



Иммункорректирующие эффекты полипренилфосфата натрия при развитии иммунного ответа, вызванного белками CagA *Helicobacter pylori* в эксперименте

Николаева Т. Н., Козлов В. В., Григорьева Е. А., Кожевникова Т. Н., Санин А. В., Пронин А. В.

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия

Для цитирования: Николаева Т. Н., Козлов В. В., Григорьева Е. А., Кожевникова Т. Н., Санин А. В., Пронин А. В. Иммункорректирующие эффекты полипренилфосфата натрия при развитии иммунного ответа, вызванного белками CagA *Helicobacter pylori* в эксперименте. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;207(11): 183–190. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-183-190

✉ Для переписки:

Кожевникова

Татьяна

Николаевна

tatiana140663@

gmail.com

Николаева Татьяна Николаевна, вед. н.с., д.м.н., зав. лаб. естественного иммунитета

Козлов Вячеслав Владимирович, н.с. лаб., естественного иммунитета

Григорьева Екатерина Анатольевна, н.с., к.б.н., лаб. естественного иммунитета

Кожевникова Татьяна Николаевна, к.м.н., научный сотрудник лаб. клеточного иммунитета

Санин Александр Владимирович, д.б.н., профессор, зав. лаб. клеточного иммунитета

Пронин Александр Васильевич, заместитель директора по научной работе, д.б.н., профессор

Резюме

Бактерии *Helicobacter pylori* (HP) обладают широким спектром факторов патогенности. В геноме HP присутствуют гены группы CagA (cytotoxin-associated genes) — гены, ассоциированные с цитотоксином.

Инфицирование CagA⁺ штаммами HP сопровождается продукцией провоспалительных цитокинов, имеющих ключевое значение в поддержании и развитии деструктивно-воспалительных изменений в организме.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли белков CagA в регуляции иммунного ответа и оценка иммунокорректирующего эффекта полипренилфосфата (ППФ) у мышей.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на мышах самцах DBA весом 18–20 г.

Использованы генно-модифицированные родственные штаммы живых бактерий *E coli*, отличающиеся наличием островка генов, кодирующего синтез белков CagA HP. В качестве источника ППФ использован препарат Фоспренил.

Оценку субпопуляционного состава клеток селезенки проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител. Количественное определение IL 10, TGF-β выполняли иммуноферментным методом. Пролиферативную активность спленоцитов определяли стандартным методом по включению ³H-тимидина в ДНК клеток.

Результаты исследований свидетельствуют, что белки CagA HP вызывают поляризацию иммунного ответа по Th1-доминантному типу, что выражается в увеличении популяции CD4⁺ клеток, Т-клеток экспрессирующих CD25⁺, и CD25⁺ Foxp3⁺ и усилении пролиферативного потенциала иммунокомпетентных Т-лимфоцитов. Введение CagA⁺ бактерий сопровождается увеличением уровня TGF-β, продуцируемого активированными Treg клетками.

Введение ППФ приводило к нормализации содержания CD4 и CD8 Т-клеток, снижению популяций CD25⁺, Foxp3⁺, CD25⁺ Foxp3⁺ увеличению IL-10 в сыворотке.

Таким образом, ППФ оказывает корректирующее воздействие на клеточные иммунные реакции, препятствует выраженной поляризации Th1 иммунного ответа, снижает популяционную активацию Treg клеток. Полученные результаты свидетельствуют о возможном снижении провоспалительного иммунного ответа под воздействием ППФ.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, белки CagA, полипренилфосфат натрия, иммунный ответ, регуляторные Т-клетки, цитокины, мыши

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: OQOGCN



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-11-183-190>

Use of sodium polyphosphosphate to correct changes in the immune response caused by *Helicobacter pylori* CagA proteins in the experiment

