % и  $8,19 \pm 4,06$  % соответственно.



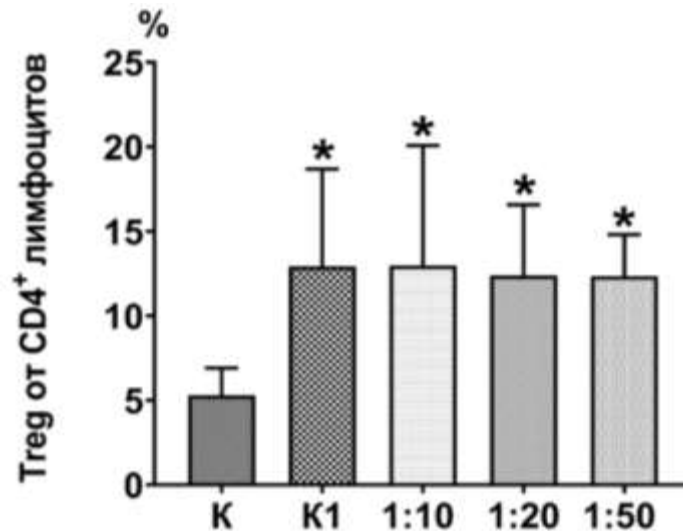
**Рисунок 5 – Относительное количество клеток (%) фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) в культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов после добавления *H. pylori***

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношения количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori*; \* (p < 0,05) – достоверно значимые отличия от К.

По-видимому, соотношение количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* (1:10) в условиях данного эксперимента явилось оптимальным для активации CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) клеток.

Аналогично экспериментам с Th17 клетками к культурам CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов добавляли антитела к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28. Было продемонстрировано, что относительное количество Treg в контрольной культуре лимфоцитов без *H. pylori*, но с добавлением анти-CD3 и анти-CD28 (K1) достоверно значимо повышалось до 12,93±2,04 % в сравнении с контрольной культурой интактных клеток (К) (Рисунок 6). В то же время введение в культуры лимфоцитов *H. pylori* в разных концентрациях совместно с антителами к CD3 и CD28 не приводило к дополнительному достоверному повышению относительного количества Treg в сравнении с K1 и составило 12,98±2,50 %, 12,39±1,71 %, 12,35±1,10 % для соотношений 1:10, 1:20 и 1:50 соответственно. Вероятно, воздействие *H. pylori* затрагивало клетки, исходно коммитированные к развитию в сторону Treg, так как стимуляция антителами к CD3 и CD28 антигену «поглощала» эффект от введения бактерий – культуры, стимулированные только антителами, а

также антителами одновременно с *H. pylori* достоверно не отличались по содержанию Treg.

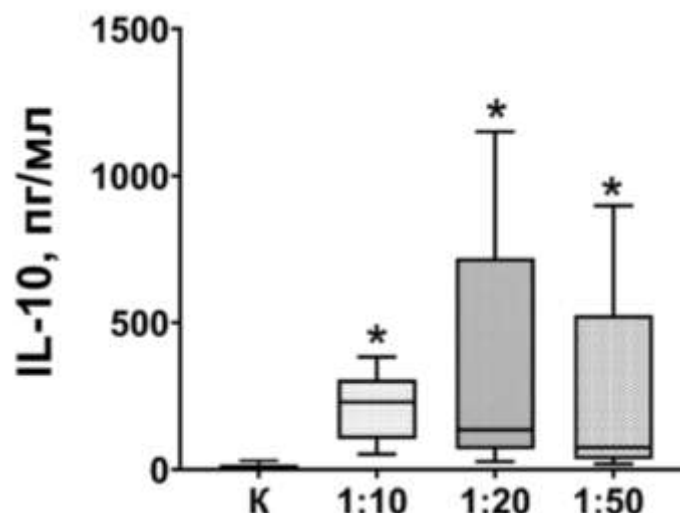


**Рисунок 6 – Относительное количество клеток (%) фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) в культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов после добавления *H. pylori* и антител к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28**

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; K1 (Контроль 1) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты + антитела к CD3 и CD28; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношения количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* + антитела к CD3 и CD28; \* (p < 0,05) – достоверно значимые отличия от К.

Параллельно в супернатантах клеточных культур оценивали продукцию IL-10 – важного супрессорного цитокина Treg клеток. Было показано, что в контрольной культуре интактных клеток (К) медиана концентрации IL-10 составила 0,00 [0,00–16,50] пг/мл (Рисунок 7). В то же время, сокультивирование CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с различными концентрациями бактериальных суспензий *H. pylori* приводило к достоверному повышению концентрации IL-10 в супернатантах клеточных культур и составило 230,00 [103,50–306,50] пг/мл, 135,00 [68,50–720,00] пг/мл и 75,00 [35,00–526,50] пг/мл для соотношений количества лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* (1:10, 1:20 и 1:50) соответственно. Как можно видеть, в ряду соотношений наблюдалась тенденция к обратной дозовой зависимости. Соотношение количества лимфоцитов к *H. pylori* (1:10) показало наибольшую концентрацию IL-10 в супернатантах клеточных культур, которая

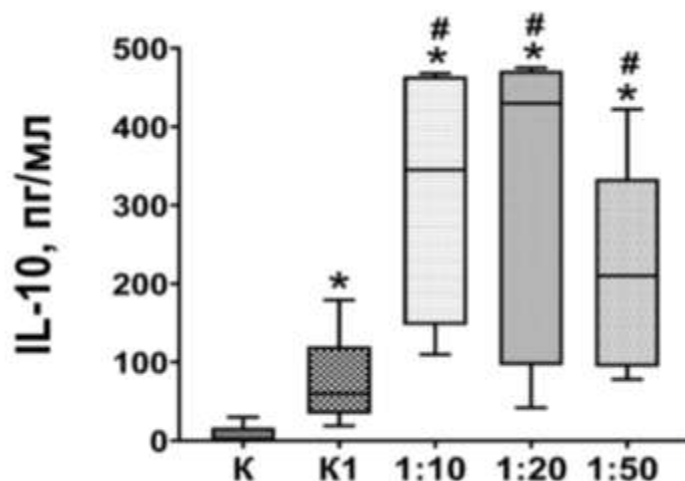
понижалась при увеличении концентрации бактерий в культурах лимфоцитов. Однако данная тенденция осталась статистически недостоверной.



**Рисунок 7 – Концентрация IL-10 в супернатантах клеточных культур после сокультивирования CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori***

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношение количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori*; \* ( $p < 0,05$ ) – достоверно значимые отличия от К.

В то же время в контрольной культуре лимфоцитов (K1) без *H. pylori*, но с добавлением антител к CD3 и CD28, медиана концентрации IL-10 составила 60,00 [34,00–120,00] пг/мл (Рисунок 8). При добавлении к CD4<sup>+</sup>-лимфоцитам *H. pylori* в разных соотношениях (1:10, 1:20 и 1:50) совместно с антителами к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28 медиана концентрации IL-10 в супернатантах клеточных культур достоверно повышалась как по отношению к K1, так и по отношению к контрольной культуре интактных клеток (К) и составила 345,00 [147,50–464,00], 430,00 [96,00–471,50] и 210,00 [94,00–333,50] пг/мл соответственно.



**Рисунок 8 – Концентрация IL-10 в супернатантах клеточных культур после сокультивирования CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *H. pylori* и антителами к CD3-антигену и молекуле костимуляции CD28**

*Примечание:* К (Контроль) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, не стимулированные *H. pylori*; K1 (Контроль 1) – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты + антитела к CD3 и CD28; 1:10, 1:20, 1:50 – соотношение количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* + антитела к CD3 и CD28; \* ( $p < 0,05$ ) – достоверно значимые отличия от К; # ( $p < 0,05$ ) – достоверные отличия от K1.

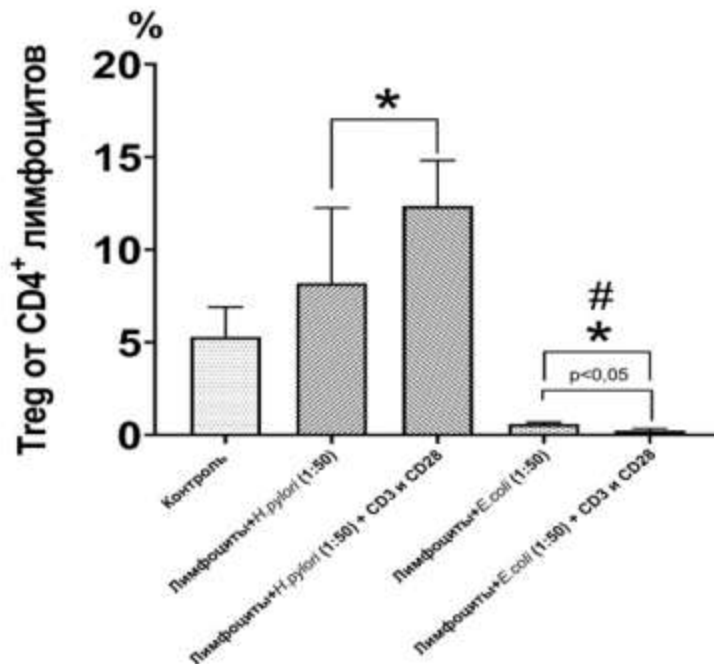
В условиях данного эксперимента было показано, что воздействие различных концентраций бактериальных суспензий *H. pylori* на CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты периферической крови условно здоровых доноров приводило к активации в культурах лимфоцитов CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) клеток и повышенной экспрессии IL-10. Данный эффект не зависел от присутствия в культурах лимфоцитов профессиональных антигенпрезентирующих клеток. По-видимому, воздействие *H. pylori* затрагивало клетки, исходно коммитированные к развитию в сторону Treg. В то же время известно, что естественные Treg клетки экспрессируют на своей мембране Toll-подобные рецепторы и, следовательно, могут быть активированы непосредственно возбудителем инфекции, несущим соответствующий лиганд на своей поверхности. Эксперименты *in vitro* указывают на то, что естественные Treg приобретают способность к пролиферации после стимуляции их TLR лигандами микроорганизмов [27]. Мы предположили, что *H. pylori* может выступать в роли активатора Treg клеток посредством взаимодействия паттернов микроба или продуктов его метаболизма с Toll-подобными рецепторами на мембране Т-лимфоцитов. Таким образом, индуцированные *H. pylori* Treg клетки ограничивают

развитие антимикробного ответа и способствуют персистенции возбудителя в организме хозяина.

### **3.1.3 – Влияние *Escherichia coli* на содержание Treg в культурах лимфоцитов**

Для проверки специфичности действия *H. pylori* индуцировать повышение Treg клеток в культурах лимфоцитов мы провели дополнительные эксперименты с использованием другого микроорганизма, имеющего кишечную локализацию – *Escherichia coli* (*E. coli*). В работе использовали штамм *E. coli* M-17 (получен из коллекции маточных культур ФГУП НПО «Микроген» Минздрава России, г. Нижний Новгород, Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов «ИмБио»). Восстановление лиофильно высушенного штамма *E. coli* M-17 проводили с использованием мясо-пептонного бульона (Nutrient Broth, HiMedia). Суспензию с бактериями высевали по 0,05 мл на питательную среду для выделения энтеробактерий (Эндо-ГРМ, Оболенск) и инкубировали в термостате при 37 °C в течение 1 суток. Видовую идентификацию суточных культур бактерий подтверждали с использованием времяпролетного MALDI масс-спектрометра Autoflex (Bruker Daltonics, Германия) по полученным значениям Score, сравнивая с данными спектров референсной библиотеки BioTyper 3,0. Результат анализа показал, что значение Score для анализируемых микроорганизмов составил 2,56 (идентификация до вида). Колонии с выросшей культурой *E. coli* использовали для сокультивирования *in vitro* с CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами, полученными от условно здоровых доноров. В эксперименте использовали соотношение CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к *E. coli* равное 1:50 ( $5 \times 10^5$  лимфоцитов/мл :  $25 \times 10^6$  *E. coli*/мл). Часть лимфоцитов сокультивировали с бактериями в присутствии моноклональных антител к CD3 и CD28 (1 мкг/мл, eBioscience, США и 3 мкг/мл Beckman Coulter, Франция). Результат влияния *E. coli* на CD4<sup>+</sup>-лимфоциты оценивали по изменению содержания относительного количества клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) в культурах лимфоцитов.

Было показано, что в контрольной культуре интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (Контроль) относительное количество Treg составило  $5,30 \pm 1,60$  % от всех CD4<sup>+</sup>-клеток (Рисунок 9). При сокультивировании CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с *E. coli* в соотношении (1:50), а также с добавлением антител к CD3 и CD28 наблюдалось достоверное снижение относительного количества Treg в сравнении с контрольной культурой интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (Контроль). Для соотношения CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к *E. coli* (1:50) относительное количество CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток в культурах составило  $0,59 \pm 0,07$  %, а для соотношения CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к *E. coli* (1:50) совместно с антителами к CD3 и CD28 относительное количество CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток в культурах составило  $0,22 \pm 0,12$  % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов.



**Рисунок 9 – Относительное количество клеток (%) фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) в культурах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов после добавления *H. pylori* и *E. coli***

*Примечание:* Контроль – CD4<sup>+</sup>-лимфоциты; 1:50 – соотношение количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов к количеству клеток *H. pylori* или *E. coli* + антитела к CD3 и CD28; \* ( $p < 0,05$ ) – достоверно значимые отличия от Контроль; # – достоверно значимые отличия от Лимфоциты+ *H. pylori* (1:50) и Лимфоциты+ *H. pylori* (1:50) + CD3 и CD28.

Мы получили результаты, согласно которым *E. coli*, в отличие от *H. pylori*, не индуцировала активацию T-reg клеток в культурах лимфоцитов, а также препятствовала стимулирующему действию антител. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что стимулирующее дифференцировку T-reg клеток влияние является свойством именно *H. pylori* и, по всей видимости, не опосредуется паттернами патогенов, сходными у *H. pylori* и *E. coli* – подвижных грамотрицательных микроорганизмов.

Полученные в целом результаты свидетельствуют о том, что совместное культивирование *H. pylori* с CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитами в модели *in vitro* вызывало популяционные изменения, которые можно обозначить как поляризацию в сторону супрессорных и провоспалительных клеток с повышенной продукцией соответствующих цитокинов без проявлений возможных аутоиммунных сдвигов в сторону Th17 клеток. При этом в супернатантах клеточных культур наблюдалось достоверное повышение IFN- $\gamma$ , который является маркером развития провоспалительного Th1 иммунного ответа, а содержание CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток не менялось на фоне достоверного повышения в культурах количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3 лимфоцитов и повышенной концентрации в супернатантах клеточных культур супрессорного цитокина IL-10. По всей видимости, в условиях данного эксперимента воздействие *H. pylori* затрагивало клетки, исходно коммитированные к развитию в сторону Treg, так как поликлональная стимуляция антителами к CD28 и CD3 «поглощала» эффект от введения бактерий: культуры, стимулированные только антителами, а также антителами одновременно с *H. pylori*, достоверно не отличались по содержанию Treg клеток. В то же время полученные данные об увеличении содержания клеток, содержащих транскрипционный фактор, характерный для регуляторных Т-хелперов, и концентрации анализируемых цитокинов в условиях данного эксперимента не исключают тот факт, что выделенная культура лимфоцитов могла содержать эффекторные Т-клетки памяти, для активации которых и синтеза указанных цитокинов достаточно краткосрочной 18–24 часовой инкубации.

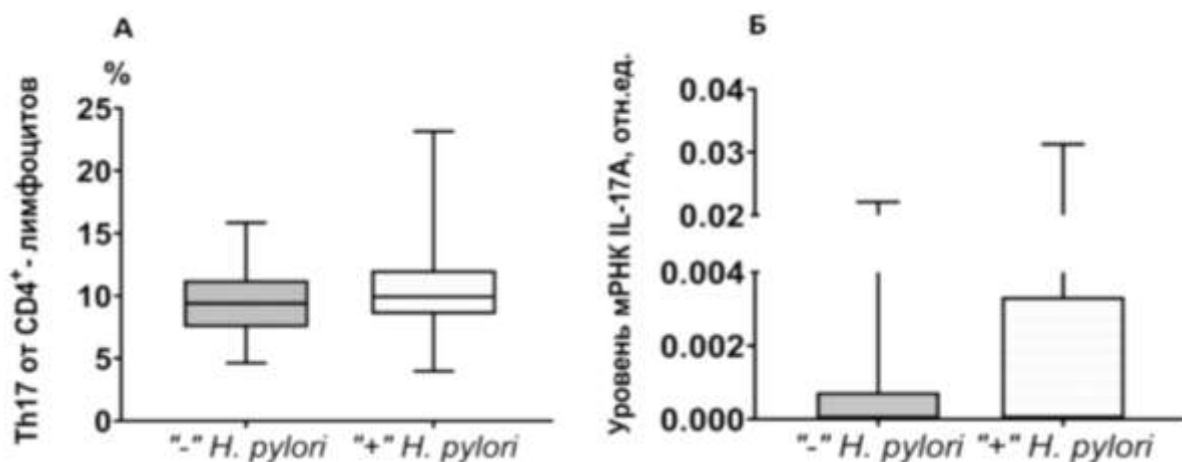
### **3.2 – Сравнительный анализ клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *Helicobacter pylori***

#### **3.2.1 – Содержание Th17 и экспрессия мРНК IL-17A в крови больных хроническим гастритом**

Как следует из материалов предыдущего раздела, эксперименты по совместному культивированию *H. pylori* с Т-клетками человека в условиях *in vitro* продемонстрировали достоверный прирост популяции Treg клеток и достоверное повышение характерного для Th1 клеток IFN- $\gamma$ , но не позволили обнаружить популяционных сдвигов в сторону Th17 клеток. Это свидетельствует о поляризации популяционного состава клеток под влиянием *H. pylori*, с одной стороны, в направлении Treg и, с другой стороны, в направлении Th1, и является реакцией, характерной для развития хронического воспаления.

На последующем этапе работы мы провели сравнительный анализ состояния клеточного и гуморального иммунитета у пациентов с хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*.

Для решения цели и задач работы в крови больных хроническим гастритом определяли относительное количество клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17), а также уровень мРНК IL-17A. Было показано, что медиана относительного количества CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>-клеток в крови лиц с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом (основная группа) составила 9,94 [8,52–12,06] % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (*Рисунок 10А*). В то же время в крови лиц с *H. pylori*-не ассоциированным хроническим гастритом (группа сравнения) медиана относительного количества CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>-клеток составила 9,38 [7,46–11,25] %. Достоверно значимых различий в количестве Th17 клеток в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*, выявлено не было ( $p=0,495$ ).



**Рисунок 10 – (А) Относительное количество клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) и (Б) относительный уровень мРНК IL-17A в периферической крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа.

Наряду с цитофлуориметрическим анализом содержания CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> клеток в крови больных хроническим гастритом определяли относительный уровень мРНК IL-17A по отношению к референсному гену «домашнего хозяйства» *YWHAZ* и не обнаружили достоверных различий ( $p=0,492$ ) между инфицированными и неинфицированными *H. pylori* больными (Рисунок 10Б).

Согласно полученным результатам, относительное количество CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>-клеток у больных хроническим гастритом вне зависимости от *H. pylori*-статуса было практически одинаковым и не превышало 12 % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов периферической крови. В то же время коллектив авторов под руководством А.П. Топтыгиной продемонстрировал, что содержание Th17 (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>) клеток в крови здоровых доноров находится в пределах 10-21 % от всех CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов [6]. То есть *H. pylori*-инфекция, согласно полученным нами данным, не индуцировала чрезмерный провоспалительный Th17 ответ, который мог бы привести к развитию аутоиммунных реакций, поскольку содержание CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>-клеток у лиц с *H. pylori*-хроническим гастритом не превышало представленные в литературе контрольные показатели. Не было обнаружено также различий в уровне мРНК

гена, кодирующего IL-17A, среди *H. pylori*-инфицированных и *H. pylori*-неинфицированных больных хроническим гастритом.

Стоит отметить, что встречающиеся в литературе результаты исследований носят противоречивый характер. Поскольку одни авторы продемонстрировали, что уровни Th17 и мРНК IL-17A в слизистой оболочке желудка больных как с *H. pylori*-инфекцией, так и без нее не различались между собой [226]. Другие исследователи, наоборот, обнаружили, что уровень мРНК IL-17A в слизистой оболочке желудка и экспрессия IL-17A в сыворотке крови пациентов с хроническим *H. pylori*-ассоциированным гастритом достоверно выше в сравнении с лицами, у которых диагностировался гастрит, но отсутствовала *H. pylori*-инфекция [227; 331]. Вполне вероятно, что *H. pylori* может индуцировать повышение как Th17 клеток, так и мРНК IL-17A, как в желудке, так и в периферической крови пациентов с различными желудочными заболеваниями. По всей видимости, это может быть связано с присутствием у лиц, инфицированных *H. pylori*, наиболее вирулентных штаммов возбудителя, поскольку из литературы известно, что специфические белки *H. pylori*, включая несколько факторов вирулентности (UreB, CagA), оказывают влияние на Т-клеточный ответ, смещая его в сторону повышения Th17-клеток как *in vivo*, так и *in vitro* [192]. Однако в настоящей работе мы не изучали характеристики штаммов *H. pylori*, циркулирующих среди пациентов с диагнозом «хронический гастрит». Подобное исследование может служить развитием настоящей работы и предполагается к проведению в дальнейшем.