T. N. Nikolaeva, V. V. Kozlov, E. A. Grigorieva, T. N. Kozhevnikova, A. V. Sanin, A. V. Pronin

Federal State Budgetary Institution "National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Gamaleya str.18, Russia

For citation: Nikolaeva T. N., Kozlov V. V., Grigorieva E. A., Kozhevnikova T. N., Sanin A. V., Pronin A. V. Use of sodium polyphosphosphate to correct changes in the immune response caused by *Helicobacter pylori* CagA proteins in the experiment. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;207(11): 183–190. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-183-190

✉ *Corresponding author:*

Tatiana N. Kozhevnikova
tatiana140663@gmail.com

Tatiana N. Nikolaeva, Doctor of Medical Sciences, Head. Laboratory of Natural Immunity; ORCID: 0000-0001-6226-7251
Vyacheslav V. Kozlov, research scientist, Lab. of Natural Immunity; ORCID: 0000-0002-0502-4824
Ekaterina A. Grigorieva, PhD (Biol), research scientist, Lab. of Natural Immunity; ORCID: 0000-0001-7811-3740
Tatiana N. Kozhevnikova, PhD (Med), research scientist, Laboratory of Cellular Immunity; ORCID: 0000-0003-0507-1935
Alexandr V. Sanin, D. Sci (Biol), professor, Head. Laboratory of Cellular Immunity; ORCID: 0000-0003-3091-5802
Alexandr V. Pronin, D. Sci (Biol), professor, Deputy Director for Science; ORCID: 0000-0001-5266-9783

Summary

Helicobacter pylori (HP) bacteria have a wide range of pathogenicity factors. The HP genome contains genes of the CagA group (cytotoxin-associated genes).

Infection with CagA-positive HP strains is associated with the production of pro-inflammatory cytokines, which are involved in the maintenance and development of destructive and inflammatory changes in the organism.

Here we studied the role of CagA proteins in the regulation of the immune response in DBA mice and evaluated the corrective effect of polyphosphosphate (PP) on this process.

Genetically modified strains of *E. coli* were used, differing by the presence of an island of genes encoding the synthesis of HP CagA proteins. The drug Phosphrenyl was used as a source of PP.

The subpopulation composition of spleen cells was evaluated by flow cytometry using monoclonal antibodies. The level of IL 10, TGF- β in blood serum was determined by the enzyme immunoassay. The proliferative activity of splenocytes was measured by the standard procedure based on the inclusion of ^3H -thymidine in the DNA.

CagA HP proteins caused the polarization of the immune response by the Th1-dominant type, which was expressed by an increase in the population of CD4⁺ cells, CD25⁺ and CD25⁺ Foxp3⁺ T cells and increase proliferation T- lymphocytes. Inoculation of CagA + bacteria was accompanied by a quantitative increase in TGF- β produced by activated Treg cells.

PP inoculation led to the normalization of the CD4 and CD8 T cells, a decrease in the populations of CD25⁺, Foxp3⁺, CD25⁺ Foxp3⁺ cells, and further increase in the IL-10 levels.

Thus, PP corrected cellular immune response, prevented the pronounced polarization of the Th1 immune response, and reduced the activation of Treg population.

The results obtained indicate a possible decrease in the pro-inflammatory immune response under the influence of PP.

Keywords: *Helicobacter pylori*, CagA proteins, sodium polyphosphosphate, immune response, regulatory T cells, cytokines, mice

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Бактерии *Helicobacter pylori* (*H. p.*) обладают широким спектром патогенетически значимых факторов патогенности, обеспечивающих выживание и длительную персистенцию возбудителя в агрессивной среде желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [1, 2].

В геноме *H. p.* присутствуют гены, ассоциированные с повышенной патогенностью - *vacA*, *cagA*, *iceA*, *babA* и расположенные на островке патогенности (pathogenicity island-PAI) области хромосомы. Среди них гены группы *cagA* (cytotoxin-associated genes-гены, ассоциированные с цитотоксином

cagA, *cagC*, *cagH*, *cagF*). Функциональная область патогенности CagA-островок (*cagPAI*), сегмент 40kb DNA, интегрирован в хромосому и кодирует продукцию *cagA* белка М.М.120–145-kDa [3, 4].

Позитивные по CagA штаммы *H. p.*, контактируя с эпителиальными клетками желудка, активируют множественные сигнальные пути, которые регулируют естественный и адаптивный иммунный ответ, повышают риск трансформации, в частности через увеличение периода колонизации, и ассоциируются с воспалением слизистой, развитием тяжелых

форм язвы желудка, метаплазии, гиперплазии эпителия и аденокарциномы желудка [5, 6, 7]. Показано, что *cagA* генотип усиливает провоспалительный ответ, пролиферацию клеток и оказывает антиапоптотический эффект *in vivo* и *in vitro*, индуцирует пролиферацию клеток хозяина [8, 9, 10, 11, 12].

Данные клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют, что инфицирование бактериями *H. p.*, имеющими в геноме *cagA*, сопряжено с повышением активации Th1 клеток, экспрессией и продукцией провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , INF- γ , IL-8, 17, 18, 21, имеющих ключевое значение в поддержании и развитии воспаления слизистой оболочки желудка и 12-ти перстной кишки [13, 14]. Развивающийся при этом иммунный ответ Th1 лимфоцитов и цитотоксических лимфоцитов приводит к дальнейшей деструкции эпителия слизистой оболочки, препятствуя элиминации возбудителя [9, 15, 16].

Модуляция иммунного ответа *H. p.* приводит к длительной персистенции микроорганизма. [10, 17]. В биоптатах слизистой желудка лиц с персистирующими *H. p.* отмечено обилие в *Lamina propria* T- и B- лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов, тучных и дендритных клеток. CD4+ T-клетки представлены более обильно, чем CD8+T-клетки.

Получены данные, указывающие, что персистенция *H. p.* сопровождается активацией Treg клеток [18]. Регуляторные CD4+/ CD25+ клетки, экспрессирующие Foxp3, присутствуют в большом количестве в слизистой желудка у *H. p.* позитивных больных, играют важную роль в регуляции иммунного ответа [19, 20]. Снижение модулирующего эффекта регуляторных лимфоцитов и активация популяции провоспалительных Th1 клеток сопровождается выраженными деструктивно-воспалительными изменениями слизистой желудка и 12-ти перстной кишки при сохранении инфицирования *H. p.* [21].

В связи с вышеизложенным актуален поиск путей иммунокоррекции естественного и адаптивного

иммунитета при хеликобактериозной патологии. В настоящее время используются фармпрепараты, биологически активные добавки и немедикаментозные способы лечения. Проводятся исследования по созданию вакцинных препаратов, состоящих из очищенных или рекомбинантных антигенных компонентов *H. p.*, рекомбинантных пробиотиков экспрессирующих антигены *H. p.* [14, 22, 23].

В настоящем исследовании с целью коррекции клеточного иммунного ответа при введении генетически модифицированных бактерий, продуцирующих *cagA* белки *H. p.*, использован полипренилфосфат натрия (ППФ). Полипренолы и их фосфаты относятся к полиизопреноидам, являются интегральными компонентами мембран всех живых клеток и выполняют при биосинтезе гликопротеинов функцию промежуточных акцепторов сахаров (в частности маннозы) [24]. В организме эти соединения оказывают иммуномодулирующее и противовоспалительное действие [25, 26, 27].