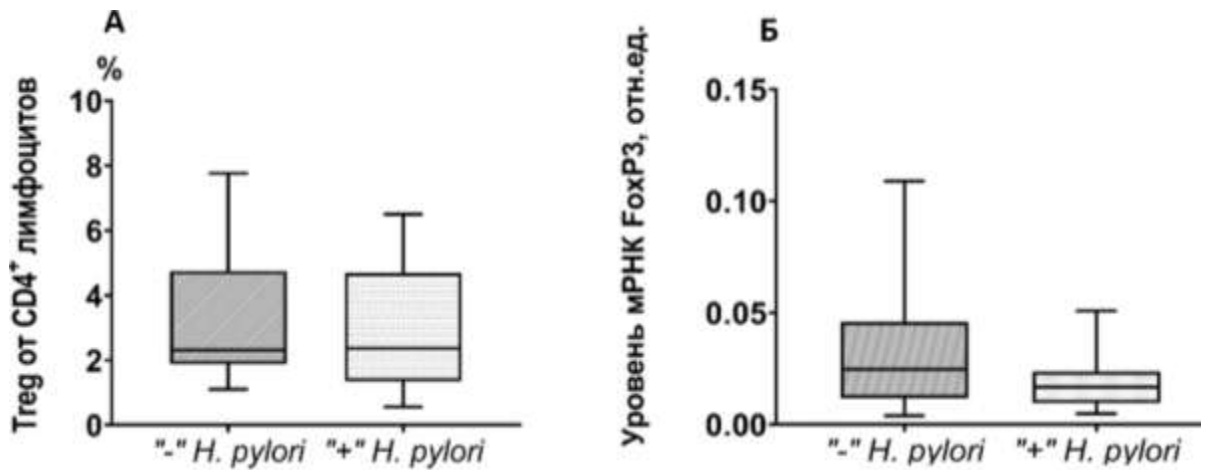
Таким образом, можно предположить, что большинство больных хроническим гастритом в нашем исследовании являлись носителями менее агрессивных штаммов *H. pylori*, что может объяснять отсутствие повышения содержания в периферической крови клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17).

### **3.2.2 – Содержание Treg и экспрессия мРНК FoxP3 в крови больных хроническим гастритом**

В экспериментах *in vitro* нами было обнаружено, что сокультивирование CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови условно здоровых доноров с

различными концентрациями бактериальных суспензий *H. pylori* приводило к увеличению популяции Treg. В то же время, согласно данным литературы, несколько групп исследователей обнаружили повышенное содержание Treg клеток и мРНК FoxP3 в слизистой оболочке желудка лиц, инфицированных *H. pylori*. Авторы также отметили, что эрадикационная терапия приводила к значительному снижению количества Treg клеток в слизистой оболочке желудка [122; 194; 232]. По-видимому, местный Treg-ответ участвует в защите от чрезмерного воспаления и повреждения тканей.

Для оценки изменений в содержании Treg и мРНК FoxP3 на системном уровне мы провели сравнительное определение данных показателей в периферической крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*. Наше исследование показало, что *H. pylori*-инфекция среди больных хроническим гастритом не увеличивала количество Treg клеток и мРНК FoxP3 выше исходного уровня, наблюдаемого у пациентов группы сравнения. Медиана относительного количества клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) в крови больных основной группы и группы сравнения составила 2,36 [1,34–4,69] % и 2,31 [1,87–4,74] % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (Рисунок 11А). Достоверных различий между группами обнаружено не было ( $p=0,706$ ). В то же время относительный уровень мРНК гена, кодирующего FoxP3, для основной группы и группы сравнения составил 0,017 [0,010–0,024] и 0,025 [0,012–0,046] относительных единиц по отношению к референсному гену «домашнего хозяйства» YWHAZ (Рисунок 11Б). Достоверных различий в экспрессии мРНК FoxP3 между группами также обнаружено не было ( $p=0,207$ ), что соответствует результатам цитофлуориметрического анализа.



**Рисунок 11 – (А) Относительное количество клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) и (Б) относительный уровень мРНК FoxP3 в периферической крови лиц с хроническим гастритом**

*Примечание: «-» H. pylori – группа сравнения; «+» H. pylori – основная группа.*

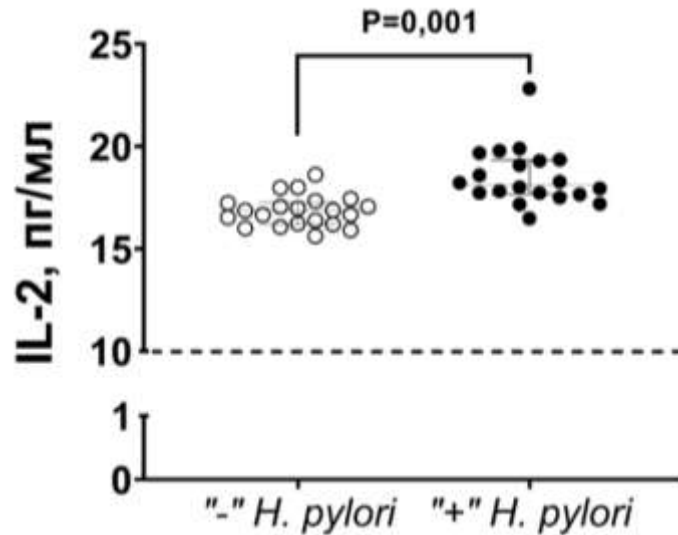
Таким образом, мы получили данные, согласно которым содержание Treg у больных хроническим гастритом, вне зависимости от *H. pylori*-статуса, было практически одинаковым и не превышало 5 % от всех CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов периферической крови, что соответствует нормальному содержанию Treg в крови условно здоровых доноров [12]. Заметим, что результаты, полученные нами ранее о повышенном уровне Treg в условиях *in vitro*, возможно являются следствием проявления пластичности фенотипических и функциональных свойств лимфоцитов при воздействии таких инфекционных агентов как *H. pylori*. Однако *in vivo* эти изменения в наших исследованиях не проявлялись. Системный иммунитет обычно является отдаленным результатом событий, происходящих в тканях, и имеет собственный алгоритм проявления реакций на нарушения гомеостаза инфекционного, аутоиммунного или какого-либо иного характера [232; 235].

### **3.2.3 – Содержание IL-2 и IL-23 в плазме крови больных хроническим гастритом**

Развитие и течение хронического воспаления в слизистой оболочке желудка связывают с провоспалительными цитокинами, продукция которых индуцируется в ответ на *H. pylori*-инфекцию. Повышение содержания провоспалительных цитокинов в периферической крови и других биологических средах при

хронических заболеваниях желудка имеет важное прогностическое значение, так как позволяет судить об активности иммунных и воспалительных процессов, а также прогрессировании заболевания [2]. К основным провоспалительным цитокинам Th1 клеток относят IFN- $\gamma$  и IL-2. В предыдущей части работы мы обнаружили повышение концентрации IFN- $\gamma$  в супернатантах клеточных культур при совместном культивировании CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов человека с *H. pylori* в условиях *in vitro*. В то же время в литературе имеются данные, подтверждающие, что в сыворотке крови больных хроническим *H. pylori*-ассоциированным гастритом обнаруживалось повышение IFN- $\gamma$  в 1,5 раза в сравнении с лицами, у которых диагностировался гастрит, но отсутствовала *H. pylori*-инфекция, а также в сравнении с группой условно здоровых доноров [22]. Другой цитокин Th1 клеток – IL-2 играет центральную роль в регуляции клеточного иммунитета, поскольку является важнейшим фактором роста для всех субпопуляций Т-лимфоцитов и необходим для их пролиферации и дифференцировки [246]. Важная роль IL-2 связана с формированием пула Treg, регулирующих функцию Т-хелперов. IL-2 необходим для активации Treg и поддержания их количества [6]. В то же время при отсутствии IL-2 наблюдается глубокий дефицит Т-регуляторных клеток, приводящий к развитию аутоиммунных заболеваний [243; 278].

В крови больных хроническим гастритом мы определяли концентрацию IL-2 и обнаружили, что у всех лиц вне зависимости от *H. pylori*-статуса концентрация данного цитокина была выше нормы (до 10 пг/мл). В то же время у лиц основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) медиана содержания IL-2 составила 18,11 [17,67–19,34] пг/мл и была достоверно выше относительно группы сравнения (без *H. pylori*-инфекции) 16,86 [16,21–17,28] пг/мл (Рисунок 12).



**Рисунок 12 – Концентрация IL-2 в плазме крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа;  $p = 0,001$  – достоверно значимые отличия; ----- – граница нормы.

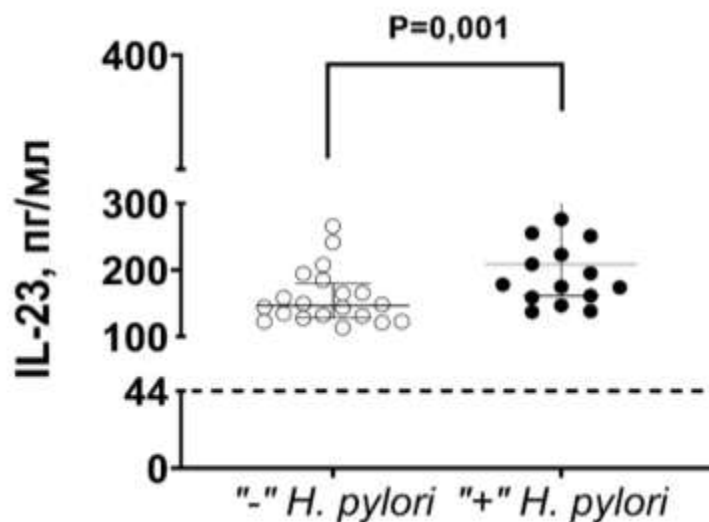
Результаты наших исследований хорошо согласуются с результатами, представленными в работах разных авторов, исследовавших уровень IL-2 в крови больных хроническим гастритом. В исследовании Л.В. Матвеевой и соавт. [14] показано, что у всех больных с обострением хронического гастрита в сыворотке крови отмечается повышение уровня IL-2 в сравнении с группой здоровых лиц. А.А. Синяков и соавт. [21] продемонстрировали, что у больных хроническим гастритом на фоне *H. pylori*-инфекции наблюдалось повышение содержания IL-2 больше, чем в 10 раз по сравнению с группой здоровых лиц.

Необходимо отметить, что в нашем исследовании обнаружена повышенная экспрессия IL-2 у всех пациентов с хроническим гастритом, однако концентрация этого цитокина была достоверно выше у больных, инфицированных *H. pylori* в сравнении с неинфицированными пациентами. Увеличение концентрации IL-2 у всех лиц с хроническим гастритом, по-видимому, связано с активным воспалительным процессом, происходящим в слизистой оболочке желудка.

В литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что дендритные клетки в ответ на *H. pylori*-инфекцию способны продуцировать повышенные уровни провоспалительного цитокина IL-23 [83; 185; 209]. Ранее считалось, что IL-

IL-23 инициирует образование Th17 [31], однако результаты последних исследований показали, что данный цитокин участвует в поддержании функциональной активности уже дифференцированных Th17, так как рецепторы к нему (IL-23R) экспрессируются только на активированных клетках [202; 225]. В то же время сверхэкспрессия IL-23 может рассматриваться в качестве потенциального маркера для диагностики заболеваний, ассоциированных как с желудочно-кишечным трактом, так и с аутоиммунитетом [306; 362].

В рамках настоящей работы в крови больных хроническим гастритом определяли концентрацию IL-23 и обнаружили, что у всех лиц вне зависимости от *H. pylori*-статуса концентрация данного цитокина была выше нормы (до 44 пг/мл). В то же время у больных основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) медиана содержания IL-23 составила 208,9 [164,4–12,3] пг/мл и была достоверно выше относительно группы сравнения (без *H. pylori*-инфекции) 146,2 [128,3–179,9] пг/мл (Рисунок 13).



**Рисунок 13 – Концентрация IL-23 в плазме крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа;  $p = 0,001$  – достоверно значимые отличия; ----- – граница нормы.

Необходимо отметить, что V. Koussoulas и соавт. [210], изучая роль слизистой оболочки желудка в секреции IL-23 при хроническом гастрите, продемонстрировали, что уровень данного цитокина в образцах тканей *H. pylori*-

положительных больных был выше, чем у *H. pylori*-отрицательных пациентов, что согласуется с результатами, полученными нами. В то же время в соответствии с нашими результатами повышенный уровень IL-23 наблюдался на фоне нормального содержания в крови больных Th17 клеток и мРНК IL-17A.

То есть, несмотря на повышение концентрации IL-23 в крови больных хроническим гастритом, мы не выявили изменений в количественном и функциональном состоянии популяции Th17 клеток, ассоциированных с аутоиммунными процессами. Тем не менее, вероятное участие IL-23 в регуляции хронического воспаления слизистой оболочки желудка при разбалансированности иммунных процессов и изменении статуса Th17 звена потенциально может привести к аутоиммунным реакциям.

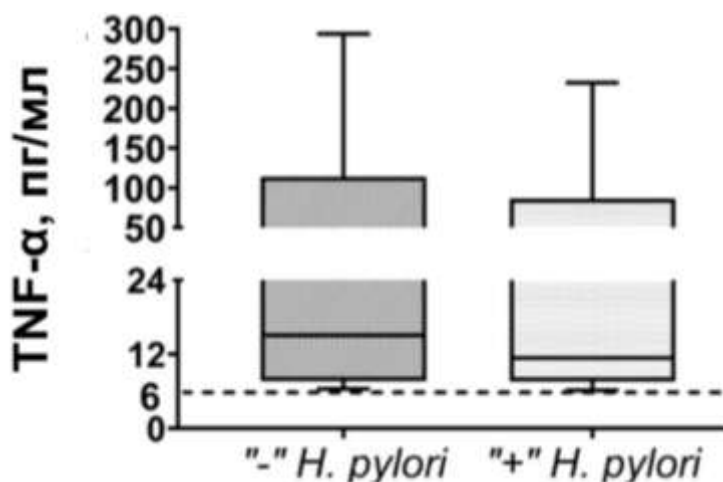
### **3.2.4 – Содержание TNF- $\alpha$ и экспрессия мРНК TNF- $\alpha$ в крови больных хроническим гастритом**

В крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*, мы определяли содержание фактора некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) и экспрессию мРНК TNF- $\alpha$ .

Фактор некроза опухоли альфа представляет собой плеiotропный провоспалительный цитокин, ответственный за активацию иммунной системы при инфекционных процессах [299; 312]. Вырабатывается TNF- $\alpha$  моноцитами, макрофагами, лимфоцитами и эндотелиальной выстилкой сосудов [349]. В очаге воспаления TNF- $\alpha$  запускает цитокиновый каскад, увеличивая выработку IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$  и хемокинов разными типами клеток [1]. Показано, что чрезмерная продукция этого цитокина связана с хроническим воспалением и в конечном итоге может привести к развитию аутоиммунных заболеваний [49; 341].

В крови больных хроническим гастритом мы определяли концентрацию TNF- $\alpha$  и уровень мРНК TNF- $\alpha$ . Было показано, что у всех лиц вне зависимости от *H. pylori*-статуса концентрация TNF- $\alpha$  была выше нормы (до 6 пг/мл). У лиц основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) медиана содержания TNF- $\alpha$  составила

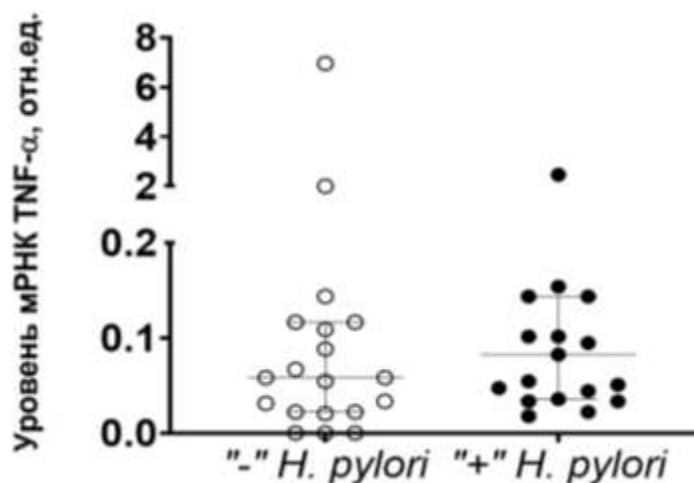
15,04 [7,64–114,00] пг/мл и достоверно не отличалась от таковой (11,34 [7,59–86,67]) пг/мл в группе сравнения (без *H. pylori*-инфекции) ( $p=0,734$ ) (Рисунок 14).



**Рисунок 14 – Концентрация TNF-α в периферической крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа;  
----- – граница нормы.

Наряду с иммуноферментным анализом содержания фактора некроза опухоли-альфа с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени был определен относительный уровень мРНК гена, кодирующего TNF-α. Для больных основной группы он составил 0,082 [0,036–0,144], а для группы сравнения 0,058 [0,022–0,117] относительных единиц. Достоверных различий в экспрессии мРНК TNF-α между группами не наблюдалось ( $p=0,415$ ), что согласуется с результатами иммуноферментного анализа (Рисунок 15).



**Рисунок 15 – Уровень мРНК TNF-α относительно мРНК YWHAZ в крови больных хроническим гастритом**

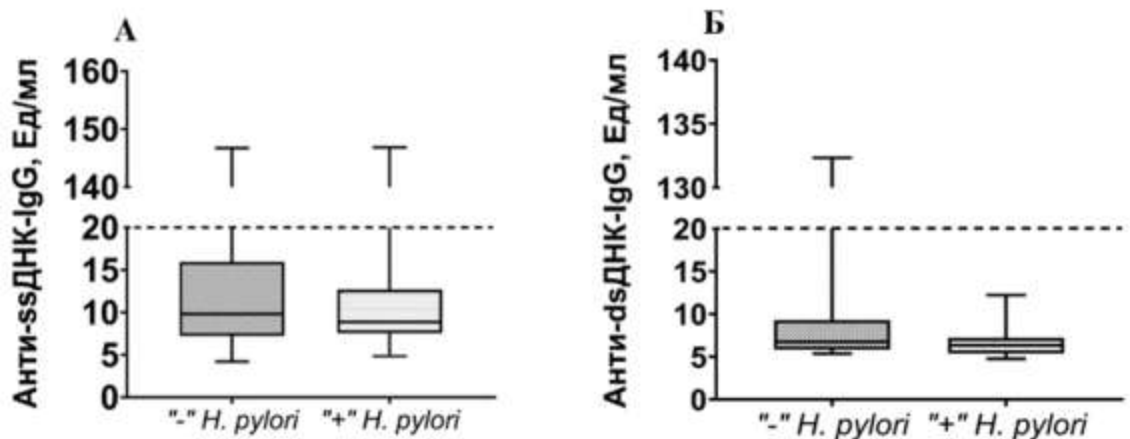
*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа; YWHAZ – Tyrosine 3-монооксигеназа/tryptophan 5-монооксигеназа activation protein zeta (активационный белок тирозин 3-монооксигеназы/триптофан 5-монооксигеназы зета).

Л.В. Матвеева и соавт. [15], также продемонстрировали, что у больных хроническим гастритом содержание TNF-α в сыворотке крови было значительно выше в сравнении с группой условно здоровых лиц. В то же время авторы обнаружили, что уровень TNF-α коррелировал со стадией атрофии, степенью воспаления, обсемененности слизистой оболочки желудка *H. pylori*. Мы, в свою очередь, обнаружили повышенную экспрессию TNF-α у всех лиц с хроническим гастритом вне зависимости от *H. pylori*-статуса. Отсутствие различий в содержании TNF-α и кодирующей его мРНК между инфицированными и неинфицированными *H. pylori* больными хроническим гастритом на фоне повышенной концентрации IL-23 указывает, с одной стороны, на участие этого цитокина в развитии воспалительных процессов у больных хроническим гастритом независимо от инфицирования *H. pylori*, а с другой стороны, позволяет предположить возможную связь между его уровнем и скрытыми механизмами развития аутоиммунных процессов, в том числе механизмами продукции аутоантител.

### 3.2.5 – Уровень аутоантител к ssДНК и dsДНК класса IgG в крови больных хроническим гастритом

Заключительный раздел диссертационной работы был направлен на сравнительный анализ содержания маркеров наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*. Для этого были выбраны используемые в здравоохранении маркеры системной красной волчанки, антифосфолипидного синдрома, ревматоидного артрита и тиреоидных аутоиммунных заболеваний. Среди наиболее распространенных аутоиммунных патологий в группу лидеров входит системная красная волчанка (СКВ) – заболевание, характеризующееся аномальной активностью иммунной системы и приводящее к поражению множества систем и органов [108]. Важное диагностическое и прогностическое значение при СКВ еще до появления клинических признаков обострения заболевания имеет определение уровня аутоантител против одноцепочечной и двухцепочечной ДНК (анти-ssДНК и анти-dsДНК). В литературе приводятся неоднозначные и противоречивые данные, касающиеся способности *H. pylori* выступать в качестве триггера в развитии аутоиммунных заболеваний, ассоциированных с СКВ. Есть популяционные исследования, результаты которых указывают на повышенную частоту встречаемости *H. pylori* у больных системной красной волчанкой, но есть и исследования, представляющие прямо противоположные результаты [174; 184; 211; 214; 285]. Работы, в которых исследовался уровень анти-ssДНК и анти-dsДНК в крови больных хроническим гастритом, в доступной литературе мы не встретили. В связи с этим мы исследовали уровень и частоту встречаемости данных аутоантител в крови больных хроническим гастритом. Было обнаружено, что медиана содержания анти-ssДНК и анти-dsДНК была вдвое ниже показателя верхней границы нормы (до 20 Ед/мл). Для лиц основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) она составила 8,87 [7,57–12,71] и 6,34 [5,38–7,20] Ед/мл, а для лиц из группы сравнения (без *H. pylori*-инфекции) – 9,82 [7,25–15,95] и 6,73 [5,83–

9,26] Ед/мл (Рисунок 16). Достоверных различий в содержании анти-ssДНК и анти-dsДНК между группами выявлено не было.