Препарат Фоспренил (ФП) (ЗАО «Микро-плюс», Россия) растительного происхождения, относится к фосфорилированным полиизопреноидам: (полипренилфосфат натрия- (ППФ)). Показано, что препарат образует нейтральные комплексы с содержащими маннозу N-гликанами в составе некоторых гликопротеинов (CD-25, гаммаглобулин, овальбумин), способен подавлять взаимодействие IL-2 с CD-25 [28]. Фоспренил, подобно пробиотически активным *Lactobacterium plantarum*, являясь корпускулярным лигандом маннозосодержащих N-гликанов, способен различать маннозосодержащие сайты слизистой желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и конкурировать за связь с ними с индигенной флорой, обладает одновременно свойствами лектина и пробиотика [29, 30].

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования являлось изучение роли белков *CagA* в регуляции иммунного ответа и оценка иммунокорригирующего эффекта полипренилфосфата у экспериментальных животных.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на мышах DBA (самцы весом 18–20 г), полученных из Центрального питомника лабораторных животных «Андреевка». Животных содержали при свободном доступе к воде и корму. Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативным документам. Все процедуры по рутинному уходу за животными выполнялись в соответствии с приказом № 199н от 01.04.2016. Минздрава России «Об утверждении Правил лабораторной практики».

В работе использованы генно-модифицированные родственные штаммы живых бактерий *E. coli* BL21p119(*CagA*⁺) и *E. coli* BL21pET-28c (*CagA*⁻), отличающиеся наличием островка генов, кодирующего синтез белков *CagA H. pylori* (Штаммы предоставлены из коллекции лаборатории молекулярных основ патогенности НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи МЗ РФ руководителем лаборатории д.м.н. Ю. Ф. Белым).

Живые бактерии в количестве 5×10⁹–5×10⁸ КОЕ / 0,5 мл вводили мышам интрагастрально через

металлический зонд. За 3 часа до заражения внутрибрюшинно вводили препарат Фоспренил (полипренилфосфат натрия-ППФ) по 0,4 мл 0,4% раствора. Контрольная группа мышей получала стандартный полусинтетический корм и воду.

Суспензию клеток селезенки готовили в питательной среде RPMI 1640(ФГБУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова АН) дополненной 10% ЭТС (“РАА Laboratories”), 2 мМ глутамина(ПанЭко), 10мМ буфера Hepes (ПанЭко), 40 мкг/мл гентамицина. Клетки отмывали (800 об/мин, 10 минут при 4° С). Подсчет жизнеспособных клеток проводили в растворе трипановой синьки.

Для оценки субпопуляционного состава клетки селезенки мышей метили конъюгатом моноклональных антител с флюоресцентными красителями Anti-Mouse CD4-APC, CD8-PE (eBioscience). Для оценки экспрессии транскрипционного фактора Foxp3 клетки селезенки мышей метили конъюгатом моноклональных антител с флюоресцентными

красителями Anti-Mouse CD4-FITC, Anti-Mouse CD25-APC и Anti-Mouse Foxp3-PE в соответствии с инструкцией производителя (eBioscience Mouse Regulatory T Cell Staining Kit). Анализ клеток проводили на проточном цитофлюориметре FACS Canto II (BD). Обработку данных осуществляли в программе FACS Diva 6.1.3 (BD). Рассчитывали средние значения экспрессии CD25 и транскрипционного фактора Foxp3 в CD4 T-клетках селезенки мышей в группе.

Продукцию цитокинов IL-10, TGF-β в сыворотке крови у контрольных и опытных мышей определяли количественным иммуоферментным методом с использованием специфических моноклональных антител (R&D Systems, США).

Пролиферацию лимфоцитов оценивали в реакции бласттрансформации в присутствии T-митогена

конканавалина А (Кон А) в конечной концентрации 4,0 мкг/мл (Sigma, США) и B-митогена липополисахарида *E. coli* (ЛПС) в дозе 200 мкг/мл (Sigma, США) по включению ³H-тимидина с удельной активностью 1 Ки/мМ в ДНК клеток. Подсчет радиоактивности осуществляли на сцинтилляционном счетчике MicroBeta2 (Parkin Elmer) в течение 1 мин.

Исследования проводили на 1-и 4-е сутки после интрагастрального введения живых бактерий и внутрибрюшинного введения препарата Фоспренил 0,4 мл 0,4%. Эксперименты проводили в 2–3 повторах, в каждой группе по 5–7 мышей.

При математической обработке результатов (*M±m*) достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента (*p*≤0,05).

Результаты и обсуждение

Анализ экспрессии поверхностных антигенов на лимфоцитах селезенки показывает, что в группе мышей с интрагастральным введением *Sag*+ бактерий на 1-е сутки наблюдаются тенденции к увеличению популяции CD4, снижению CD8 T-клеток по сравнению с контрольной группой. При этом отношение количества клеток CD4 к CD8 имеет тенденцию к увеличению (Рис. 1).

Показано, что при введении ППФ мышам, инфицированным *SagA*⁺ бактериями в этот период имеет место увеличение содержания CD4⁺ и снижение

CD8⁺ клеток по сравнению с группой без введения ППФ (*P*≤0,05).

На 4-е сутки исследования в группе с введением штамма *Sag*+ отмечено снижение популяции CD4 (*P*≤0,05) и, в меньшей степени CD8 T-клеток, относительно контрольной группы (Рис. 2).

Введение ППФ приводило к нормализации содержания CD4 и CD8 T-клеток, показатели которых соответствовали данным интактной группы мышей.

Результаты анализа регуляторных T-клеток селезенки на 1 сутки в группе мышей с введением

Рисунок 1.

Субпопуляционный состав клеток селезенки мышей на 1-е сутки.

Примечание:

Показаны средние значения в группе +/- стандартное отклонение.

* достоверные различия (*P*<0,05)

Figure 1.

Subpopulation composition of spleen cells of mice on the 1st day

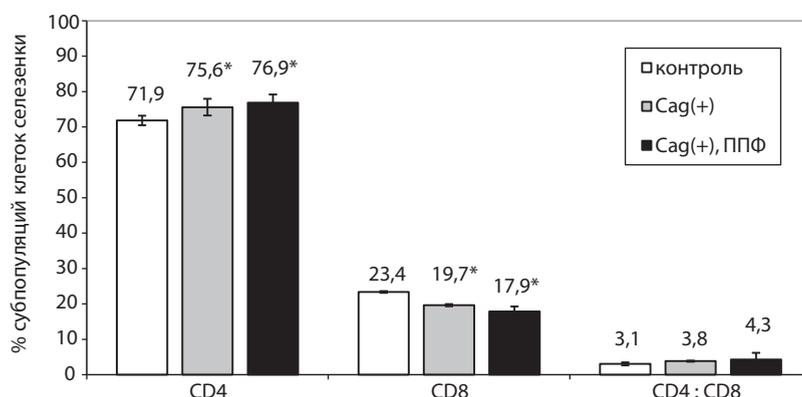


Рисунок 2.

Субпопуляционный состав клеток селезенки мышей на 4-е сутки.

Примечание:

Показаны средние значения в группе +/- станд. отклонение.

* достоверные различия (*P*<0,05)

Figure 2.

Subpopulation composition of spleen cells of mice on the 4 day

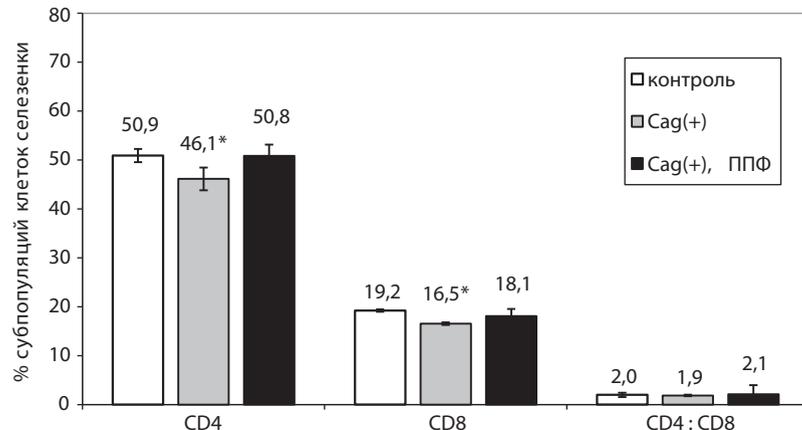


Рисунок 3. Уровень CD25 и транскрипционного фактора Foxp3 в CD4 T-клетках селезенки мышей на 1 сутки.