**Рисунок 16 – Уровень (А) анти-ssДНК-IgG и (Б) анти-dsДНК-IgG в крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа; ----- – граница нормы.

У больных с *H. pylori*-инфекцией (n=90) и без *H. pylori*-инфекции (n=90) уровень анти-ssДНК превышал показатели нормы у 12 (13,3 %) и 15 (16,6 %) человек соответственно. В то же время уровень анти-dsДНК у всех больных с хроническим гастритом и *H. pylori*-инфекцией был в пределах нормы, и только у одного больного без *H. pylori*-инфекции был выше показателя нормы.

Таким образом, мы получили результаты, согласно которым штаммы *H. pylori*, инфицировавшие тестируемых нами пациентов с хроническим гастритом, не вызывали повышенную продукцию аутоантител против ssДНК и dsДНК, и, как следствие, не участвовали в инициации аутоиммунных реакций, ассоциированных с системной красной волчанкой.

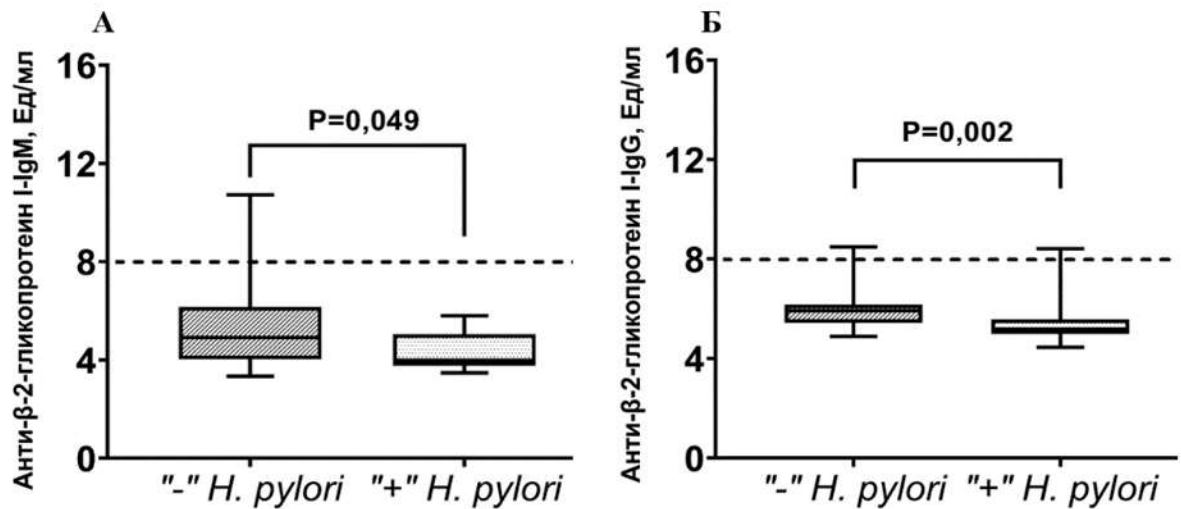
Несмотря на имеющиеся в литературе сообщения, демонстрирующие потенциальную роль *H. pylori* выступать в качестве триггера в развитии аутоиммунных заболеваний, необходимо также отметить, что М. Versini и соавт. [354] выдвинули гигиеническую гипотезу, согласно которой инфекция *H. pylori* может также оказывать иммуномодулирующее действие на иммунную систему, что приводит к защитному эффекту от иммуноопосредованных состояний. В то же

время А.Н. Sawalha и соавт. [53] провели масштабное исследование, в котором обнаружили, что частота инфицирования *H. pylori* у афроамериканских женщин с СКВ была достоверно ниже (38,1 %), чем в контрольной группе условно здоровых лиц (60,2 %). Авторы пришли к выводу, что инфицирование *H. pylori* может оказывать протективное действие в отношении патологических процессов, связанных с СКВ.

### **3.2.6 – Уровень аутоантител к $\beta$ -2-гликопротеину I класса IgM и IgG в крови больных хроническим гастритом**

Системная красная волчанка может быть ассоциирована с антифосфолипидным синдромом (АФС), при котором происходит поражение мембран клеток антифосфолипидными антителами (АФА), что приводит к образованию венозных и артериальных тромбозов. АФА определяются у 50 % больных с СКВ и в 5-20 % случаев при других заболеваниях соединительной ткани [50; 237; 288; 328]. Важным лабораторным показателем при постановке АФС является определение аутоантител к  $\beta$ -2-гликопротеину I (anti-beta-2-Glycoprotein I) [228]. Было высказано предположение, что некоторые инфекционные агенты способны индуцировать выработку аутоантител против  $\beta$ -2-гликопротеина I, тем самым способствуя развитию АФС [62; 219]. Cicconi V. с соавт. [106] предположили, что АФС может быть ассоциирован с хеликобактерной инфекцией. По их мнению, *H. pylori* может выступать в качестве специфического индуктора в образовании антифосфолипидных антител путем хронической активации провоспалительных клеток и высвобождаемых ими цитокинов. Основой для аутоиммунной реакции, индуцированной *H. pylori*, может быть образование перекрестно реагирующих антител между структурными компонентами *H. pylori* и некоторыми фосфолипидами клеточных мембран. В своей работе мы исследовали уровень и частоту встречаемости anti- $\beta$ -2-Glycoprotein I IgM и anti- $\beta$ -2-Glycoprotein I IgG в крови больных хроническим гастритом. Было показано, что вне зависимости от *H. pylori*-статуса медиана уровня данных антител сохранялась в пределах нормы (до 8 Ед/мл). У больных основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) медиана уровня anti- $\beta$ -2-Glycoprotein I IgM и anti- $\beta$ -2-Glycoprotein I IgG составила 3,98 [3,77–5,05]

и 5,18 [4,98–5,57] Ед/мл, а для группы сравнения (без *H. pylori*-инфекции) – 4,92 [4,03–6,16] и 5,92 [5,44–6,16] Ед/мл соответственно (Рисунок 17).



**Рисунок 17 – Уровень (А) анти-β-2-гликопротеин I-IgM и (Б) анти-β-2-гликопротеин I-IgG в крови больных хроническим гастритом**

Примечание: «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа; ----- – граница нормы.

При этом неожиданным фактом явилось то, что у пациентов основной группы (*H. pylori*-положительные) уровень anti-β-2-Glycoprotein I IgM/IgG был достоверно ниже, чем у пациентов группы сравнения ( $p=0,049$  и  $p=0,002$ ) соответственно. Ни у одного из 20 тестируемых *H. pylori*-положительных больных не регистрировался уровень аутоантител к β-2-гликопротеину I класса IgM выше нормы. В группе сравнения (без *H. pylori*-инфекции) было двое таких больных. Повышенный уровень аутоантител к β-2-гликопротеину I класса IgG обнаруживался у одного из 20 *H. pylori*-положительных больных и у одного из *H. pylori*-отрицательных больных. То есть различий в частоте выявления больных с повышенным уровнем anti-β-2-Glycoprotein I IgM и anti-β-2-Glycoprotein I gG антител не выявлено.

Наши данные согласуются с результатами, полученными M. Ram и соавт. [184], которые определяли широкий спектр аутоантител в крови больных с различными аутоиммунными заболеваниями, включая и антифосфолипидный синдром, и продемонстрировали, что уровень аутоантител к β-2-гликопротеину I

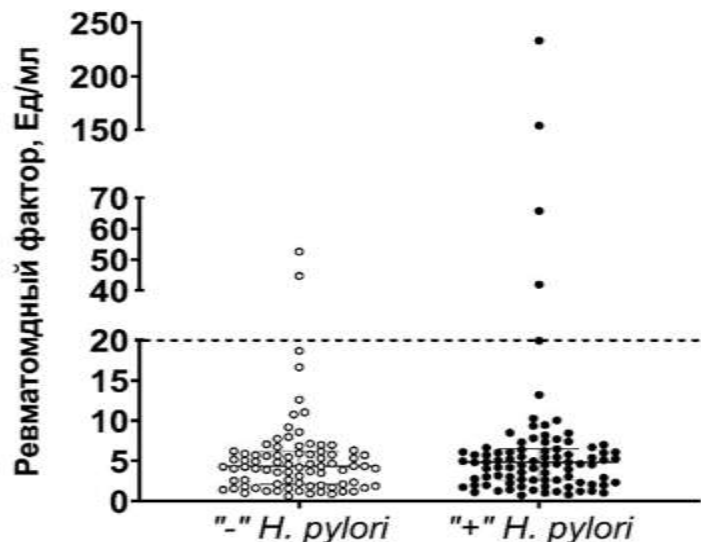
класса IgG у лиц с *H. pylori*-инфекцией был достоверно ниже по сравнению с лицами, у которых *H. pylori*-инфекция отсутствовала. В то же время уровень аутоантител к  $\beta$ -2-гликопротеину I класса IgM среди инфицированных и не инфицированных *H. pylori* больных не различался. М. Ram и соавт. [184] рассматривают полученные результаты как свидетельство того, что *H. pylori*-инфекция может выступать не в качестве инициатора, а в качестве защитного фактора в развитии АФС, ассоциированного с СКВ. Таким образом, полученные нами данные об уровне в крови больных хроническим гастритом основной группы ассоциированных с АФС аутоиммунных маркеров (аутоантител к  $\beta$ -2-гликопротеину I класса IgG и IgM) также не подтверждают роли *H. pylori* в развитии у больных системной красной волчанкой и других аутоиммунных заболеваний соединительной ткани.

### **3.2.7 – Уровень ревматоидного фактора в крови больных хроническим гастритом**

К аутоиммунному заболеванию, которое характеризуется хроническим воспалением синовиальной оболочки, повреждением суставного хряща и околосуставной кости, относят ревматоидный артрит (РА) [41]. Причины и условия возникновения ревматоидного артрита до сих пор остаются неизвестными, а связь инфекции *H. pylori* с патогенезом РА является дискуссионной и спорной [220; 233; 284; 285; 291]. Одним из обязательных тестов для диагностики РА, согласно European league against rheumatism/American College of Rheumatology (EULAR/ACR), является определение ревматоидного фактора (РФ) [28]. Результаты популяционных исследований по оценке уровня ревматоидного фактора, проведенных на разных территориях, не позволили получить однозначные результаты о связи *H. pylori* с ревматоидным артритом. Для больных хроническим гастритом данных о частоте встречаемости и уровне РФ в зависимости от инфицированности *H. pylori* в доступной литературе мы не обнаружили. В связи с этим одной из задач явилось определение уровня ревматоидного фактора в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*.

Обнаружено, что у лиц с хроническим гастритом вне зависимости от *H. pylori*-статуса медиана уровня РФ находилась в пределах нормы (до 20 Ед/мл). У лиц основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) она составила 4,83 [2,53–6,52] Ед/мл, а для лиц из группы сравнения (без *H. pylori*-инфекции) – 4,33 [2,10–6,20] Ед/мл соответственно (Рисунок 18).

Среди пациентов основной группы (90 лиц, инфицированных *H. pylori*) только у 5 больных уровень ревматоидного фактора был выше нормы. Из тестированных больных группы сравнения (90 лиц, не инфицированных *H. pylori*) уровень ревматоидного фактора в крови был повышен у 2 человек. Достоверно значимых различий в значениях медианы уровня РФ и в частоте выявления повышенных уровней РФ между группами выявлено не было ( $p=0,538$ ).



**Рисунок 18 – Уровень ревматоидного фактора в крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа; ----- – граница нормы.

Ранее Z. Shariaty и соавт. [308] также продемонстрировали, что уровень аутоантител против РФ у лиц с ревматоидным артритом и *H. pylori*-инфекцией достоверно значимо не отличался от уровня вышеуказанных аутоантител у больных ревматоидным артритом, у которых отсутствовала *H. pylori*-инфекция. Наши данные соответствуют этим результатам.

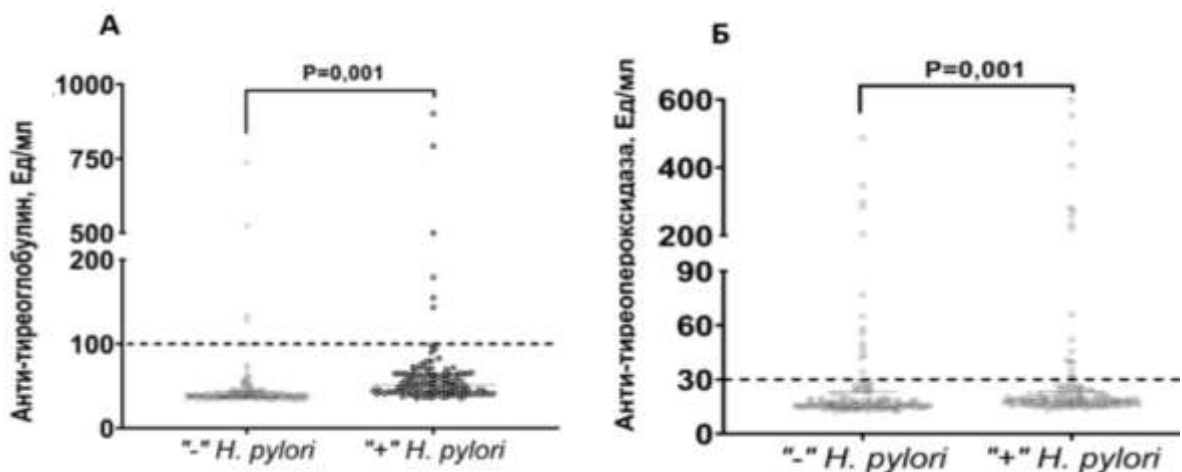
Отдельными авторами высказываются предположения, что штаммы *H. pylori*, несущие фактор патогенности CagA, наиболее эффективно могут быть вовлечены в развитие воспаления, которое, в свою очередь, при определенных обстоятельствах способно привести к аутоиммунным реакциям [18; 220]. Наши данные не противоречат такому предположению. Из литературы известно, что в среднем около 50 % всех штаммов *H. pylori* являются CagA-положительными. Мы не определяли CagA статус штаммов *H. pylori*, инфицировавших тестируемых больных хроническим гастритом. Однако, исходя из литературных данных о распространенности этого фактора вирулентности, следует, что часть нашей когорты больных хроническим гастритом также могла быть инфицирована CagA-положительными штаммами *H. pylori*.

### **3.2.8 – Уровень аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе в крови больных хроническим гастритом**

Существует достаточно сложная и неоднозначная картина относительно возможной связи между инфекцией *H. pylori* и аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. В литературе встречаются сообщения, которые, также как и для ряда других заболеваний, с одной стороны, подтверждают эту связь, а с другой стороны, ее отрицают [59; 167; 168; 172; 175; 230; 329; 336]. Поскольку *H. pylori*-инфекция широко распространена среди лиц с хроническим гастритом, а ее роль в развитии аутоиммунных заболеваний, ассоциированных с щитовидной железой, неоднозначна, мы исследовали способность данного инфектанта индуцировать у больных хроническим гастритом выработку аутоантител, реагирующих с некоторыми компонентами щитовидной железы. Для диагностики тиреоидных аутоиммунных заболеваний использовали определение уровня аутоантител к тиреоглобулину (анти-ТГ) и тиреопероксидазе (анти-ТПО), которые, по данным литературы, участвуют в патогенезе тиреоидита Хашимото [55]. Воздействуя на тиреоциты, данные аутоантитела вызывают деструктивную трансформацию в клетках щитовидной железы, в результате чего происходит снижение выработки тиреоидных гормонов, повышение образования тиреотропного гормона (ТТГ) и

развитие гипотиреоза [47].

Было показано, что у большинства лиц с хроническим гастритом вне зависимости от *H. pylori*-статуса уровень аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы был в пределах нормы (до 100 Ед/мл для анти-ТГ и до 30 Ед/мл для анти-ТПО). Медиана содержания анти-ТГ и анти-ТПО у лиц основной группы (с *H. pylori*-инфекцией) составила 51,15 [42,41–64,12] и 18,41 [16,14–23,54] Ед/мл, а для группы сравнения (без *H. pylori*-инфекции) – 38,80 [36,53–43,18] и 16,50 [14,68–20,36] Ед/мл соответственно (Рисунок 19). Вполне вероятно, что как в основной группе, так и в группе сравнения есть пациенты с тиреоидитом Хашимото и повышенным уровнем соответствующих антител, однако у больных хроническим гастритом и *H. pylori*-инфекцией аутоиммунный тиреоидит (по крайней мере, по лабораторным маркерам) встречается чаще, а у остальных пациентов уровень антитиреоидных аутоантител в среднем достоверно значимо выше ( $p=0,001$ ) в сравнении с больными хроническим гастритом, у которых *H. pylori*-инфекция отсутствует.



**Рисунок 19 – Уровень аутоантител (А) к тиреоглобулину и (Б) к тиреопероксидазе в крови больных хроническим гастритом**

*Примечание:* «-» *H. pylori* – группа сравнения; «+» *H. pylori* – основная группа; ----- – граница нормы;  $p=0,001$  – достоверно значимые отличия.

Следует отметить, что несколько коллективов авторов продемонстрировали, что *H. pylori*-инфекция чаще обнаруживается у лиц с аутоиммунными тиреоидными заболеваниями в сравнении с лицами без аутоиммунных заболеваний

щитовидной железы [54; 60; 101]. В то же время в литературе встречаются данные, согласно которым инфицирование CagA-позитивными штаммами *H. pylori* повышает риск развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы в 2,24 раза [58] и вовлечено в патогенез тиреоидита Хашимото [148; 240; 254; 336], а эрадикация *H. pylori* приводит к снижению уровня аутоантител, направленных против тиреоглобулина и тиреопероксидазы щитовидной железы [54; 60; 101; 168; 254; 340].

Таким образом, в отличие от аутоантител, являющихся маркерами системной красной волчанки, антифосфолипидного синдрома и ревматоидного артрита, у больных хроническим гастритом выявлены изменения в уровне аутоантител против щитовидной железы. Можно предположить, что они отражают начальные этапы инициации аутоиммунных реакций, поскольку не выходят за пределы нормы, но обладают статистической значимостью и соответствуют литературным данным о возможной роли *H. pylori* в патогенезе аутоиммунных нарушений щитовидной железы.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В ГЛАВЕ 3**

*Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ (по специальности 3.2.7. Иммунология) и/или индексируемых в международных базах данных WoS, Scopus, RSCI:*

1. Уровень аутоантител в крови инфицированных *H. pylori* больных хроническим гастритом / Е.В. Мохонова, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Д.В. Новиков, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, М.В. Неумоина, Т.А. Трошина, И.В. Шутова, В.В. Новиков // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25 (2). – С. 339-348. (IF Scopus – 0,14, Q4; RSCI; ВАК, K1; ИФ РИНЦ – 0,719).

2. Анализ состояния иммунитета у инфицированных *Helicobacter pylori* больных хроническим гастритом / Е.В. Мохонова, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Д.В. Новиков, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, М.В. Неумоина, Т.А. Трошина, И.В. Шутова, В.В. Новиков // Инфекция и иммунитет. – 2022. – Т.12 (2). – С. 306-314. (IF Scopus – 0,17, Q4; RSCI; WoS; ВАК, K1; ИФ РИНЦ – 1,687).

3. Влияние *HELICOBACTER PYLORI* на содержание провоспалительных Т-клеточных цитокинов и продуцирующих их субпопуляций / М.И. Цыганова, М.В. Талаева, В.Ю. Талаев, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, Е.В. Моханова, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 3. – С. 120-127. (IF Scopus; ВАК; ИФ РИНЦ – 1.101).

4. Влияние *Helicobacter pylori* на дифференцировку Т-регуляторных клеток / А.В. Матвейчев, М.В. Талаева, В.Ю. Талаев, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, Д.Г. Лапаев, Е.В. Моханова, М.И. Цыганова, В.Н. Коптелова, З.И. Никитина, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев // Анализ риска здоровью. – 2017. – № 1. – С. 21-28. (ВАК, ИФ РИНЦ – 1.068).

#### Публикации в других изданиях

5. Изменение профиля экспрессии генов адаптивного ответа при *Helicobacter pylori* / Е.В. Моханова, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Д.В. Новиков, В.В. Новиков // Материалы VIII Национального конгресса бактериологов (Москва, 27–28 сентября 2023 г.). – Москва, 2023. – С. 87-88.

6. *Helicobacter pylori* и маркеры аутоиммунных заболеваний у больных хроническим гастритом / Е.В. Моханова, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, Д.А. Мелентьев, В.А. Лапин, Д.В. Новиков, В.В. Новиков // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (Москва, 27–29 марта 2023 г.). – Москва, 2023. – С. 153-154.

7. Содержание Т-регуляторов и аутоантител к DNA в крови больных хроническим гастритом / Е.В. Моханова, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова // Биосистемы: организация, поведение, управление: тезисы докладов 76-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Нижний Новгород, 11–14 апреля 2023 г.). – Нижний Новгород, 2023. – С. 224.

8. Связь *Helicobacter pylori*-инфекции с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы у больных хроническим гастритом в стадии обострения / Е.В. Моханова, Д.В. Новиков, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, М.В. Неумоина, Т.А. Трошина, И.В. Шутова, В.В. Новиков // Актуальные вопросы профилактической медицины и санитарно-эпидемиологического благополучия населения: факторы, технологии, управление

и оценка рисков: сборник научных трудов. – Нижний Новгород, 2022. – Специальный выпуск: по материалам межрегиональной научно-практической конференции. – С. 394-398.

9. Уровень фактора некроза опухоли-альфа в крови больных хроническим гастритом, положительных по *Helicobacter pylori* / Е.В. Мохорова, Д.В. Новиков, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, М.В. Неумоина, Т.А. Трошина, И.В. Шутова, В.В. Новиков // Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию академика И.Н. Блохиной. – Нижний Новгород, 2021. – С. 386-390.