Примечание: Показаны средние значения в группе +/- станд. отклонение.

* достоверные различия (P<0,05)

Figure 3.

Level of CD25 and Foxp3 transcription factor in CD4 T cells of spleens of mice on day 1.

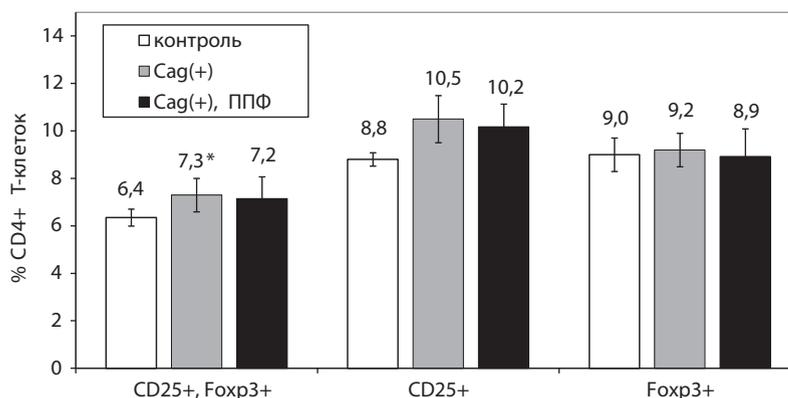


Рисунок 4.

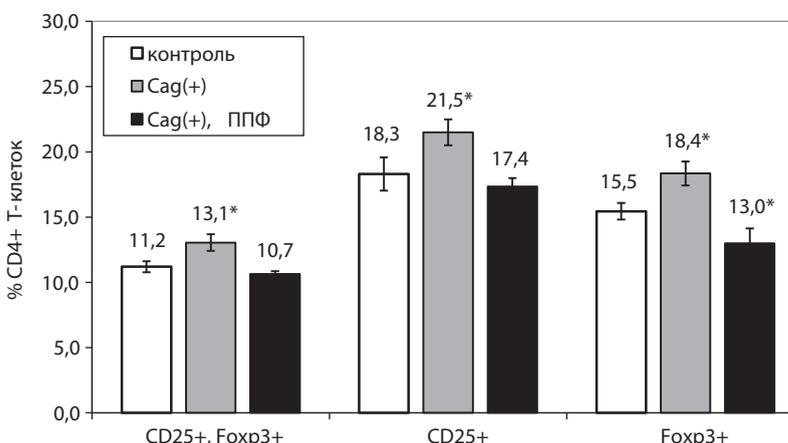
Уровень CD25 и транскрипционного фактора Foxp3 в CD4 T-клетках селезенки мышей на 4 сутки.

Примечание: Показаны средние значения в группе +/- станд. отклонение.

* достоверные различия (P<0,05)

Figure 4.

Level of CD25 and Foxp3 transcription factor in CD4 T cells of spleens of mice on day 4.



мутантного штамма *E. coli* BL21p119, продуцирующего белки CagA, свидетельствуют об увеличении CD25⁺ T-клеток (P≤0,05). Внутривнутришнее введение ППФ не оказывает в этот период существенного влияния на количественный состав T reg по сравнению с ранее описанной группой (Pис. 3).