10. Лапин, В.А. Оценка влияния *Helicobacter pylori* на дифференцировку клеток иммунной системы в сторону Т-регуляторов / В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Е.В. Мохорова, Д.В. Новиков, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, В.В. Новиков // Биосистемы: организация, поведение, управление: тезисы докладов 73-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Нижний Новгород, 28–30 октября 2020 г.). – Нижний Новгород, 2020. – С. 121.

11. Мелентьев, Д.А. Состояние ТН17 звена иммунитета и аутоиммунный статус у больных с гастритом // Д.А. Мелентьев, В.А. Лапин, Е.В. Мохорова, Д.В. Новиков, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, В.В. Новиков // Биосистемы: организация, поведение, управление: тезисы докладов 73-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Нижний Новгород, 28–30 октября 2020 г.). – Нижний Новгород, 2020. – С. 138.

12. Новиков, В.В. Особенности иммунного ответа человека на инфицирование *Helicobacter pylori* / В.В. Новиков, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Е.В. Мохорова // Медиаль. – 2019. – № 2 (24). – С. 55-69. (ИФ РИНЦ – 0.169).

13. Оценка про- и противовоспалительной активности CD4<sup>+</sup> лимфоцитов при прямом контакте с *H. pylori* / Е.В. Мохорова, Д.А. Мелентьев, В.А. Лапин, М.В. Талаева, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. – Нижний Новгород, 2019. – С. 237-240.

14. Влияние *Helicobacter pylori* на дифференцировку Т-клеток человека в условиях прямого контакта *in vitro* / Е.В. Моханова, В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, М.В. Талаева, Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова, М.И. Цыганова // Микробиология: от микроскопа до геномного анализа: материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (Санкт-Петербург, 17-18 мая 2018 г.). – Санкт-Петербург, 2018. – С. 141-143.

15. Влияние *Helicobacter pylori* на субпопуляцию Т-хелперных клеток человека / Д.А. Мелентьев, В.А. Лапин, Е.В. Моханова, М.В. Талаева, М.И. Цыганова // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: материалы X Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 26-28 февраля 2018 г.). – Москва, 2018. – С. 143.

16. Оценка влияния *Helicobacter pylori* на дифференцировку Т-reg клеток и продукцию ими IL-10 / В.А. Лапин, Д.А. Мелентьев, Е.В. Моханова, М.В. Талаева, М.И. Цыганова // Биосистемы: организация, поведение, управление: тезисы докладов 71-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Нижний Новгород, 17–20 апреля 2018 г.). – Нижний Новгород, 2018. – С. 130.

17. Оценка способности *Helicobacter pylori* стимулировать образование TH17 и индуцировать продукцию IFN- $\gamma$  / Д.А. Мелентьев, В.А. Лапин, Е.В. Моханова, М.В. Талаева, М.И. Цыганова // Биосистемы: организация, поведение, управление: тезисы докладов 71-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Нижний Новгород, 17–20 апреля 2018 г.). – Нижний Новгород, 2018. – С. 152.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе мы провели анализ иммунологических параметров при инфицировании *Helicobacter pylori* в модели *in vitro* и у больных хроническим гастритом. Такая постановка цели была связана с неоднозначностью ответа на вопрос о способности *Helicobacter pylori* вызывать аутоиммунные реакции в организме-хозяине. Чтобы внести свой посильный вклад в его решение, мы провели исследование, построенное как на экспериментах *in vitro*, так и на оценке иммунологических параметров у больных хроническим гастритом. В первом случае использовали CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, выделенные из периферической крови условно здоровых доноров, и сокультивировали их с бактериальными суспензиями *H. pylori*. Во втором случае проводили сравнительный анализ состояния клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*, находящихся на лечении в Клинике инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Задачи были построены таким образом, чтобы провести анализ наличия отклонений в сторону аутоиммунных проявлений как на клеточном, так и на гуморальном уровне. Поскольку в настоящее время известно множество аутоиммунных нарушений, на заключительном этапе работы мы поставили задачу по оценке антительных маркеров наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний, включая системную красную волчанку, антифосфолипидный синдром, ревматоидный артрит и аутоиммунные заболевания щитовидной железы, с сопутствующим анализом возможности инициации этих патологий *H. pylori* на примере больных хроническим гастритом.

В литературе активно обсуждается вопрос о способности *H. pylori* воздействовать на иммунный ответ хозяина, направляя его в сторону усиления толерогенных процессов. Дополнительным эффектом подобной стратегии может являться показанная для *H. pylori* способность влиять на протекание некоторых аутоиммунных заболеваний и патологий аллергического характера [106; 141; 184].

В более ранних экспериментальных работах, направленных на попытки воспроизвести генерацию Treg в условиях *in vitro* с использованием классической модели активации Т-лимфоцитов с помощью дендритных клеток и *H. pylori*, исследователи наблюдали смешанный иммунный ответ. Было показано, что дендритные клетки, стимулированные живым *H. pylori*, продуцируют цитокины с разнонаправленным действием и стимулируют созревание CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в сторону как провоспалительных (Th1, Th17), так и противовоспалительных (Treg) субпопуляций клеток без значительного доминирования какой-либо из сторон [161; 185; 200; 209; 215]. Механизмы, с помощью которых *H. pylori* оказывает влияние на дифференцировку Т-лимфоцитов, смещая баланс Th1/Th17/Treg в ту или иную сторону, до сих пор точно не определены. Мы, в свою очередь, предположили, что во время повреждения желудочного барьера *H. pylori* и его метаболиты способны мигрировать в собственную пластинку, где напрямую взаимодействуют с Т-лимфоцитами и влияют на их активацию и дифференцировку. В связи с этим мы поставили задачу оценить реакцию Т-лимфоцитов человека при сокультивировании с *H. pylori* в модели *in vitro* без участия профессиональных антигенпрезентирующих клеток. Оказалось, что добавление различных концентраций бактериальных суспензий *H. pylori* к CD4<sup>+</sup> Т-клеткам периферической крови условно здоровых доноров приводило к достоверному повышению CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg клеток и IL-10 в культурах лимфоцитов. Данный эффект не зависел от присутствия профессиональных антигенпрезентирующих клеток, поскольку добавление к Т-лимфоцитам бактерий совместно с моноклональными антителами к CD3-рецептору и молекуле костимуляции CD28 в качестве дополнительных стимулов, имитирующих сигнал от антигенпрезентирующих клеток, не приводило к дополнительному достоверному повышению Treg и IL-10 в культурах лимфоцитов. При этом содержание CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток в культурах лимфоцитов, стимулированных различными концентрациями бактериальных суспензий, не отличалось от содержания Th17, обнаруживаемых в контрольной культуре интактных CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. В то же время в супернатантах клеточных культур

было обнаружено многократное достоверное повышение IFN- $\gamma$ . Можно заключить, что сокультивирование *H. pylori* с CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитами в модели *in vitro* вызывало популяционные изменения, которые можно обозначить как поляризацию в сторону супрессорных (Treg) и провоспалительных (Th1) клеток с повышенной продукцией соответствующих цитокинов (IL-10 и IFN- $\gamma$ ) без проявлений возможных аутоиммунных сдвигов в сторону (Th17) клеток.

На следующем этапе работы мы провели сравнительный анализ содержания Th17 и Treg клеток, а также уровня цитокинов в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*. Согласно полученным результатам, в крови пациентов с хроническим гастритом вне зависимости от *H. pylori*-статуса не было выявлено достоверных различий в содержании CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) и CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> (Treg) клеток, а также в относительном уровне мРНК гена, кодирующего IL-17A и FoxP3, в уровне TNF- $\alpha$  и мРНК TNF- $\alpha$ . При этом концентрация IL-2 и IL-23 в крови всех больных хроническим гастритом была выше нормы, что указывает на наличие воспалительных процессов. В то же время у больных хроническим гастритом, инфицированных *H. pylori*, концентрация IL-2 и IL-23 была достоверно выше в сравнении с больными хроническим гастритом, у которых *H. pylori*-инфекция отсутствовала.

На заключительном этапе работы мы провели сравнительный анализ содержания маркеров наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний в крови больных хроническим гастритом, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*. Для этого были выбраны используемые в здравоохранении маркеры системной красной волчанки (анти-ssДНК-IgG и анти-dsДНК-IgG), антифосфолипидного синдрома (анти- $\beta$ -2-гликопротеин I-IgM/IgG), ревматоидного артрита (ревматоидный фактор) и тиреоидных аутоиммунных заболеваний (анти-ТГ и анти ТПО). Показано, что больные с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом по содержанию в крови аутоантител против односпиральной ДНК, двухспиральной ДНК и ревматоидного фактора достоверно значимо не отличались от больных, у которых диагностировался

хронический гастрит, но отсутствовала *H. pylori*-инфекция. В то же время уровень аутоантител против  $\beta$ -2-гликопротеина I у больных хроническим гастритом, инфицированных *H. pylori*, был достоверно ниже, а уровень аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы достоверно выше в сравнении с не инфицированными *H. pylori* больными хроническим гастритом. При этом медиана уровня вышеуказанных аутоантител у пациентов обеих групп сохранялась в пределах нормы.

Таким образом, использованные при выполнении настоящей работы различные подходы к оценке влияния *H. pylori* на возможность развития аутоиммунных реакций показали неоднозначную роль этого инфекционного агента в создании сложной картины изменений иммунитета. Формирующееся при *H. pylori*-инфекции хроническое воспаление служит основой для инициации аутоиммунных проявлений, возникающих под воздействием сложного набора факторов, среди которых можно назвать антигенную мимикрию, состояние иммунной системы и генетические особенности. Наличие у щитовидной железы антигенов, имеющих, видимо, наиболее выраженное сходство с факторами патогенности *H. pylori*, приводит на фоне других факторов к формированию перекрестно-реагирующих антител с высокой аффинностью, достаточной для осуществления деструктивного воздействия на данный орган. При других заболеваниях, в том числе исследованных в настоящей работе, указанные механизмы могут не развиваться или развиваются при наличии дополнительных условий, например, определенных популяционно-генетических особенностей, приводящих с более высокой вероятностью к развитию аутоиммунной патологии. Противоречивость литературных данных о связи инфицирования *H. pylori* и развитием аутоиммунных заболеваний, вероятно, обусловлена указанными причинами и отражает наличие сложных и неоднозначных механизмов аутоиммунной патологии.

## ВЫВОДЫ

1. Совместное культивирование *H. pylori* и CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитов доноров вызывает изменение их популяционного состава с поляризацией в сторону супрессорных (Treg) и провоспалительных (Th1) клеток с повышенной продукцией соответствующих цитокинов (IL-10 и IFN- $\gamma$ ) без проявлений возможных аутоиммунных сдвигов в сторону CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> (Th17) клеток.

2. В крови больных хроническим гастритом, инфицированных *H. pylori*, обнаружены более высокие уровни IL-2 и IL-23, чем в крови *H. pylori*-отрицательных пациентов при отсутствии различий в содержании CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>-клеток, в уровне мРНК FoxP3 и мРНК IL-17A и в содержании TNF- $\alpha$  и мРНК TNF- $\alpha$ .

3. Содержание аутоантител против односпиральной и двухспиральной ДНК, бета-2-гликопротеина I класса IgM и IgG и ревматоидного фактора у больных хроническим гастритом находится в пределах нормы; при этом уровень аутоантител против бета-2-гликопротеина I классов IgM и IgG достоверно выше у больных хроническим гастритом, не инфицированных *H. pylori* в сравнении с инфицированными больными.

4. В крови инфицированных *H. pylori* больных хроническим гастритом обнаружено не выходящее за пределы нормальных значений достоверное повышение аутоантител против тиреоглобулина и тиреопероксидазы в сравнении с больными, у которых *H. pylori*-инфекция отсутствует.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

*H. pylori*-инфицированных пациентов с хроническим гастритом целесообразно выделять в группу риска по развитию тиреоидных аутоиммунных заболеваний.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМП – Антимикробные пептиды

АНА – Антинуклеарные антитела

Анти-dsДНК – Антитела к двуспиральной ДНК

Анти-ssДНК – Антитела к односпиральной ДНК

Анти-КЛ – Антитела к кардиолипину

Анти-ТГ – Антитела к тиреоглобулину

Анти-ТПО – Антитела к тиреопероксидазе

АПК – Антигенпрезентирующие клетки

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АФА – Антифосфолипидные антитела

АФС – Антифосфолипидный синдром

ВКО – Внутренний контрольный образец

ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота

ДПК – двенадцатиперстная кишка

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИФА – Иммуноферментный анализ

кДНК – кодирующая ДНК

КОЕ – Колониеобразующие единицы

ЛПС – липополисахарид

МНПК – Мононуклеарные клетки периферической крови

мРНК – матричная РНК

ОТ-ПЦР РВ – Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в реальном времени

ОКО – Отрицательный контрольный образец

ПКО – Положительный контрольный образец

ППС – Полная питательная среда

ПЦР – Полимеразная цепная реакция

РА – Ревматоидный артрит

РНК – Рибонуклеиновая кислота

рТТГ – рецептор тиреотропного гормона

РФ – Ревматоидного фактора

СКВ – Системная красная волчанка

СОЖ – слизистая оболочка желудка

СОЭ – Скорость оседания эритроцитов

СРБ – С реактивный белок

ТМБ – 3,3',5,5'- тетраметилбензидин

ТТГ – Тиреотропный гормон

ФСБТ – Фосфатно-солевой буферный раствором с твином

ЩЖ – Щитовидная железа

ЭГДС – Эзофагогастродуоденоскопия

ЭДТА – Этилендиаминтетрауксусная кислота

AARDA – American Autoimmune Related Diseases Association (Американская ассоциация по борьбе с аутоиммунными заболеваниями)

Abl – Abelson kinase (Тирозинкиназа Абельсона)

AlpA – Adherence-associated lipoprotein A (Липопротеин А, ассоциированный с адгезией)

AlpB – Adherence-associated lipoprotein B (Липопротеин В, ассоциированный с адгезией)

ALPK1 – Alpha Kinase 1 (Альфа киназа 1)

Anti- $\beta$ -2-GP I – Anti-beta-2-Glycoprotein I (Антитела к  $\beta$ -2-гликопротеину 1)

Anti-MCV – Modified Citrullinated Vimentin Antibody (Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину)

APC – Allophycocyanin (Аллофикоцианин)

BabA – Lewis blood group antigen-binding adhesion (Адгезин, связывающий антигены группы крови)

CagA – Cytotoxin-associated gene A (Белок, кодируемый цитотоксин-ассоциированным геном А)

- CagH – Cytotoxin-associated gene H (Белок, кодируемый цитотоксин-ассоциированным геном H)
- CagL – Cytotoxin-associated gene L (Белок, кодируемый цитотоксин-ассоциированным геном L)
- Cag-PAI – Cytotoxin-associated gene Pathogenicity Island
- CagY – Cytotoxin-associated gene Y (Белок, кодируемый цитотоксин-ассоциированным геном Y)
- CD – Cluster of differentiation (Кластер дифференцировки)
- CEACAMs – Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (Молекулы клеточной адгезии, связанные с карциноэмбриональным антигеном человека)
- CGT – Cholesterol- $\alpha$ -glucosyltransferase (Холестерол-альфа-глюкозилтрансфераза)
- CLRs – C-type lectin receptors (Лектиновые рецепторы С-типа)
- Ct – Threshold cycle (Пороговый цикл)
- CtsC – Cathepsin C (Катепсин C)
- DAMPs – Damage-associated molecular pattern (Молекулярные паттерны, связанные с повреждением)
- DCs – Dendritic cells (Дендритные клетки)
- dNTP – Deoxynucleotide Triphosphates (Дезоксинуклеотидтрифосфат)
- DPBS – Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (Фосфатный забуференный солевой раствор Дульбекко)
- ERK1/2 – Extracellular signal-regulated kinase1/2 (Внеклеточная киназа, регулируемая сигналом)
- FCS – Fetal calf serum (Эмбриональная телячья сыворотка)
- FITC – Fluorescein isothiocyanate (Флуоресцеин-5-изотиоцианат)
- Fla – Flagellin (Флагеллин)
- Foxp3 – Forkhead-Box Protein 3 (Фактор транскрипции Т-регуляторных клеток)
- FSC – Forward scatter (Прямое светорассеивание)
- GGT – Gamma-Glutamyl Transpeptidase (Гамма-глутамилтранспептидаза)
- GP I – Glycoprotein I (Гликопротеин)
- GPCRs – G-protein-coupled receptor (Рецепторы, сопряженные с G-белком)

- HBD – Human  $\beta$ -defensin ( $\beta$ -дефензины человека)
- HopQ – *H. pylori* outer protein Q (Внешний белок A *H. pylori*)
- HopZ – *H. pylori* outer protein Z (Внешний белок Z *H. pylori*)
- HP-NAP – *H. pylori*-neutrophil-activating protein (*Helicobacter pylori*-активирующий нейтрофилы белок)
- Hsp – Heat shock protein-(Белок теплового шока)
- HtrA – High-temperature requirement A (Протеаза, обеспечивающая устойчивость к высокой температуре)
- IceA – Induced by contact with epithelium (Белок, индуцируемый при контакте с эпителием)
- IFN- $\gamma$  – Interferon-gamma (Интерферон-гамма)
- Ig – Immunoglobulin (Иммуноглобулин)
- IL – Interleukin (Интерлейкин)
- iNOS – Inducible Nitric Oxide Synthase (Индукцируемая синтаза оксида азота)
- iTreg – Induced regulatory T-cells (Индукцированные Т-регуляторные клетки)
- JAM – Junction adhesion molecule (Молекула адгезии)
- LeB – Fucose residues of Lewis-like antigens type B (Остатки фукозы Льюис-подобных антигенов типа B)
- MALDI-TOF-MS – Matrix-assisted laser desorption/ionization –Time of Flight (Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация)
- MALT – Mucosa Associated Lymphoid Tissue (Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками)
- M-MLV – Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (Обратная транскриптаза вируса лейкемии мышей)
- MHC II – Major histocompatibility complex II class (Главный комплекс гистосовместимости II класса)
- M-MLV RT – Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (Ревертаза вируса мышинного лейкоза Молони)
- NADPH-oxidases – Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidases (Никотинамид аденин динуклеотид фосфат-оксидаза)

NETs – Neutrophil extracellular traps (Внеклеточные нейтрофильные ловушки)

NF- $\kappa$ B – Nuclear factor kappa B (Ядерный фактор каппа-би)

NLRs – NOD-like receptors (NOD-подобные рецепторы)

NO – Nitric oxide (Оксид азота)

NOD1 – Nucleotide-binding oligomerization domain 1 (Нуклеотид-связывающий домен олигомеризации 1)

nTreg – Natural T regulatory cells (Натуральные Т-регуляторные клетки)

OipA – Outer inflammatory protein A (Внешний воспалительный белок А)

OMPs – Outer membrane proteins (Белки наружной мембраны)

OMVs – Outer Membrane Vesicle (Везикулы внешней мембраны)

PAMPs – Pathogen-associated molecular patterns (Патоген-ассоциированными молекулярными паттернами)

PBP – plasminogen-binding protein (Плазминоген-связывающий белок)

PE – Phycoerythrin (Фикоэритрин)

PRRs – Pattern-recognition receptors (Рецепторы распознавания образов)

RBC Lysis Buffer – Red Blood Cell Lysis Buffer (Раствор для лизиса эритроцитов)

RLRs – RIG-I-like receptors (RIG-подобные рецепторы)

RNS – Reactive nitrogen species (Активные формы азота)

ROS – Reactive oxygen species (Активные формы кислорода)

SabA – sialic Lewis X antigen-binding adhesion (Адгезин, связывающий sLeX антиген)

sIgA – Secretory Immunoglobulin A (Секреторный иммуноглобулин А)

sLeX – Sialo-Lewis X-sphingolipid (Сиало-Льюис X-сфинголипид)

Src – Sarcoma virus kinase (Киназа из вируса Саркомы)

SSC – Side scatter (Боковое светорассеивание)

T4SS – Type four secretion system (Система секреции IV типа)

TGF- $\beta$  – Transforming growth factor- $\beta$  (Трансформирующего фактора роста- $\beta$ )

Th – T-help (Т-хелперы)

TLRs – Toll-like receptors (Толл-подобные рецепторы)

TNF- $\alpha$  – Tumor necrosis factor alpha (Фактор некроза опухоли-альфа)

Treg – Regulatory T cells (Т-регуляторные клетки)

UBR2 – Ubiquitin-protein ligase E3 component n-recognin 2 (Ген, кодирующий убиквитин-протеиновую лигазу E3)

Ure B – Urease subunit B (Субъединица уреазы A)

UreA – Urease subunit A (Субъединица уреазы B)

VacA – Vacuolating cytotoxins (Вакуолизирующий цитотоксин A)

YWHAZ – Tryptophan 5-Monooxygenase Activation Protein Zeta (Триптофан 5-монооксигеназа активационного протеина зета)

ZO-1 – Zona occludens protein (Каркасный белок-1)

CagPAI – Cytotoxin-associated gene Pathogenicity Island (Остров патогенности цитотоксин-ассоциированных генов)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агеева, Е.С. Эффекты цитокинов в патогенезе *H. pylori*-ассоциированных хронического гастрита и язвенной болезни / Е.С. Агеева // Сибирский Медицинский журнал. – 2014. – №2. – С.5-8.
2. Акбиева, Д.С. Роль цитокинов в развитии заболеваний гастродуоденальной зоны / Д.С. Акбиева // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №2.
3. Алгоритм определения генотипов и аллельных вариантов *Helicobacter pylori* с использованием полимеразной цепной реакции: инструкция по применению / А.В. Воропаева, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов [и др.]; ГомГМУ. – Гомель: ГомГМУ, 2009. – 31 с.
4. Антихеликобактерные IgE антитела у детей с заболеваниями гастродуоденальной зоны и сопутствующей аллергопатологией / С.А. Мазурина, Н.В. Ильинцева, В.Е. Агафонов, В.Б. Гервазиева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 9. – С. 21-25.
5. Дубцова, Е.А. Некоторые иммунологические аспекты язвообразования / Е.А. Дубцова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2002. – Т. 4. – С. 9-14.
6. Изменение уровня субпопуляций Т-регуляторных клеток и Т-хелперов 17 в периферической крови здоровых людей в зависимости от возраста / А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, С.В. Петричук [и др.] // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № 4. – С. 409-420.
7. Иммунный ответ на *Helicobacter pylori* / В.Ю. Талаев, Е.В. Воронина, И.Е. Заиченко, О.Н. Бабайкина // Иммунология. – 2021. – Т. 42, № 6. – С. 697-705.
8. Иммунологические изменения при инвазии *Helicobacter pylori*: перспективы создания вакцин / Ю. П. Успенский, И.А. Горбачева, А.Н. Суворов [и др.] // Трансляционная медицина. – 2018. – Т. 5, № 6. – С. 31-40.

9. Исаева, Г.Ш. Биологические свойства и вирулентность *Helicobacter pylori* / Г.Ш. Исаева, Р.И. Валиева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20, №1. – С. 14-20.
10. Исаков, В.А. Хеликобактериоз / В.А. Исаков, И.В. Домрадский. – Москва: Медпрактика-М, 2003. – 412 с. – ISBN 5-901654-47-1.
11. Кононов, А.В. Местный иммунный ответ на инфекцию *Helicobacter pylori* / А.В. Кононов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – № 2. – С. 15-22.
12. Кравченко, П.Н. Система регуляторных Т-клеток и аутоиммунные процессы / П.Н. Кравченко, Е.К. Олейник // Труды Карельского научного центра РАН. – 2013. – № 3. – С. 18-30.
13. Мазурина, С.А. Иммунный ответ слизистой оболочки желудка на инфицирование *Helicobacter pylori* у детей, страдающих гастродуоденальной патологией и аллергией / С.А. Мазурина, Н.В. Ильинцева, В.Б. Гервазиева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – Т. 109, №9. – С. 30-34.
14. Матвеева, Л.В. Интерлейкиновый профиль крови в сопоставлении с выраженностью воспалительного, атрофического и язвенного процессов в слизистой оболочке желудка // Л.В. Матвеева, Л.М. Мосина, Е.А. Митина // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7-1. – С. 133-137.
15. Матвеева, Л.В. Изменение сывороточного уровня туморнекротизирующего фактора-а при заболеваниях желудка / Л.В. Матвеева, Р.Х. Капкаева, А.Н. Чудайкин, Л.С. Мишанина // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2018. – № 3. – С. 53-57.
16. Матвейчев, А.В. Физиология и функционирование Т-хелперов 17-го типа / А.В. Матвейчев, В.Ю. Талаев, И.А. Евплова // Успехи современной биологии. – 2016. – Т. 136, № 3. – С. 285-300.
17. Механизмы взаимодействия *Helicobacter pylori* с эпителием слизистой оболочки желудка. Факторы патогенности, способствующие успешной

колонизации / О.К. Поздеев, А.О. Поздеева, Ю.В. Валеева, П.Е. Гуляев // Инфекция и иммунитет. – 2018. – Т. 8, № 3. – С. 273-283.

18. Особенности иммунологических проявлений у пациентов с ревматоидным артритом при наличии хронического инфицирования штаммом *Helicobacter pylori*, кодирующим ассоциированный с цитотоксином ген А / А.В. Александров, Л.Н. Шилова, В.А. Александров [и др] // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, №4. – С. 927-932.

19. Пиманов, С.И. Эзофагит, гастрит и язвенная болезнь: руководство для врачей / С.И. Пиманов. – Москва: Мед. кн.; Н. Новгород: НГМА, 2000. – 377 с. – ISBN 5-86093-051-8.

20. Решетняк, Т.М. Антифосфолипидный синдром: диагностика и клинические проявления (лекция) / Т.М. Решетняк // Научно-практическая ревматология. – 2014. – Т.52, №1. – С. 56-71.

21. Синяков, А.А. Показатели некоторых цитокинов у больных хроническим, хроническим атрофическим гастритом на фоне *Helicobacter pylori*-инфекции / А.А. Синяков, О.В. Смирнова, Э.В. Каспаров // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2019. – Т. 11, № 5-2. – С. 124-128.

22. Смирнова, О.В. Влияние *Helicobacter pylori* на особенности цитокиновой регуляции при хроническом атрофическом гастрите / О.В. Смирнова, А.А. Синяков // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т. 10, № 1. – С. 187-192.

23. Хомерики, С.Г. *Helicobacter pylori* – индуктор и эффектор окислительного стресса в слизистой оболочке желудка: традиционные представления и новые данные / С.Г. Хомерики // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2006. – № 1. – С. 37-46.

24. Чернуцкая, С.П. Роль иммунной системы в персистенции *Helicobacter pylori* / С.П. Чернуцкая, В.Б. Гервазиева // Инфекционные болезни. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 69-77.

25. Шкитин, В.А. Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека / В.А. Шкитин, Г.Н. Шпирна, Г.Н. Старовойтов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 128-145.

26. Язвенная болезнь, хронический гастрит и эзофагит в аспекте дисбактериоза эзофагогастроудоденальной зоны / В.В. Чернин, В.М. Червинец, В.М. Бондаренко, С.Н. Базлов // Верхневолжский медицинский журнал. – 2005. – № 3-4. – С. 24-25.
27. Ярилин, А. А. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор FOXP3 / А.А. Ярилин, А. Д. Донецкова // Иммунология. – 2006. – Т. 37, № 3. – С. 176-188.
28. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative / D. Aletaha, T. Neogi, A.J. Silman [et al.] // Arthritis & Rheumatology. – 2010. – Vol. 62 (9). – P. 2569-2581.
29. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico / J. Torres, Y. Leal-Herrera, G. Perez-Perez [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2005. – Vol. 178 (4). – P. 1089-1094.
30. A conserved TLR5 binding and activation hot spot on flagellin / W.S. Song, Y.J. Jeon, B. Namgung [et al.] // Scientific Reports. – 2017. – Vol. 7. – P. 40878.
31. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 / H. Park, Z. Li, X.O. Yang [et al.] // Nature Immunology. – 2005. Vol. 6 (11). – P. 1133-1141.
32. A novel sheathed surface organelle of the *Helicobacter pylori* cag type IV secretion system / M. Rohde, J. Püls, R. Buhrdorf [et al.] // Molecular Microbiology. – 2003. – Vol. 49 (1). – P. 219-234.
33. A population-based epidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection and its association with systemic inflammation / L. Jackson, J. Britton, S.A. Lewis [et al.] // *Helicobacter*. – 2009. – Vol. 14 (5). – P. 108-113.
34. A possible link between the Epstein-Barr virus infection and autoimmune thyroid disorders / A. Dittfeld, K. Gwizdek, M. Michalski, R. Wojnicz // Central European Journal of Immunology. – 2016. – Vol. 41 (3). – P. 297-301.
35. A review of signal pathway induced by virulent protein CagA of *Helicobacter pylori* / H. Wang, M. Zhao, F. Shi [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2023. – Vol. 13. – P. 1062803.

36. Abrogation of cathepsin C by *Helicobacter pylori* impairs neutrophil activation to promote gastric infection / Y.G. Liu, Y.S. Teng, P. Cheng [et al.] // FASEB. – 2019. – Vol. 33 (4). – P. 5018-5033.
37. Activation of Abl by *Helicobacter pylori*: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering / I. Tammer, S. Brandt, R. Hartig [et al.] // Gastroenterology. – 2007. – Vol. 132 (4). – P. 1309-1319.
38. Activation of human neutrophils with *Helicobacter pylori* and the role of Toll-like receptors 2 and 4 in the response / L. Alvarez-Arellano, M. Camorlinga-Ponce, C. Maldonado-Bernal, J. Torres // FEMS Immunology and Medical Microbiology. – 2007. – Vol. 51(3). – P. 473-479.
39. Adhesion and Invasion of Gastric Mucosa Epithelial Cells by *Helicobacter pylori* / Y. Huang, Q.L. Wang, D.D. Cheng [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2016. – Vol. 22 (6). – P. 159.
40. ADP heptose, a novel pathogen-associated molecular pattern identified in *Helicobacter pylori* / L. Pfannkuch, R. Hurwitz, J. Traulsen [et al.] // FASEB. – 2019. – Vol. 33 (8). – P. 9087-9099.
41. Aletaha, D. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review / D. Aletaha, J.S. Smolen // Journal of the American Medical Association. – 2018. – Vol. 320 (13). – P. 1360-1372.
42. Alpha-kinase 1 is a cytosolic innate immune receptor for bacterial ADP-heptose / P. Zhou, Y. She, N. Dong [et al.] // Nature. – 2018. – Vol. 561 (7721). – P. 122-126.
43. Amino-Terminal Processing of *Helicobacter pylori* Serine Protease HtrA: Role in Oligomerization and Activity Regulation / N. Albrecht, N. Tegtmeyer, H. Sticht [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 642.
44. Annunziato, F. The transient nature of the Th17 phenotype / F. Annunziato, S. Romagnani // European Journal of Immunology. – 2010. – Vol. 40 (12). – P. 3312- 3316.

45. Ansari, S. *Helicobacter pylori* virulence factor cytotoxin-associated gene A (CagA)-mediated gastric pathogenicity / S. Ansari, Y. Yamaoka // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21 (19). – P. 7430.
46. Ansari, S. Role of vacuolating cytotoxin A in *Helicobacter pylori* infection and its impact on gastric pathogenesis / S. Ansari, Y. Yamaoka // Expert Review of Anti-infective Therapy. – 2020. – Vol. 18 (10). – P. 987-996.
47. Antigenic mimicry between *Helicobacter pylori* and gastric mucosa in the pathogenesis of body atrophic gastritis / R. Negrini, A. Savio, C. Poiesi [et al.] // Gastroenterology. – 1996. – Vol. 111 (3). – P. 655-665.
48. Antiphospholipid syndrome / M. Khamashta, M. Taraborelli, S. Sciascia, A. Tincani // Best Practice & Research: Clinical Rheumatology. – 2016. – Vol. 30 (1). – P. 133-148.
49. Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease / S.O. Adegbola, K. Sahnan, J. Warusavitarne [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2010. – Vol. 49 (7). – P. 1215-1228.
50. Arachchillage, D.R.J. Pathogenesis and management of antiphospholipid syndrome / D.R.J. Arachchillage, M. Laffan // British Journal of Haematology. – 2017. – Vol. 178 (2). – P. 181-195.
51. Arginase II restricts host defense to *Helicobacter pylori* by attenuating inducible nitric oxide synthase translation in macrophages / N.D. Lewis, M. Asim, D.P. Barry [et. al.] // Immunology. – 2010. Vol. – 184 (5). – P. 2572-2582.
52. Association between antibodies to heat shock protein 65 and coronary atherosclerosis. Possible mechanism of action of *Helicobacter pylori* and other bacterial infections in increasing cardiovascular risk / D.H. Birnie, E.R. Holme, I.C. McKay [et al.] // European Heart Journal. – 1998. – Vol. 19 (3). – P. 387-394.
53. Association between systemic lupus erythematosus and *Helicobacter pylori* seronegativity / A.H. Sawalha, W.R. Schmid, S.R. Binder [et al.] // Journal of Rheumatology. – 2004. – Vol. 31 (4). – P. 1546-1550.
54. Association between Thyroid Autoimmunity and *Helicobacter pylori* Infection / Y.M. Choi, T.Y. Kim, E.Y. Kim [et al.] // Korean Journal of Internal Medicine. – 2017. – Vol. 32 (2). – P. 309-313.

55. Association of established thyroid peroxidase autoantibody (TPOAb) genetic variants with Hashimoto's thyroiditis / L. Brčić, A. Barić, S. Gračan [et al.] // Autoimmunity. – 2016. – Vol. 49 (7). – P. 480-485.
56. Association of *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity: a population-based study / R. Uibo, T. Vorobjova, K. Metsküla [et al.] // FEMS Immunology and Medical Microbiology. – 1995. – Vol. 11 (1). – P. 65-68.
57. Association of *Helicobacter pylori* Infection with Autoimmune Thyroid Disease in the Female Sex / M.P. Dore, G. Fanciulli, A. Manca, G.M. Pes // Journal of Clinical Medicine. – 2023. – Vol. 12 (15). – P. 5150.
58. Associations of *Helicobacter pylori* infection and cytotoxin-associated gene A status with autoimmune thyroid diseases: A meta-analysis / W-J. Shi, W. Liu, X-Y. Zhou [et al.] // Thyroid. – 2013. – Vol. 23 (10). – P. 1294-1300.
59. Astl, J. Activation of *Helicobacter pylori* causes either autoimmune thyroid diseases or carcinogenesis in the digestive tract / J. Astl, I. Sterzl // Physiological Research. – 2015. – Vol. 64 (2). – P. 291-301.
60. Autoimmune thyroid diseases and *Helicobacter pylori*: the correlation is present only in Graves' disease / V. Bassi, G. Marino, A. Iengo [et al.] // World Journal of Gastroenterology. – 2012. – Vol. 18 (10). – P. 1093-1097.
61. Backert, S. Composition, structure and function of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island encoded type IV secretion system / S. Backert, N. Tegtmeyer, W. Fischer // Future Microbiology. – 2015. – Vol. 10 (6). – P. 20343-955-965.
62. Bacterial induction of autoantibodies to  $\beta$ -2-glycoprotein-I accounts for the infectious etiology of antiphospholipid syndrome / M. Blank, I. Krause, M. Fridkin [et al.] // Journal of Clinical Investigation. – 2002. – Vol. 109 (6). – P. 797-804.
63. Bagheri, N. The role of T helper 1-cell response in *Helicobacter pylori*-infection / N. Bagheri, L. Salimzadeh, H. Shirzad // Microbial Pathogenesis. – 2018. – Vol. 123. – P. 1-8.
64. Barrera, C. Differential glycosylation of MHC class II molecules on gastric epithelial cells: implications in local immune responses / C. Barrera, R. Espejo, V.E. Reyes // Human Immunology. – 2002. – Vol. 63 (5). – P. 384-393.

65. Basu, M. Absence of catalase reduces long-term survival of *Helicobacter pylori* in macrophage phagosomes / M. Basu, S.J. Czinn, T.G. Blanchard // *Helicobacter*. – 2004. – Vol. 9 (3). – P. 211-216.
66. Beissert, S. Regulatory T-cells / S. Beissert, A. Schwarz, T. Schwarz // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2006. – Vol. 126 (1). – P. 15-24.
67. Bell, G.D. Clinical practice breath tests / G.D. Bell // *World Journal of Gastroenterology*. – 1998. – Vol. 54 (1). – P. 187-193.
68. Benoit, S.L. Maier R.J. *Helicobacter* Catalase Devoid of Catalytic Activity Protects the Bacterium against Oxidative Stress / S.L. Benoit, R.J. Maier // *Journal of Biological Chemistry*. – 2016. – Vol. 291 (45). – P. 23366-23373.
69. Bernard, M. The immune modulating activity of the *Helicobacter pylori* HP-NAP: Friend or foe? / M. Bernard, M.M. D'Elia // *Toxicon*. – 2010. – Vol. 56 (7). – P. 1186-1192.
70. Beta-defensins and analogs in *Helicobacter pylori* infections: mRNA expression levels, DNA methylation, and antibacterial activity / R. Pero, T. Angrisano, M. Brancaccio [et al.] // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14 (9). – P. e0222295.
71. Biochemical and functional characterization of *Helicobacter pylori* vesicles / A. Olofsson, A. Vallström, K. Petzold [et al.] // *Molecular Microbiology*. – 2010. – Vol. 77 (6). – P. 1539-1555.
72. Bodger, K. Gastric mucosal secretion of interleukin-10: relations to histopathology, *Helicobacter pylori* status, and tumour necrosis factor-alpha secretion / K. Bodger, J.I. Wyatt, R.V. Heatley // *Gut*. – 1997. – Vol. 40 (6). – P. 739-744.
73. CagA-specific Gastric CD8<sup>+</sup> Tissue-Resident T Cells Control *Helicobacter pylori* During the Early Infection Phase / M.R. Koch, R. Gong, V. Friedrich [et. al.] // *Gastroenterology*. – 2023. Vol. – 164 (4). – P. 550-566.
74. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability / F. Colotta, P. Allavena, A. Sica [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2009. – Vol. 30, № 7. – P. 1073-1081.

75. Caruso, R. Emerging role of IL-23/IL-17 axis in *H. pylori*-associated pathology / R. Caruso, F. Pallone, G. Monteleone // World Journal of Gastroenterology. – 2007. – Vol. 13 (42). – P. 5547-5551.
76. Castanheira, FVS. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation / F.V.S. Castanheira, P. Kubes // Blood. – 2019. – Vol. 133 (20). – P. 2178-2185.
77. CCL20/CCR6-mediated migration of regulatory T cells to the *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa / K.W. Cook, D.P. Letley, R.J.M. Ingram [et al.] // Gut. – 2014. – Vol. 63 (10). – P. 1550-1559.
78. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory cells in human peripheral blood / C. Baecher-Allan, J.A. Brown, G.J. Freeman, D.A. Hafler // Journal Immunology. – 2001. – Vol. 167 (3). – P. 1245-1253.
79. Cellular evasion strategies of *Helicobacter pylori* in regulating its intracellular fate / W.Y. Sit, Y.A. Chen, Y.L. Chen [et al.] // Seminars in Cell and Developmental Biology. – 2020. – Vol. 101. – P. 59-67.
80. Cendron, L. Structural and functional aspects of unique type IV secretory components in the *Helicobacter pylori* cag-pathogenicity island / L. Cendron, G. Zanotti // FEBS Journal. – 2011. – Vol. 278 (8). – P. 1223-1231.
81. Chang, W-L. The impacts of *H. pylori* virulence factors on the development of gastroduodenal diseases / W-L. Chang, Y-C. Yeh, B-S. Sheu // Journal of Biomedical Science. – 2018. – Vol. 25 (1). – P. 68.
82. Characterisation of worldwide *Helicobacter pylori* strains reveals genetic conservation and essentiality of serine protease HtrA / N. Tegtmeyer, Y. Moodley, Y. Yamaoka [et al.] // Molecular Microbiology. – 2016. – Vol. 99 (5). – P. 925-944.
83. Chronic exposure to *Helicobacter pylori* impairs dendritic cell function and inhibits Th1 development / P. Mitchell, C. Germain, P.L. Fiori [et al.] // Infection and Immunity. – 2007. – Vol. 75 (2). – P. 810-819.
84. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span // D. Furman, J. Campisi, E. Verdin [et al.] // Nature Medicine. – 2019. – Vol. 25 (12). – P. 1822-1832.

85. Chung, Y. Don't leave home without it: the IL-23 visa to TH-17 cells / Y. Chung, C. Dong // *Nature Immunology*. – 2009. – Vol. 10 (3). – P. 236-238.
86. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension / A.G. Pockley, U. De Faire, R. Kiessling [et al.] // *Hypertens.* – 2002. – Vol. 20 (9). – P. 1815-1820.
87. Colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori* deficient in two flagellin genes / K.A. Eaton, S. Suerbaum, C. Josenhans, S. Krakowka // *Infection and Immunity*. – 1996. – Vol. 64 (7). – P. 2445-2448.
88. Comparative analysis of the interaction of *Helicobacter pylori* with human dendritic cells, macrophages, and monocytes / M. Fehlings, L. Drobbe, V. Moos [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2012. – Vol. 80 (8). – P. 2724-2734.
89. Comparative Immune Response in Children and Adults with *H. pylori* Infection / A. Razavi, N. Bagheri, F. Azadegan-Dehkordi [et al.] // *Journal of Immunology Research*. – 2015. – P. 315957.
90. Complex T cell interactions contribute to *Helicobacter pylori* gastritis in mice / B.M. Gray, C.A. Fontaine, S.A. Poe, K.A. Eaton // *Infection and Immunity*. – 2013. – Vol. 81 (3). – P. 740-752.
91. Conservation, localization and expression of HopZ, a protein involved in adhesion of *Helicobacter pylori* / B. Peck, M. Ortkamp, K.D. Diehl [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 1999. – Vol. 27 (16). – P. 3325-3333.
92. Contribution of Heptose Metabolites and the *cag* Pathogenicity Island to the Activation of Monocytes/Macrophages by *Helicobacter pylori* / L. Faass, S.C. Stein, M. Hauke [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. e632154.
93. Contribution of secretory antibodies to intestinal mucosal immunity against *Helicobacter pylori* / R.J. Gorrell, O.L.C. Wijburg, J.S. Pedersen [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2013. – Vol. 81 (10). – P. 3880-3893.
94. Cover, T.L. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality / T.L. Cover, S.R. Blanke // *Nature Reviews Microbiology*. – 2005. – Vol. 3 (4). – P. 320-332.

95. Critical Role of Innate Immunity to Flagellin in the Absence of Adaptive Immunity / J. Zou, X. Zhao, Z. Shi // *Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 223 (8). – P. 1478-1487.
96. Crowe, S.E. *Helicobacter pylori* Infection / S.E. Crowe // *The New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 380 (12). – P. 1158-1165.
97. Cuan-Baltazar, Y. Microorganisms associated to thyroid autoimmunity / Y. Cuan-Baltazar, E. Soto-Vega // *Autoimmunity Reviews*. – 2020. – Vol. 19 (9). – P. 102614.
98. Cutting edge: urease release by *Helicobacter pylori* stimulates macrophage inducible nitric oxide synthase / Gobert AP, Mersey BD, Cheng Y [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2002. – Vol. 168 (12). – P. 6002-6006.
99. Da Costa, D.M. What exists beyond cagA and vacA? *Helicobacter pylori* genes in gastric diseases / D.M. da Costa, E. dos S. Pereira, S.H.B. Rabenhorst // *World Journal of Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 21 (37). – P. 10563-10572.
100. DC-derived IL-18 drives Treg differentiation, murine *Helicobacter pylori*-specific immune tolerance, and asthma protection / M. Oertli, M. Sundquist, I. Hitzler [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2012. – Vol. 122 (3). – P. 1082-1096.
101. Decrease in thyroid autoantibodies after eradication of *Helicobacter pylori* infection / G. Bertalot, G. Montresor, M. Tampieri [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2004. – Vol. 61 (5). – P. 650-652.
102. Decreased *Helicobacter pylori*-specific gastric secretory IgA antibodies in infected patients / S. Birkholz, T. Schneider, U. Knipp [et al.] // *Digestion*. – 1998. – Vol. 59 (6). – P. 638-645.
103. Dendritic cell-derived TGF- $\beta$  mediates the induction of mucosal regulatory T-cell response to *Helicobacter* infection essential for maintenance of immune tolerance in mice / S.Y. Owyang, M. Zhang, M. El-Zaatari [et al.] // *Helicobacter*. – 2020. – Vol. 25 (6). – P. e12763. – 2020. – Vol. 25 (6). – P. e12763.
104. Detection of *Helicobacter pylori* ipA and dupA genes among dyspeptic patients with chronic gastritis / M.S. El-Sayed, N. Musa, M. Eltabbakh [et al.] // *Alexandria Journal of Medicine*. – 2020. – Vol. 56 (1). – P. 105-110.

105. Dharmasena, A. Selenium supplementation in thyroid associated ophthalmopathy: an update / A. Dharmasena // Journal of Ophthalmology. – 2014. – Vol. 7 (2). – P. 365-375.
106. Disappearance of antiphospholipid antibodies syndrome after *Helicobacter pylori* eradication / V. Cicconi, E. Carloni, F. Franceschi [et al.] // American Journal of Medicine. – 2001. – Vol. 111 (2). – P. 163-164.
107. Diversity of *Helicobacter pylori* isolates in expression of antigens and induction of antibodies / R.X. Tang, D.J. Luo, A.H. Sun, J. Yan // World Journal of Gastroenterology. – 2008. – Vol. 14 (30). – P. 4816-4822.
108. Dörner, T. Novel paradigms in systemic lupus erythematosus / T. Dörner, R. Furie // Lancet. – 2019. – Vol. 393 (10188). – P. 2344-2358.
109. Dunne, C. Factors that mediate colonization of the human stomach by *Helicobacter pylori* / C. Dunne, B. Dolan, M. Clyne // World Journal of Gastroenterology. – 2014. – Vol. 20 (19). – P. 5610-5624.
110. Effect of early eradication therapy on systemic lupus erythematosus risk in patients with *Helicobacter pylori* infection: a nationwide population-based cohort study / M-C. Wu, J-Y. Huang, H-H. Chen, J.C-C. Wei // Lupus. – 2006. – Vol. 29 (7). – P. 751-760.
111. Effect of IL-21 on the balance of Th17 cells/Treg cells in the pathogenesis of Graves' disease / Y. Tan, W. Chen, C. Liu [et al.] // Endocrine Research. – 2019. – Vol. 44 (4). – P. 138-147.
112. Effects of cytotoxin-associated gene A (CagA) positive *Helicobacter pylori* infection on anti-platelet glycoprotein antibody producing B cells in patients with primary idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) / Y.S. Cheng, L.P. Kuang, C.L. Zhuang [et al.] // Pakistan Journal of Medical Sciences. – 2015. – Vol. 31 (1). – P. 121-126.
113. Eradication of *Helicobacter pylori* may reduce disease severity in rheumatoid arthritis / P. Zentilin, B. Serio, P. Dulbecco [et al.] // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 2002. – Vol. 16 (7). – P. 1291-1299.

114. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in the Russian Federation from 1990 to 2023: a systematic review / D.S. Bordin, E.S. Kuznetsova, E.E. Stauver [et al.] // Russian Medical Inquiry. – 2024. – Vol. 8 (5). – P. 260-267.
115. Evaluation of Th17-related cytokines and receptors in multiple sclerosis patients under interferon  $\beta$ -1 therapy / G. Esendagli, A.T. Kurne, G. Sayat [et al.] // Journal of Neuroimmunology. – 2013. – Vol. 255 (1-2). – P. 81-84.
116. Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria / E. Andersen-Nissen, K.D. Smith, K.L. Strobe [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2005. – Vol. 102 (26). – P. 9247-9252.
117. Expression of LL-37 by human gastric epithelial cells as a potential host defense mechanism against *Helicobacter pylori* / K. Hase, M. Murakami, M. Iimura [et al.] // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125 (6). – P. 1613-1625.
118. Extraction of IgE-binding components of *Helicobacter pylori* by immunoblotting analysis in chronic urticarial patients / M. Liutu, K. Kalimo, J. Uksila, J. Savolainen // International Archives of Allergy and Immunology. – 2001. – Vol. 126 (3). – P. 213-217.
119. Four Chromosomal Type IV Secretion Systems in *Helicobacter pylori*: Composition, Structure and Function / W. Fischer, N. Tegtmeyer, K. Stingl, S. Backert // Frontiers in Immunology. – 2020. – Vol. 11. – P. 1592.
120. Four modes of adhesion are used during *Helicobacter pylori* binding to human mucins in the oral and gastric niches / S.K. Lindén, C. Wickström, G. Lindell [et al.] // *Helicobacter*. – 2008. – Vol. 13 (2). – P. 81-93.
121. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in the human immune system / S. Sakaguchi, M. Miyara, C.M. Costantino, D.A. Hafler // Nature Reviews Immunology. – 2010. – Vol. 10 (57). – P. 490-500.
122. FOXP3-expressing CD4(+) T-cell numbers increase in areas of duodenal gastric metaplasia and are associated to CD4(+) T-cell aggregates in the duodenum of *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients / B. Kindlund, A. Sjöling, M. Hansson [et al.] // *Helicobacter*. – 2009. Vol. – 14 (3). – P. 192-201.

123. Freydlin, I.S. Regulatory T-cells: origin and function / I.S. Freydlin // Medical Immunology. – 2005. – Vol. 7 (4). – P. 347-354.
124. FrxA is an S-nitrosoglutathione reductase enzyme that contributes to *Helicobacter pylori* pathogenicity / M.C. Justino, M.R. Parente, I.G. Boneca, L.M. Saraiva // FEBS. – 2014. – Vol. 281 (19). – P. 4495-4505.
125. Function and recruitment of mucosal regulatory T cells in human chronic *Helicobacter pylori* infection and gastric adenocarcinoma // K. Enarsson, A. Lundgren, B. Kindlund, M. Hermansson [et al.] // Clinical Immunology. – 2006. – Vol. 121 (3). – P. 358-368.
126. Functional and intracellular signaling differences associated with the *Helicobacter pylori* AlpAB adhesin from Western and East Asian strains / H. Lu, J.Y. Wu, E.J. Beswick [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2007. – Vol. 282 (9). – P. 6242-6254.
127. Functional Properties of Oligomeric and Monomeric Forms of *Helicobacter pylori* VacA Toxin / G.C. Caso, M.S. McClain, A.L. Erwin [et al.] // Infection and Immunity. – 2021. – Vol. 89 (12). – P. e0034821.
128. Gastric antimicrobial peptides fail to eradicate *Helicobacter pylori* infection due to selective induction and resistance / S. Nuding, M. Gerseemann, Y. Hosaka [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8 (9). – P. e73867.
129. Gastric epithelial cell death caused by *Helicobacter suis* and *Helicobacter pylori*  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase is mainly glutathione degradation-dependent / B. Flahou, F. Haesebrouck, K. Chiers [et al.] // Cellular Microbiology. – 2011. – Vol. 13 (12). – P. 1933-1955.
130. Gastric expression of IL-17A and IFN- $\gamma$  in *Helicobacter pylori* infected individuals is related to symptoms / J. Adamsson, L.S. Ottsjo, S.B. Lundin [et al.] // Cytokine. – 2017. – Vol. 99. – P. 30-34.
131. Gastrointestinal disorder and *Helicobacter pylori* infection in patients with rheumatoid arthritis / H. Nakamura, E. Mukai, D. Hirano // Modern Rheumatology. – 1996. – Vol. 11(1). – P. 23-27.

132. Genetic and functional characterization of the *alpAB* gene locus essential for the adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue / S. Odenbreit, M. Till, D. Hofreuter [et al.] // *Molecular Microbiology*. – 1999. – Vol. 31 (5). – P. 1537-1548.
133. Genetic polymorphisms in the toll-like receptor signalling pathway in *Helicobacter pylori* infection and related gastric cancer / N. Castaño-Rodríguez, N. Kaakoush, A.L. Pardo [et al.] // *Human Immunology*. – 2014. – Vol. 75 (8). – P. 808-815.
134. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection between 1980 and 2022: a systematic review and meta-analysis / Y. Li, H. Choi, K. Leung [et al.] // *Lancet Gastroenterology Hepatology*. – 2023. – Vol. 8 (6). – P. 553-564.
135. Gu, H. Role of Flagella in the Pathogenesis of *Helicobacter pylori* / H. Gu // *Current Microbiology*. – 2017. – Vol. 74 (7). – P. 863-869.
136. Gumbiner, B.M. Regulation of cadherin adhesive activity / B.M. Gumbiner // *Journal of Cell Biology*. – 2000. – Vol. 148 (3). – P. 399-404.
137. Hasni, S. *Helicobacter pylori* and autoimmune diseases / S. Hasni, A. Ippolito, G.G. Illei // *Oral Diseases*. – 2011. – Vol. 17 (7). – P. 369. 621-627.
138. *Helicobacter pylori* adhesin HopQ engages in a virulence-enhancing interaction with human CEACAMs / A. Javaheri, T. Kruse, K. Moonens Kadowaki [et al.] // *Nature Microbiology*. – 2016. – Vol. 2. – P. 16189.
139. *Helicobacter pylori* and autoimmune disease: cause or bystander / D.S. Smyk, A.L. Koutsoumpas, M.G. Mytilinaiou [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 20 (3). – P. 613-629.
140. *Helicobacter pylori* and Autoimmune Diseases: Involving Multiple Systems / L. Wang, Z-M. Cao, L-L. Zhang [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 833424.
141. *Helicobacter pylori* and rheumatoid arthritis / L.B. Graff, L.P. Andersen, A. Gernow [et al.] // *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*. – 2007. – Vol. 1 (1). – P. 369.68-73.

142. *Helicobacter pylori* and T Helper Cells: Mechanisms of Immune Escape and Tolerance / T. Larussa, I. Leone, E. Suraci [et al.] // Journal of Immunology Research. – 2015. – P. 981328.

143. *Helicobacter pylori* arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: a strategy for bacterial survival / A.P. Gobert, D.J. McGee, M. Akhtar [et al.] // PNAS. – 2001. – Vol. 98 (24). – P. 13844-13849.

144. *Helicobacter pylori* arginase inhibits T cell proliferation and reduces the expression of the TCR zeta-chain (CD3zeta) / J. Zabaleta, D.J. McGee, A.H. Zea [et al.] // Journal of Immunology. – 2004. – Vol. 173 (1). – P. 586-593.

145. *Helicobacter pylori* BabA-SabA Key Roles in the Adherence Phase: The Synergic Mechanism for Successful Colonization and Disease Development / D. Doohan, Y.A.A. Rezkitha, L.A. Waskito [et al.] // Toxins (Basel). – 2021. – Vol. 13 (7). – P. 485.

146. *Helicobacter pylori* virulence factors-mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment / J. Baj, A. Forma, M. Sitarz [et al.] // Cells. – 2021. – Vol. 10 (1). – P. 27.

147. *Helicobacter pylori* CagA / M.R. Amieva, R. Vogelmann, A. Covacci [et al.] // Science. – 2003. – Vol. 300 (5624). – P. 1430-1434.

148. *Helicobacter pylori* CagA antibodies and thyroid function in latent autoimmune diabetes in adults / A.P. Delitala, G.M. Pes, A. Errigo [et al.] // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2016. – Vol. 20 (1). – P. 4041-4047.

149. *Helicobacter pylori* cagL amino acid polymorphism D58E59 pave the way toward peptic ulcer disease while N58E59 is associated with gastric cancer in north of Iran / M.R. Cherati, J. Shokri-Shirvani, A.K. Lee [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 107. – P. 413-418.

150. *Helicobacter pylori* cholesterol glucosylation modulates autophagy for increasing intracellular survival in macrophages / C.H. Lai, J.C. Huang, H.H. Cheng [et al.] // Cellular Microbiology. – 2018. Vol. – 20 (12). – P. e12947.

151. *Helicobacter pylori* Colonization Protects Against Chronic Experimental Colitis by Regulating Th17/Treg Balance / H. Zhang, Y. Dai, Y. Liu [et al.] // Inflammatory bowel disease. – 2018. – Vol. 24 (7). – P. 1481-1492.
152. *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A impairs human dendritic cell maturation and function through IL-10-mediated activation of STAT3 / R. Kaebisch, R. Mejías-Luque, C. Prinz, M. Gerhard // Immunology. – 2014. – Vol. 192 (1). – P. 316-323.
153. *Helicobacter pylori* Depletes Cholesterol in Gastric Glands to Prevent Interferon Gamma Signaling and Escape the Inflammatory Response / P. Morey, L. Pfannkuch, E. Pang [et al.] // Gastroenterology. – 2018. – Vol. 154 (5). – P. 1391-1404.
154. *Helicobacter pylori* disrupts NADPH oxidase targeting in human neutrophils to induce extracellular superoxide release / L-A. H. Allen, B.R. Beecher, J.T. Lynch [et al.] // Immunology. – 2005. – Vol. 174 (6). – P. 3658-3667.
155. *Helicobacter pylori* exploits a unique repertoire of type IV secretion system components for pilus assembly at the bacteria-host cell interface / C.L. Shaffer, J.A. Gaddy, J.T. Loh [et al.] // PLoS Pathogens. – 2011. – Vol. 7 (9). – P. e1002237.
156. *Helicobacter pylori* Exploits the NLRC4 Inflammasome to Dampen Host Defenses / R.P. Semper, M. Vieth, M. Gerhard, R. Mejías-Luque // Immunology. – 2019. – Vol. 203 (8). – P. 2183-2193.
157. *Helicobacter pylori* has an unprecedented nitric oxide detoxifying system / M.C. Justino, C. Ecobichon, A.F. Fernandes [et al.] // Antioxid Redox Signal. – 2012. – Vol. 17 (9). – P. 1190-1200.
158. *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 mediates interleukin-6 production by macrophages via a toll-like receptor (TLR)-2-, TLR-4-, and myeloid differentiation factor 88-independent mechanism / A.P. Gobert, J.C. Bambou, C.Werts [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2004. – Vol. 279 (1). – P. 245-250.
159. *Helicobacter pylori* heat-shock protein 60 induces interleukin-8 via a Toll-like receptor (TLR)2 and mitogen-activated protein (MAP) kinase pathway in human monocytes / Y. Zhao, K. Yokota, K. Ayada [et al.] // Journal of Medical Microbiology. – 2007. – Vol. 56 (2). – P. 154-164.

160. *Helicobacter pylori* HtrA is a new secreted virulence factor that cleaves E-cadherin to disrupt intercellular adhesion / B. Hoy, M. Löwer, C. Weydig [et al.] // EMBO Reports. – 2010. – Vol. 11 (10). – P. 798-804.

161. *Helicobacter pylori* immune escape is mediated by dendritic cell-induced Treg skewing and Th17 suppression in mice / J.Y. Kao, M. Zhang, M.J. Miller [et. al.] // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 138 (3). – P. 1046-1054.

162. *Helicobacter pylori* induces activation of human peripheral  $\gamma\delta^+$  T lymphocytes / B. Romi, E. Soldaini, L. Pancotto [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6 (4). – P. e19324.

163. *Helicobacter pylori* induces ERK-dependent formation of a phospho-c-Fos c-Jun activator protein-1 complex that causes apoptosis in macrophages / M. Asim, R. Chaturvedi, S Hoge [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2010. – Vol. 285 (26). – P. 20343-20357.

164. *Helicobacter pylori* induces increased expression of Toll-like receptors and decreased Toll-interacting protein in gastric mucosa that persists throughout gastric carcinogenesis / P. Pimentel-Nunes, N. Gonçalves, I. Boal-Carvalho [et al.] // *Helicobacter*. – 2013. – Vol. 18 (1). – P. 22-32.

165. *Helicobacter pylori* infection and atrophic gastritis. A case-control study in a rural town of Japan / Y. Watanabe, K. Ozasa, A. Higashi [et al.] // Journal of Clinical Gastroenterology. – 1997. – Vol. 25 (1). – P. 391-394.

166. *Helicobacter pylori* infection and autoimmune diseases; Is there an association with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, autoimmune atrophy gastritis and autoimmune pancreatitis? A systematic review and meta-analysis study / M. Youssefi, M. Tafaghodi, H. Farsiani [et al.] // Journal of Microbiology, Immunology and Infection. – 2021. – Vol. 54 (3). – P. 359-369.

167. *Helicobacter pylori* infection and autoimmune thyroid disease in young patients: the disadvantage of carrying the human leukocyte antigen-DRB1\*0301 allele / D. Larizza, V. Calcaterra, M. Martinetti [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2006. – Vol. 91 (11). – P. 176-179.

168. *Helicobacter pylori* Infection and Autoimmune Thyroid Diseases: The Role of Virulent Strains / N. Figura, G.D. Cairano, E. Moretti [et al.] // *Antibiotics* (Basel). – 2019. – Vol. 9 (1). – P. 12.

169. *Helicobacter pylori* infection and gastroduodenal lesions in patients with systemic lupus erythematosus / C. Mendoza-Pinto, M. García-Carrasco, S. Méndez-Martínez [et al.] // *Clinical Rheumatology*. – 2020. – Vol. 39 (2). – P. 463-469.

170. *Helicobacter pylori* Infection Elicits Type I Interferon Response in Human Monocytes via Toll-Like Receptor 8 Signaling / C.Y.Q. Lee, Y.T. Chan, Y.Y. Cheok [et al.] // *Immunology*. – 2022. – P. 3861518.

171. *Helicobacter pylori* infection in connective tissue disorders is associated with high levels of antibodies to mycobacterial hsp65 but not to human hsp60 / L. Kalabay, B. Fekete, L. Czirjak [et al.] // *Helicobacter*. – 2009. – Vol. 7 (4). – P. 250-256.

172. *Helicobacter pylori* infection in patients with Hashimoto's thyroiditis / F. Franceschi, M.A. Satta, M.C. Mentella [et al.] // *Helicobacter*. – 2004. – Vol. 9 (4). – P. 369.

173. *Helicobacter pylori* infection in rheumatic diseases / H. Wen, J. Luo, J. Li, X. Li // *Arthritis Research and Therapy*. – 2012. – Vol. 14 (1). – P. 74.

174. *Helicobacter pylori* infection increased anti-dsDNA and enhanced lupus severity in symptomatic fcγmariib-deficient lupus mice / S. Surawut, W. Panpetch, J. Makjaroen [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. – 9. – P. 1488.

175. *Helicobacter pylori* infection is markedly increased in patients with autoimmune atrophic thyroiditis / D.A. de Luis, C. Varela, C.H. de La [et al.] // *Journal of Clinical Gastroenterology*. – 1998. – Vol. 26 (4). – P. 259-263.

176. *Helicobacter pylori* infection is not associated with rheumatoid arthritis / L.E. Bartels, A.B. Pedersen, N.R. Kristensen [et al.] // *Scandinavian Journal of Rheumatology*. – 2019. – Vol. 48 (1). – P. 24-31.

177. *Helicobacter pylori* modulates host cell responses by CagT4SS-dependent translocation of an intermediate metabolite of LPS inner core heptose biosynthesis /

S.C. Stein, E. Faber, S.H. Bats [et al.] // PLOS Pathogens. – 2017. – Vol. 13 (7). – P. e1006514.

178. *Helicobacter pylori* Neutrophil-Activating Protein Directly Interacts with and Activates Toll-like Receptor 2 to Induce the Secretion of Interleukin-8 from Neutrophils and ATRA-Induced Differentiated HL-60 Cells / S.H. Wen, Z.W. Hong, C.C. Chen [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22 (21). – P. 11560.

179. *Helicobacter pylori* outer inflammatory protein A (OipA) suppresses apoptosis of AGS gastric cells in vitro / A.R. Al-Maleki, M.F. Loke, S.Y. Lui [et al.] // Cell Microbiology. – 2017. – Vol. 19 (12). – P. e12771.

180. *Helicobacter pylori* Outer Membrane Vesicles and Extracellular Vesicles from *Helicobacter pylori*-Infected Cells in Gastric Disease Development / M.F. González, P. Díaz, A. Sandoval-Bórquez [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22 (9). – P. 4823.

181. *Helicobacter pylori* polyclonally activates murine CD4 (+) T cells in the absence of antigen-presenting cells / C. Rosenplänter, F. Sommer, P. Kleemann [et al.] // European Journal of Immunology. – 2007. – Vol. 37 (7). – P. 1905-1915.

182. *Helicobacter pylori* protein HP0175 transactivates epidermal growth factor receptor through TLR4 in gastric epithelial cells / S. Basu, S.K. Pathak, G. Chatterjee [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2008. – Vol. 283 (47). – P. 32369-32376.

183. *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation / J. Mahdavi, B. Sondén, M. Hurtig [et al.] // Science. – 2002. – Vol. 297 (5581). – P. 573-578.

184. *Helicobacter pylori* serology in autoimmune diseases – fact or fiction? / M. Ram, O. Barzilai, Y. Shapira [et al.] // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. – 2013. – Vol. 51(5). – P. 1075-1082.

185. *Helicobacter pylori* stimulates dendritic cells to induce interleukin-17 expression from CD4+ T lymphocytes / W. Khamri, M.M. Walker, P. Clark [et al.] // Infection and Immunity. – 2010. Vol. – 78 (2). – P. 845-853.

186. *Helicobacter pylori* strains vary cell shape and flagellum number to maintain robust motility in viscous environments / L.E. Martínez, J.M. Hardcastle, J. Wang [et al.] // *Molecular Microbiology*. – 2016. – Vol. 99 (1). – P. 88-110.

187. *Helicobacter pylori* uptake and efflux: basis for intrinsic susceptibility to antibiotics *in vitro* / J.E. Bina, R.A. Alm, M. Uria-Nickelsen [et al.] // *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. – 2000. – Vol. 44 (2). – P. 248-254.

188. *Helicobacter pylori* VacA Targets Myeloid Cells in the Gastric Lamina Propria To Promote Peripherally Induced Regulatory T-Cell Differentiation and Persistent Infection / A. Altobelli, M. Bauer, K. Velez [et al.] // *mBio*. – 2019. – Vol. 10 (2). – P. e00261.

189. *Helicobacter pylori* virulence factors-mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment / J. Baj, A. Forma, M. Sitarz [et al.] // *Cells*. – 2020. – Vol. 10 (1). – P. 27.

190. *Helicobacter pylori*  $\gamma$ -glutamyl transferase contributes to colonization and differential recruitment of T cells during persistence / S. Wüstner, F. Anderl, A. Wanisch [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 7 (1). – P. 13636.

191. *Helicobacter pylori*-derived heat shock protein 60 increases the induction of regulatory T-cells associated with persistent infection / W.T. Hsu, S.Y. Ho, T.Y. Jian [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2018. – Vol. 119. – P. 152-161.

192. *Helicobacter pylori*-induced REDD1 modulates Th17 cell responses that contribute to gastritis / Z.B. Yan, J.Y. Zhang, Y.P. Lv [et al.] // *Clinical science*. – 2021. – Vol. 135 (22). – P. 2541-2558.

193. *Helicobacter pylori*-infected human neutrophils exhibit impaired chemotaxis and a uropod retraction defect / A. Prichard, L. Khuu, L.C. Whitmore [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1038349.

194. *Helicobacter pylori*-specific CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> regulatory T cells suppress memory T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals / A. Lundgren, E.I. Suri-Payer, K. Enarsson [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2003. – Vol. 71 (4). – P. 1755- 1762.

195. Highly significant role of *Helicobacter pylori* urease in phagocytosis and production of oxygen metabolites by human granulocytes / A. Makristathis, E. Rokita, A. Labigne [et al.] // *Journal of the Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 177 (3). – P. 803-806.
196. Highly-purified *Helicobacter pylori* LPS preparations induce weak inflammatory reactions and utilize Toll-like receptor 2 complex but not Toll-like receptor 4 complex / S. Yokota, T. Ohnishi, M. Muroi [et al.] // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. – 2007. – Vol. 51 (1). – P. 140-148.
197. Hoover, D.M. The structure of human  $\beta$ -defensin-1: new insights into structural properties of  $\beta$ -defensins / D.M. Hoover, O. Chertov, J. Lubkowski // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – V. 276 (42). – P. 39021-39026.
198. Hu, X. Cross-regulation of signaling pathways by interferon-gamma: implications for immune responses and autoimmune diseases / X. Hu, L.B. Ivashkiv // *Immunity*. – 2009. – Vol. 31 (4). – P. 539-550.
199. Human beta-defensin-3 induction in *H. pylori*-infected gastric mucosal tissues / K. Kawauchi, A. Yagihashi, N. Tsuji [et. al.] // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 12 (36). – P. 5793-5797.
200. Human primary gastric dendritic cells induce a Th1 response to *H. pylori* / D. Bimczok, R.H. Clements, K.B. Waites [et al.] // *Mucosal Immunology*. – 2010. – Vol. 3 (3). – P. 260-269.
201. Human  $\beta$ -defensins / M. Pazgier, D.M. Hoover, D. Yang [et al.] // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2006. – Vol. 63 (11). – P. 1294-1313.
202. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity / C.K. Wong, L.C.W. Lit, L.S. Tam [et al.] // *Clinical Immunology*. – 2008. – Vol. 127 (3). – P. 385-393.
203. Identification and characterization of binding properties of *Helicobacter pylori* by glycoconjugate arrays / A. Walz, S. Odenbreit, J. Mahdavi [et. al.] // *Glycobiology*. – 2005. – Vol. 15 (7). – P. 700-708.

204. Identification of a novel antibody associated with autoimmune pancreatitis / L. Frulloni, C. Lunardi, R. Simone [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2009. – Vol. 361 (22). – P. 369. 2135-2142.
205. Identification of E-cadherin signature motifs functioning as cleavage sites for *Helicobacter pylori* HtrA / T.P. Schmidt, A.M. Perna, T. Fugmann [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 23264.
206. IgE-containing cells in gastric mucosa with and without *Helicobacter pylori* infection / L. Berczi, A. Sebestyén, B. Fekete [et al.] // Pathology, Research and Practice. – 2000. – Vol. 196 (12). – P. 831-834.
207. IL-17 is involved in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammatory responses in a mouse model / S. Shiomi, A. Toriie, S. Imamura [et al.] // *Helicobacter*. – 2008. – Vol. 13 (6). – P. 518-524.
208. IL-17A and IL-17F gene expression is strongly induced in the mucosa of *H. pylori*-infected subjects from Kenya and Germany / A. Kimang'a, G. Revathi, S. Kariuki, [et. al.] // Scandinavian Journal of Immunology. – 2010. Vol. – 72 (6). – P. 522-528.
209. IL-23 Contributes to Control of Chronic *Helicobacter pylori* Infection and the Development of T Helper Responses in a Mouse Model / D.J.H. Jr, M.K. Washington, V.A. Cope, H.M.S. Algood // Frontiers in Immunology. – 2012. – Vol. 3. – P. 56.
210. Implications for a role of interleukin-23 in the pathogenesis of chronic gastritis and of peptic ulcer disease / V. Koussoulas, S. Vassiliou, E.J. Giamarellos-Bourboulis [et al.] // Clinical & Experimental Immunology. – 2009. – Vol. 156 (1). – P. 97-101.
211. Implications for induction of autoimmunity via activation of B-1 cells by *Helicobacter pylori* urease / S. Yamanishi, T. Iizumi, E. Watanabe [et al.] // Infection and Immunity. – 2006. – Vol. 74 (1). – P. 248-256.
212. Importance of *Helicobacter pylori* oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin-8 production / Y. Yamaoka, S. Kikuchi, H.M.T. el-Zimaity [et al.] // Gastroenterology. – 2002. – Vol. 123 (2). – P. 414-424.

213. Increased numbers of Foxp3-positive regulatory T cells in gastritis, peptic ulcer and gastric adenocarcinoma / H-H. Cheng, G-Y. Tseng, H-B. Yang [et al.] // World Journal of Gastroenterology. – 2012. – Vol. 18 (1). – P. 34-43.
214. Increased risk of systemic lupus erythematosus in patients with *Helicobacter pylori* infection: a nationwide population-based cohort study / M-C. Wu, P-Y. Leong, J. Y. Chiou [et al.] // Frontiers of Medicine. – 2020. – Vol. 6. – P. 330.
215. Induction of a Th17 cell response by *Helicobacter pylori* Urease subunit B / J-Y. Zhang, T. Liu, H. Guo [et al.] // Immunobiology. – 2011. – Vol. 216 (7). – P. 803-810.
216. Induction of TLR-2 and TLR-5 expression by *Helicobacter pylori* switches cagPAI-dependent signalling leading to the secretion of IL-8 and TNF- $\alpha$  / S.K. Pachathundikandi, S. Brandt, J. Madassery, S. Backert // PLoS One. – 2011. – Vol. 6 (5). – P. e19614.
217. Induction of TLR4/TLR2 Interaction and Heterodimer Formation by Low Endotoxic Atypical LPS / S. Francisco, J.M. Billod, J. Merino [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 12. – P. 748303.
218. Infectious aspects and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis / M.K. Meron, H. Amital, D. Shepshelovich [et al.] // Clinical Reviews in Allergy & Immunology. – 2010. – Vol. 38 (2-3). – P. 287-291.
219. Infectious origin of the antiphospholipid syndrome / Y. Shoenfeld, M. Blank, R. Cervera [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2006. – Vol. 65 (1). – P. 2-6.
220. Influence of *Helicobacter pylori* infection on risk of rheumatoid arthritis: a nationwide population-based study / T.H. Lee, M.C. Wu, M.H. Lee [et al.] // BMC Gastroenterology. – 2023. – Vol. 13 (1). – P. 15125.
221. Influence of *Helicobacter pylori* virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders / S. Nejati, A. Karkhah, H. Darvish [et al.] // Microbial Pathogenesis. – 2018. – Vol. 117. – P. 43-48.
222. Ingegnoli, F. Rheumatoid factors: clinical applications/ F. Ingegnoli, R. Castelli, R. Gualtierotti // Disease Markers. – 2013. – Vol. 35 (6). – P. 727-734.

223. Innate Immunity Crosstalk with *Helicobacter pylori*: Pattern Recognition Receptors and Cellular Responses / Y.Y. Cheok, G.M.Y. Tan, C.Y.Q. Lee [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23 (14). – P. 7561.

224. Innocenti, M. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides preferentially induce CXC chemokine production in human monocytes / M. Innocenti, A.M. Svennerholm, M. Quiding-Järbrink // Infection and Immunity. – 2001. – Vol. 69 (6). – P. 3800-3808.

225. Interferon gamma-signature transcript profiling and IL-23 upregulation in response to *Helicobacter pylori* infection / J.R. Vivas, B. Regnault, V. Michel [et al.] // International Journal Immunopathology Pharmacology. – 2008. Vol. – 21(3). – P. 515-526.

226. Interleukin-17 levels in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa and pathologic sequelae of colonization / T. Mizuno, T. Ando, K. Nobata [et al.] // World Journal of Gastroenterology. – 2005. – Vol. 11 (406). – P. 6305-6311.

227. Interleukin-17C in human *Helicobacter pylori* gastritis / S. Tanaka, H. Nagashima, M. Cruz [et al.] // Infection and Immunity. – 2017. – Vol. 85 (10). – P. e00389-00417.

228. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) / S. Miyakis, M.D. Lockshin, T. Atsumi [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2006. – Vol. 4 (2). – P. 295-306.

229. Interplay of the Gastric Pathogen *Helicobacter pylori* with Toll-Like Receptors / S.K. Pachathundikandi, J. Lind, N. Tegtmeyer [et al.] // BioMed Research International. – 2015. – P. 192420.

230. Is there anything to the reported association between *Helicobacter pylori* infection and autoimmune thyroiditis? / P.A. Tomasi, M.P. Dore, G. Fanciulli [et al.] // Digestive Diseases and Sciences. – 2005. – Vol. 50 (2). – P. 385-388.

231. Isolating, immunophenotyping and ex vivo stimulation of CD4+ and CD8+ gastric lymphocytes during murine *Helicobacter pylori* infection / V.E. Ruiz, M. Sachdev, S. Zhang [et al.] // Immunological Methods. – 2012. – Vol. 384 (1-2). – P. 157-163.

232. Jang, T.J. The number of Foxp3-positive regulatory T cells is increased in *Helicobacter pylori* gastritis and gastric cancer / T. J. Jang // Pathology, Research and Practice. – 2010. – Vol. 206 (1). – P. 34-38.

233. Jones, S.T. Serological evidence of infection with *Helicobacter pylori* may predict gastrointestinal intolerance to non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) treatment in rheumatoid arthritis / S.T. Jones, R.B. Clague, J. Eldridge, D.M. Jones // British Journal of Rheumatology. – 1991. – Vol. 30 (1). – P. 16-20.

234. Kabir, S. The role of interleukin-17 in the *Helicobacter pylori* induced infection and immunity / S. Kabir // *Helicobacter*. – 2014. – Vol. 16, № 1. – P. 1-8.

235. Kandulski, A. Role of Regulatory T-cells in *H. pylori*-induced gastritis and gastric cancer / A. Kandulski, P. Malfertheiner, T. Wex // Anticancer Research. – 2010. – Vol. 30 (4). – P. 1093-1103.

236. Kao, C-Y. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis / C-Y. Kao, B-S. Sheu, J-J. Wu // Biomedical Journal. – 2016. – Vol. 39 (1). – P. 14-23.

237. Khamashta, M. Antiphospholipid syndrome / M. Khamashta, M. Taraborelli, S. Sciascia, A. Tincani // Best Practice & Research: Clinical Rheumatology. – 2016. – Vol. 30 (1). – P. 133-148.

238. Khomeriki, S.G. *Helicobacter pylori* inducer and effector of oxidative stress in the gastric mucosa: traditional concepts and new data / S.G. Khomeriki // Experimental and Clinical Gastroenterology. – 2006. – Vol. 1. – P. 37-46.

239. Kiriakidou, M. Systemic Lupus Erythematosus / M. Kiriakidou, C.L. Ching // Annals of Internal Medicine. – 2020. Vol. – 172 (11). – P. ITC81-ITC96.

240. Korani, M. *Helicobacter Pylori* Infection: Association with Hashimoto's Thyroiditis / M. Korani, E. Elshayeb, A. Sonbal // Gastroenterology and Hepatology: Open Access. – 2016. – Vol. 4 (5). – P. 00111.

241. Krzyżek, P. Transformation of *Helicobacter pylori* into Coccoid Forms as a Challenge for Research Determining Activity of Antimicrobial Substances / P. Krzyżek, R. Grande // Pathogens. – 2020. – Vol. 9 (3). – P. 184.

242. Kusters, J.G. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection / J.G. Kusters, A.H.M.V. Vliet, E.J. Kuipers // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2006. – Vol. 19 (3). – P. 449-490.
243. Laurence, A. A degrading view of regulatory T cells / A. Laurence, Y. Belkaid, J.J. O'Shea // *Immunity*. – 2013. – Vol. 39 (2). – P. 201-203.
244. Lazar, S. Systemic lupus erythematosus: New Diagnostic and Therapeutic Approaches / S. Lazar, J.M. Kahlenberg // *Annual Review of Medicine*. – 2023. – Vol. 74. – P. 339-352.
245. Li, D. Pattern recognition receptors in health and diseases / D. Li, M. Wu // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2021. Vol. – 6 (1). – P. 291.
246. Liao, W. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy / W. Liao, J.X. Lin, W.J. Leonard // *Immunity*. – 2013. – Vol. 38 (1). – P. 13-25.
247. Loss of the balance between CD4(+) Foxp3(+) regulatory T cells and CD4(+)IL17A(+) Th17 cells in patients with type 1 diabetes / M. Ryba-Stanisławowska, M. Skrzypkowska, M. Myśliwiec, J. Myśliwska // *Human Immunology*. – 2013. – Vol. 74 (6). – P. 701-707.
248. Magalhães, A. *Helicobacter pylori* adhesion to gastric epithelial cells is mediated by glycan receptors / A. Magalhães, C.A. Reis // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 2010. – Vol. 43 (7). – P. 611-618.
249. Mahmood, S. Infection by CagA Positive Strains of *Helicobacter Pylori* is Associated With Autoimmune Thyroid Disease in Iranian Patients / M. Soveid, H.K. Asl, G.R. Omrani // *Iranian Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 9 (1). – P. 48-52.
250. Marcus, E.A. Acid-regulated gene expression of *Helicobacter pylori*: Insight into acid protection and gastric colonization / E.A. Marcus, G. Sachs, D.R. Scott // *Helicobacter*. – 2018. – Vol. 23 (3). – P. e12490.
251. Marino, J. Allorecognition by T Lymphocytes and Allograft Rejection / J. Marino, J. Paster, G. Benichou // *Frontiers in Immunology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 582.

252. Massilamany, C. Intricacies of cardiac damage in Cocksackievirus B3 infection: McClain, M.S. *Helicobacter pylori* Vacuolating Toxin and Gastric Cancer / M.S. McClain, A.C. Beckett, T.L. Cover // *Toxins* (Basel). – 2017. – Vol. 9 (10). – P. 316.
253. Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia / M. Tsujii, S. Kawano, S. Tsuji [et al.] // *Gastroenterology*. – 1992. – Vol. 102 (6). – P. 1881-1888.
254. Meta-analysis of the correlation between *Helicobacter pylori* infection and autoimmune thyroid diseases / Y. Hou, W. Sun, C. Zhang [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8 (70). – P. 115691-115700.
255. Meyer, O. Interferons and autoimmune disorders / O. Meyer Ivashkiv // *Joint Bone Spine*. – 2009. – Vol. 76 (5). – P. 464-473.
256. Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* antigens and H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>--adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity / A. Amedei, M.P. Bergman, B.J. Appelmek [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2003. – Vol. 198 (8). – P. 1147-1156.
257. Molecular mimicry by *Helicobacter pylori* CagA protein may be involved in the pathogenesis of *H. pylori*-associated chronic idiopathic thrombocytopenic purpura / T. Takahashi, T. Yujiri, K. Shinohara [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2004. – Vol. 124 (1). – P. 91-96.
258. Monoclonal antibodies against *Helicobacter pylori* cross-react with human tissue / G.H. Ko, H.B. Park, M.K. Shin [et al.] // *Helicobacter*. – 1997. – Vol. 2 (4). – P. 210-215.
259. Moran, A.P. Molecular mimicry of host structures by bacterial lipopolysaccharides and its contribution to disease / A.P. Moran, M.M. Prendergast, B.J. Appelmek // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. – 1996. – Vol. 16 (2). – P. 105-115.
260. Moyat, M. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection / M. Moyat, D. Velin // *World Journal of Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 20 (19). – P. 5583-5593.
261. Mucosal FOXP3-expressing CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients / A. Lundgren, E. Strömberg, A. Sjöling [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2005. – Vol. 73 (1). – P. 523-531.

262. Mulrooney, S.B. Nickel uptake and utilization by microorganisms / S.B. Mulrooney, R.P. Hausinger // FEMS Microbiol Reviews. – 2003. – Vol. 27 (2-3). – P. 239-261.
263. Multiplex analysis of antibodies against citrullinated peptides in individuals prior to development of rheumatoid arthritis / M. Brink, M. Hansson, L. Mathsson [et al.] // Arthritis Rheumatology. – 2013. – Vol. 65 (4). – P. 899-910.
264. Narciso-Schiavon, J.L. Autoantibodies in chronic hepatitis C: A clinical perspective / J.L. Narciso-Schiavon, L.L. Schiavon // World Journal of Hepatology. – 2015. – Vol. 7 (8). – P. 1074-1085.
265. NF- $\kappa$ B-induced NOX1 activation promotes gastric tumorigenesis through the expansion of SOX2-positive epithelial cells / K. Echizen, K. Horiuchi, Y. Aoki // Oncogene. – 2019. – Vol. 38 (22). – P. 4250-4263.
266. Nod1 acts as an intracellular receptor to stimulate chemokine production and neutrophil recruitment in vivo / J. Masumoto, K. Yang, S. Varambally [et. al.] // Journal of Experimental Medicine. – 2006. – Vol. 203 (1). – P. 203-213.
267. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island / J. Viala, C. Chaput, I.G. Boneca [et al.] // Nature Immunology. – 2004. – Vol. 5 (11). – P. 1166-1174.
268. Nod1-mediated innate immune recognition of peptidoglycan contributes to the onset of adaptive immunity / J.H. Fritz, L. Le. Bourhis, G. Sellge [et al.] // Immunity. – 2007. – Vol. 26 (4). – P. 445-459.
269. Noncatalytic Antioxidant Role for *Helicobacter pylori* Urease / A.A. Schmalstig, S.L. Benoit, S.K. Misra [et al.] // Journal of Bacteriology. – 2018. – Vol. 200 (17). – P. e00124.
270. Noto, J. M. The *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island / J.M. Noto, R.M.P. Jr // Methods in Molecular Biology. – 2012. – Vol. 921. – P. 41-50.
271. Oldstone, M.B. Molecular mimicry: its evolution from concept to mechanism as a cause of autoimmune diseases / M.B. Oldstone // Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy. – 2014. – Vol. 33 (3). – P.158-165.

272. Ottemann, K.M. *Helicobacter pylori* uses motility for initial colonization and to attain robust infection / K.M. Ottemann, A.C. Lowenthal // *Infection and Immunity*. – 2002. – Vol. 70 (4). – P. 1984-1990.

273. Outer inflammatory protein a (OipA) of *Helicobacter pylori* is regulated by host cell contact and mediates CagA translocation and interleukin-8 response only in the presence of a functional cag pathogenicity island type IV secretion system / D.N. Horridge, A.A. Begley, J. Kim [et al.] // *Pathogens and Disease*. – 2017. – Vol. 75 (8). – P. 113.

274. Ouyang, W. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation / W. Ouyang, J.K. Kolls, Y. Zheng // *Immunity*. – 2008. – Vol. 28 (4). – P. 454-467.

275. Oxidative Stress Resulting from *Helicobacter pylori* Infection Contributes to Gastric Carcinogenesis / L.D. Butcher, G. Hartog, P.B. Ernst, S.E. Crowe // *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. – 2017. – Vol. 3 (3). – P. 316-322.

276. Pathogenesis and clinical management of *Helicobacter pylori* gastric infection / B.B. de Brito, F.A.F. da Silva, A.S. Soares [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2019. – Vol. 25 (37). – P. 5578-5589.

277. Pathogenic *Helicobacter pylori* strains translocate DNA and activate TLR9 via the cancer-associated cag type IV secretion system / M.G. Varga, C.L. Shaffer, J.C. Sierra [et al.] // *Oncogene*. – 2016. – Vol. 35 (48). – P. 6262-6269.

278. Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN- $\gamma$  or IL-10 and are regulated by IL-1 $\beta$  / C.E. Zielinski, F. Mele, D. Aschenbrenner [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 484 (7395). – P. 514-518.

279. Peripheral CD4<sup>+</sup> cell prevalence and pleuropulmonary manifestations in systemic lupus erythematosus patients / K.Vincze, Z. Kovats, A. Cseh [et al.] // *Respiratory Medicine*. – 2014. – Vol. 108 (5). – P. 766-774.

280. pH-regulated gene expression of the gastric pathogen *Helicobacter pylori* / D.S. Merrell, M.L. Goodrich, G. Otto [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2003. – Vol. 71 (6). – P. 3529-3539.

281. Pisetsky, D.S. New insights into the role of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus / D D.S. Pisetsky, P.E. Lipsky // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2020. – Vol. 16 (10). – P. 565-579.

282. Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity autoimmunity / B. J. Appelmek, I. Simoons-Smit, R. Negrini [et al.] // *Infection and Immunity*. – 1996. – Vol. 64 (6). – P. 2031-2040.

283. Prediction of extracellular proteases of the human pathogen *Helicobacter pylori* reveals proteolytic activity of the Hp1018/19 protein HtrA / M. Löwer, C. Weydig, D. Metzler [et al.] // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3 (10). – P. e3510.

284. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and risk of upper gastrointestinal ulcer in patients with rheumatoid arthritis in Japan / E. Tanaka, G. Singh, A. Saito [et al.] // *Modern Rheumatology*. – 2005. – Vol. 15 (5). – P. 340-345.

285. Production of autoantibodies by murine B-1a cells stimulated with *Helicobacter pylori* urease through toll-like receptor 2 signaling / F. Kobayashi, E. Watanabe, Y. Nakagawa [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2011. – Vol. 79 (12). – P. 4791-4801.

286. Properties of the HtrA Protease From Bacterium *Helicobacter pylori* Whose Activity Is Indispensable for Growth Under Stress Conditions / U. Zarzecka, A. Modrak-Wójcik, D. Figaj [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 961.

287. Raghwan. Host cell contact induces fur-dependent expression of virulence factors CagA and VacA in *Helicobacter pylori* / Raghwan, R. Chowdhury // *Helicobacter*. – 2014. – Vol. 19 (1). – P. 17-25.

288. Rai, R. Association of anti-phospholipid antibodies with connective tissue diseases / R. Rai, T. Swetha // *Indian Dermatology Online Journal*. – 2015. – Vol. 6 (2). – P. 89-91.

289. Rapid Characterization of Virulence Determinants in *Helicobacter pylori* Isolated from Non-Atrophic Gastritis Patients by Next-Generation Sequencing / F. Imkamp, F.N. Lauener, D. Pohl [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 8 (7). – P. 1030.

290. Relation between *Helicobacter pylori* infection, thyroid hormone levels and cardiovascular risk factors on blood donors / J.K. Triantafillidis, D. Georgakopoulos, A. Gikas [et al.] // Hepatogastroenterology. – 2003. – Vol. 50 (2). – P. cccxviii-cccxx.

291. Relationship between *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A protein with clinical outcomes in patients with rheumatoid arthritis / A. Ebrahimi, B. Soofizadeh, F. Ebrahimi [et al.] // Immunology Letters. – 2019. – Vol. 211. – P. 49- 52.

292. Remodeling of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide / A.X. Tran, C.M. Stead, M.S. Trent // Journal of Endotoxin Research. – 2005. – Vol. 11 (3). – P. 161-166.

293. Reshetnyak, V.I. *Helicobacter pylori*: Commensal, symbiont or pathogen? / V.I. Reshetnyak, A.I. Burmistrov, I.V. Maev // World Journal of Gastroenterology. – 2021. – Vol. 27 (7). – P. 545-560.

294. Response of gastric epithelial progenitors to *Helicobacter pylori* Isolates obtained from Swedish patients with chronic atrophic gastritis / M. Giannakis, H.K. Bäckhed, S.L. Chen [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2009. – Vol. 284 (44). – P. 30383-30394.

295. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative / D. Aletaha, T. Neogi, A.J. Silman [et al.] // Arthritis & Rheumatology. – 2010. – Vol. 62 (9). – P. 2569-2581.

296. Ricci, V. Relationship between VacA Toxin and Host Cell Autophagy in *Helicobacter pylori* Infection of the Human Stomach: A Few Answers, Many Questions / V. Ricci // Toxins (Basel). – 2016. – Vol. 8 (7). – P. 203.

297. Role of *Helicobacter pylori* surface structures in bacterial interaction with macrophages / M. Chmiela, E. Czekwianianc, T. Wadstrom, W. Rudnicka // Gut. – 1997. – Vol. 40 (11). – P. 20-24.

298. Role of interleukin-32 in *Helicobacter pylori* induced gastric inflammation / K. Sakitani, Y. Hirata, Y. Hayakawa [et al.] // Infection and Immunity. – 2012. – Vol. 80 (11). – P. 3795-3803.

299. Role of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in *Helicobacter pylori* infection / T. Yamamoto, M. Kita, T. Ohno [et al.] // Microbiology and Immunology. – 2004. – Vol. 48 (9). – P. 647-654.
300. Saad, S. The relation between *Helicobacter pylori* infection and the severity of rheumatoid arthritis / S. Saad, N. Rashad // Bahrain Medical Bulletin. – 2014. – Vol. 36 (4). – P. 1-6.
301. Sakkas, L.I. Infections as a cause of autoimmune rheumatic diseases / L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos // Autoimmunity Highlights. – 2016. – Vol. 7 (1). – P. 13.
302. Salama, N.R. Cell morphology as a virulence determinant: lessons from *Helicobacter pylori* / N.R. Salama // Current Opinion in Microbiology. – 2020. – Vol. 54. – P. 11-17.
303. Saxena, A. *Helicobacter pylori*: Perturbation and restoration of gut microbiome / A. Saxena, A.K. Mukhopadhyay, SP. Nandi // Journal of Biosciences. – 2020. – Vol. 45 (1). – P. 110.
304. Sene, D. Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and viral infections / D. Sene, J-C. Piette, P. Cacoub // La Revue de Médecine Interne. – 2009. – Vol. 30 (2). – P. 135-141.
305. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with connective tissue diseases / Y. Showji, R. Nozawa, K. Sato, H. Suzuki // Journal of Microbiology and Immunology. – 1996. – Vol. 40 (7). – P. 499-503.
306. Serum interleukin-23 level in rheumatoid arthritis patients: Relation to disease activity and severity / M.M. Alsheikh, A.M. El-Shafey, H.H. Gawish, E.T. El-Desoky // The Egyptian Rheumatologist. – 2019. – Vol. 41 (2). – P. 99-103.
307. Shamriz, O. Infections: a double-edge sword in autoimmunity / O. Shamriz, Y. Shoenfeld // Current Opinion in Rheumatology. – 2018. – Vol. 30 (4). – P. 365-372.
308. Shariaty, Z. Evaluating the Effects of *Helicobacter pylori* Eradication on Clinical Course of Rheumatoid Arthritis / Z. Shariaty, M.R Sheykhian, S. Dolatshahi // Razavi International Journal of Medicine. – 2015. – Vol. 3 (3). – P. 8-12.

309. Shiota, S. The significance of virulence factors in *Helicobacter pylori* / S. Shiota, R. Suzuki, Y. Yamaoka // Journal of Digestive Diseases. – 2013. – Vol. 14 (3). – P. 341-349.
310. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein / H. Higashi, R. Tsutsumi, S. Muto [et al.] // Science. – 2002. – Vol. 295 (5555). – P. 683-686.
311. Sichel, S.R. Distinct regions of *H. pylori*'s bactofilin CcmA regulate protein-protein interactions to control helical cell shape / S.R. Sichel, B.P. Bratton, N.R. Salama // Elife. – 2022. – Vol. 11. – P. e8011.
312. Sitep, R.R. Correlation between TNF-A and degree of gastritis / R.R. Sitep, D. Darmad, G.A. Sirega // Indonesian Journal of Gastroenterology, Hepatology, and Digestive Endoscopy. – 2018. – Vol. 19 (1). – P. 16-19.
313. Smith, S.M. Role of Toll-like receptors in *Helicobacter pylori* infection and immunity / S.M. Smith // World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology. – 2014. – Vol. 5 (3). – P. 133-146.
314. Soveid, M. Infection by Cag A positive strains of *Helicobacter pylori* is associated with autoimmune thyroid disease in Iranian patients / M. Soveid, K. H. Asl, G.R. Omrani // Iranian Journal of Immunology. – 2012. – Vol. 9 (1). – P. 48-52.
315. Sphingomyelin functions as a novel receptor for *Helicobacter pylori* VacA / V.R. Gupta, H.K. Patel, S.S. Kostolansky [et al.] // PLOS Pathogens. – 2008. – Vol. 4 (5). – P. e1000073.
316. Stasi, R. *Helicobacter pylori* and Chronic ITP / R. Stasi, D. Provan // Hematology-American Society of Hematology Education Program. – 2008. – P. 206-211.
317. Stefan, M. Genetics of Thyroid-Stimulating Hormone Receptor – Relevance for Autoimmune Thyroid Disease / M. Stefan, L.C. Faustino // Hematology-American Society of Hematology Education Program. – 2017. – Vol. 8. – P. 57.
318. Stingl, K. Acid survival of *Helicobacter pylori*: how does urease activity trigger cytoplasmic pH homeostasis? / K. Stingl, K. Altendorf, E.P. Bakker // Trends in Microbiology. – 2002. – Vol. 10 (2). – P. 70-74.

319. Structure of the *Helicobacter pylori* Cag type IV secretion system / J.M. Chung, M.J. Sheedlo, A.M. Campbell [et al.] // *Elife*. – 2019. – Vol. 8. – P. e47644.
320. Study of the effect of treatment of *Helicobacter pylori* on rheumatoid arthritis activity / A.E. El-Hewala, S.S. Khamis, S.G. Soliman [et al.] // *Menoufia Medical Journal*. – 2015. – Vol. 28 (2). – P. 319-324.
321. Subsets of regulatory T cells and their roles in allergy / H. Zhang, H. Kong, X. Zeng [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2014. – Vol. 12. – P. 125.
322. Suppression of cell division-associated genes by *Helicobacter pylori* attenuates proliferation of RAW264.7 monocytic macrophage cells / G.M. Tan, C.Y. Looi, K.C. Fernandez [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 11046.
323. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T-helper memory cells / E.V. Acosta-Rodriguez, L. Rivino, J. Geginat [et al.] // *Nature Immunology*. – 2007. – Vol. 8 (6). – P. 639-646.
324. Syndrome of increased epithelial permeability in clinical practice. Multidisciplinary National Consensus / V.I. Simanenkova, I.V. Maev, O.N. Tkacheva [et al.] // *Cardiovascular Therapy and Prevention*. – 2021. – Vol. 20 (1). – P. 2758.
325. T4SS-dependent TLR5 activation by *Helicobacter pylori* infection / S.K. Pachathundikandi, N. Tegtmeyer, I.C. Arnold [et al.] // *Helicobacter*. – 2019. – Vol. 10 (1). – P. 5717.
326. Tan, S. *Helicobacter pylori* usurps cell polarity to turn the cell surface into a replicative niche / S. Tan, L.S. Tompkins, M.R. Amieva // *PLOS Pathogens*. – 2009. – Vol. 5 (5). – P. e1000407.
327. Th1 and Th17 responses to *Helicobacter pylori* in Bangladeshi infants, children and adults / T.R. Bhuiyan, J. Adamsson, S.B. Lundin [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9 (4). – P. e93943.
328. The antiphospholipid syndrome: from pathophysiology to treatment / S. Negrini, F. Pappalardo, G. Murdaca [et al.] // *Clinical and Experimental Medicine*. – 2017. – Vol. 17 (3). – P. 257-267.

329. The association of *Helicobacter pylori* infection with Hashimoto's thyroiditis / R. Aghili, F. Jafarzadeh, R. Ghorbani [et al.] // *Acta Medica Iranica*. – 2013. – Vol. 51 (5). – P. 293-296.

330. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori* / J.F. Tomb, O. White, A.R. Kerlavage [et al.] // *Nature*. – 1997. – Vol. 388 (6642). – P. 539-547.

331. The correlation of Th22 and regulatory T cells with *Helicobacter pylori* infection in patients with chronic gastritis / B. Yao, X. Xu, W. Liu [et al.] // *Immunity, Inflammation and Disease*. – 2023. – Vol. 11 (1). – P. e768.

332. The *Helicobacter pylori* Type IV Secretion System Encoded by the cag Pathogenicity Island: Architecture, Function, and Signaling / S. Backert, R. Haas, M. Gerhard, M. Naumann // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. – 2017. – Vol. 413. – P. 187-220.

333. The *Helicobacter pylori* urease B subunit binds to CD74 on gastric epithelial cells and induces NF-kappaB activation and interleukin-8 production / E.J. Beswick, I.V. Pinchuk, K. Minch [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2006. – Vol. 74 (2). – P. 1148-1155.

334. The *Helicobacter pylori* virulence effector CagA abrogates human  $\beta$ -defensin 3 expression via inactivation of EGFR signaling / B. Bauer, E. Pang, C. Holland [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2012. – Vol. 11 (6). – P. 576-586.

335. The HopQ-CEACAM Interaction Controls CagA Translocation, Phosphorylation, and Phagocytosis of *Helicobacter pylori* in Neutrophils / I.K. Behrens, B. Busch, H. Ishikawa-Ankerhold [et al.] // *mBio*. – 2020. – Vol. 11 (1). – P. e03256-19

336. The infection by *Helicobacter pylori* strains expressing CagA is highly prevalent in women with autoimmune thyroid disorders / N. Figura, G.D. Cairano, F. Lorè [et al.] // *Journal of Physiology and Pharmacology*. – 1999. – Vol. 50 (5). – P. 817-826.

337. The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor / B. Satin, G. D. Giudice, V. D. Bianca [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2000. – Vol. 191 (9). – P. 1467-1476.

338. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* promotes Th1 immune responses / A. Amedei, A. Cappon, G. Codolo [et al.] // The European Journal of Clinical Investigation – 2006. – Vol. 116 (4). – P. 1092-1101.

339. The number of human peripheral blood CD4<sup>+</sup> CD25 high regulatory T cells increases with age / R. Gregg, C.M. Smith, F.J. Clark [et al.] // Clinical & Experimental Immunology. – 2005. – Vol. 140. – P. 540-546.

340. The relationship between cytotoxin-associated gene A positive *Helicobacter pylori* infection and autoimmune thyroid disease / M.S. Arslan, F. Ekiz, M. Deveci [et al.] // Endocrine Research. – 2015. – Vol. 40 (4). – P. 211- 214.

341. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) in Autoimmune Disease and current TNF- $\alpha$  Inhibitors in Therapeutics / D. Jang, A-H. Lee, H-Y. Shin [et al.] // International Journal Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22 (5). – P. 2719.

342. Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR5, but not TLR4, are required for *Helicobacter pylori*-induced NF-kappa B activation and chemokine expression by epithelial cells / M.F.J. Smith, A. Mitchell, G. Li [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2008. – Vol. 278 (35). – P. 32552-32560.

343. Toll-like receptor (TLR) 2 induced through TLR4 signaling initiated by *Helicobacter pylori* cooperatively amplifies iNOS induction in gastric epithelial cells / K. Uno, K. Kato, T. Atsumi [et al.] // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2007. – Vol. 293 (5). – P. G1004-1012.

344. Toll-like receptor 2 and 4 polymorphisms associated with *Helicobacter pylori* susceptibility and gastric cancer / T. Tongtawee, T. Simawaranon, W. Wattanawongdon [et al.] // Turkish Journal of Gastroenterology. – 2019. – Vol. 30 (1). – P. 15-20.

345. Toll-like receptor 2: An important immunomodulatory molecule during *Helicobacter pylori* infection / M. Nemati, T. Larussa, H. Khorramdelazad [et al.] // Life Sciences. – 2017. – Vol. 178. – P. 17-19.

346. Toll-like Receptor 5 Activation by the CagY Repeat Domains of *Helicobacter pylori* / N. Tegtmeyer, M. Neddermann, J. Lind [et al.] // Cell Reports. – 2020. – Vol. 32 (11). – P. 108159.

347. Toll-like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter pylori* infection in children / H. Lagunes-Servin, J. Torres, C. Maldonado-Bernal [et al.] // *Helicobacter*. – 2013. – Vol. 18 (6). – P. 423-432.
348. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion / S. Odenbreit, J. Püls, B. Sedlmaier [et al.] // *Science*. – 2000. – Vol. 287 (5457). – P. 1497-1500.
349. Transmembrane TNF- $\alpha$ : structure, function and interaction with anti-TNF agents / T. Horiuchi, H. Mitoma, S-I. Harashima [et al.] // *Rheumatology*. – 2021. – Vol. 22 (5). – P. 2719.
350. Tribbles 3: a novel regulator of TLR2-mediated signaling in response to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide / S.M. Smith, A.P. Moran, S.P. Duggan [et al.] // *Immunology*. – 2011. – Vol. 186 (4). – P. 2462-2471.
351. Trickett, A. T cell stimulation and expansion using anti-CD3/ CD28 beads / A. Trickett, Y.L. Kwan // *Immunobiology Methods*. – 2003. – Vol. 257 (1-2). – P. 251- 255.
352. Tshibangu-Kabamba, E. *Helicobacter pylori* infection and antibiotic resistance - from biology to clinical implications / E. Tshibangu-Kabamba, Y. Yamaoka Y // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2021. – Vol. 18 (9). – P. 613- 629.
353. Typing of *Helicobacter pylori* with monoclonal antibodies against Lewis antigens in lipopolysaccharide / I.M. Simoons-Smit, B.J. Appelmelk, T. Verboom [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1996. – Vol. 34 (9). – P. 2196-2200.
354. Unraveling the Hygiene Hypothesis of helminthes and autoimmunity: origins, pathophysiology, and clinical applications / M. Versini, P.Y. Jeandel, T. Bashi [et al.] // *BMC Medical*. – 2015. – Vol. 13. – P. 81.
355. Unveiling the Crucial Role of Type IV Secretion System and Motility of *Helicobacter pylori* in IL-1 $\beta$  Production via NLRP3 Inflammasome Activation in Neutrophils / A.R. Jang, M.J. Kang, J.I. Shin [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1121.

356. Up-Regulation of IL-17 Is Associated with Bioactive IL-8 Expression in *Helicobacter pylori*-Infected Human Gastric Mucosa / F. Luzzi, T. Parrello, G. Monteleone [et. al.] // Journal of Immunology. – 2000. Vol. 165 (9). – P. 5332-5337.
357. Van Vliet, A.H.M. NikR-mediated regulation of *Helicobacter pylori* acid adaptation / A.H.M. Van Vliet, F.D. Ernst, J.G. Kusters // Trends Microbiology. – 2004. – Vol. 12 (11). – P. 489-494.
358. Varga, M.G. DNA Transfer and Toll-like Receptor Modulation by *Helicobacter pylori* / M.G. Varga, R.M. Peek // Current Topics in Microbiology and Immunology. – 2017. – Vol. 400. – P. 169-193.
359. Vector-encoded *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein promotes maturation of dendritic cells with Th1 polarization and improved migration / M. Ramachandran, C. Jin, D. Yu [et al.] // Journal of Immunology. – 2014. – Vol. 193 (5). – P. 2287-2296.
360. Westwood, O.M.R. Rheumatoid factors: what's new? / O.M.R. Westwood, P.N. Nelson, F.C. Hay // Rheumatology (Oxford). – 2006. – Vol. 45 (4). – P. 379-385.
361. Ying, L. Role of NOD1 and ALPK1/TIFA Signalling in Innate Immunity Against *Helicobacter pylori* Infection / L. Ying, R.L. Ferrero // Current Topics in Microbiology and Immunology. – 2019. – Vol. 421. – P. 159-177.
362. Zaky, D.S.E. Role of interleukin-23 as a biomarker in rheumatoid arthritis patients and its correlation with disease activity / D.S.E. Zaky, E.M.A. El-Nahrery // International Immunopharmacology. – 2016. – Vol. 31. – P. 105-108.
363. Zarrilli, R. Molecular response of gastric epithelial cells to *Helicobacter pylori*-induced cell damage / R. Zarrilli, V. Ricci, M. Romano // Cellular Microbiology. – 1999. – Vol. 1 (2). – P. 93-99.
364. Zekry, O.A. The association between *Helicobacter pylori* infection, type 1 diabetes mellitus, and autoimmune thyroiditis / O.A. Zekry, H.A.A. Elwahid // Journal of The Egyptian Public Health Association. – 2013. – Vol. 88 (3). – P. 143-147.
365. Zheng, P.Y. *Helicobacter pylori* strains expressing the vacuolating cytotoxin interrupt phagosome maturation in macrophages by recruiting and retaining TACO

(coronin 1) protein / P.Y. Zheng, N.L. Jones // Cellular Microbiology. – 2003. – Vol. 5 (1). – P. 25-40.

366.  $\beta$ -Defensins in the Fight against *Helicobacter pylori* / R. Pero, L. Coretti, E. Nigro [et al.] // Molecules. – 2017. – Vol. 22 (3). – P. 424.