На 4-е сутки после заражения Cag⁺ штаммом отмечен рост количества T-клеток экспрессирующих CD25⁺ (P≤0,05), и CD25⁺ Foxp3⁺ (P≤0,05), относительно контрольной группы, что свидетельствует об активации T reg клеток. При введении ППФ мышам данной группы наблюдается снижение клеток экспрессирующих CD25⁺, Foxp3⁺, а также CD25⁺ Foxp3⁺ в CD4 T-клетках селезенки. (P≤0,05) (Pис. 4).

Определение интерлейкина IL-10 при введении CagA⁺ бактерий не выявило увеличения его в сыворотке мышей на 1- и 4-е сутки по сравнению с контролем. (P>0,05) (Таблица 1).

Внутрибрюшинное введение ППФ мышам данной группы сопровождалось количественным увеличением IL-10 в сыворотке на 4-е сутки по сравнению с группой без введения ППФ и контролем. (P<0,05) (Таблица 1).

Максимальные количественные показатели TGF-β в сыворотке крови мышей, зараженных бактериями, продуцирующими cagA белки, отмечены на 4-е сутки. При введении ППФ наблюдается тенденция к снижению показателей TGF-β в сыворотке крови по сравнению с его уровнем в группе без введения ППФ (Таблица 3).

Исследования функциональной активности иммунокомпетентных спленоцитов мышей, зараженных интрагастрально генно-модифицированными родственными штаммами живых бактерий *E. coli* BL21p119(CagA⁺) и *E. coli* BL21pET-28c (CagA⁻) показало, что на 1-е сутки CagA⁺ в отличие от CagA⁻, вызывает пролиферативный ответ преимущественно T-клеток в присутствии КонА по сравнению в контрольной группой (P<0,05) (Табл. 2).

Аналогичная тенденция показана 4-е сутки, при этом показатели пролиферативной активности спленоцитов при введении CagA⁺ в большей степени превышают показатели контрольной группы по сравнению с предыдущим периодом наблюдения. Введение ППФ мышам данной группы снижало пролиферативный потенциал иммунокомпетентных T-клеток на 1-е и 4-е сутки и сопровождалось увеличением активности иммунокомпетентных В-клеток на 1-е сутки наблюдения (Таблица 2).

Введение живых бактерий Cag⁻ не влияло существенным образом на показатели пролиферативной активности спленоцитов (Таблица 2).

Таким образом в результате проведенных экспериментов получены данные о влиянии продукции белка CagA *H. p.* на динамику развития естественного и адаптивного иммунного ответа экспериментальных животных. Показано, что белки CagA *H. p.* вызывают поляризацию иммунного ответа по Th1-доминантному типу, что выражается в увеличении популяции CD4⁺клеток, T-клеток экспрессирующих CD25⁺, и CD25⁺ Foxp3⁺,

Таблица 1. Интерлейкины IL-10 и TGF-β в сыворотке и супернатантах спленоцитов.
Обозначения: * достоверные различия по сравнению с контролем, (p≤0,05).
Table 1. Interleukins IL-10 and TGF-β in serum and supernatants of splenocytes.

Интерлейкины	Группа	Сутки наблюдения	Сыворотка (pg/ml)
ИЛ10	Контроль	-	80,67±17,5
		1-e	82,5±15,4
	Cag+	4-e	71,5±12,6
		1-e	86,63±14,1
	ППФ+ Cag+	4-e	193,1±30,7* ↑
		1-e	106016±20021
TGF-β	Контроль	-	109697±15413
		1-e	106016±20021
	Cag+	4-e	148242,5±11200* ↑
		1-e	91206±16828
	ППФ+ Cag+	4-e	130395±26268* ↑
		1-e	106016±20021

Таблица 2. Пролиферация спленоцитов на 1-е и 4-е сутки (в%)
Обозначения: * достоверные различия по сравнению с контролем, (p≤0,05).
Table 2. Proliferation of splenocytes on the 1 and 4 day (%)

Группа	Сутки	Кона	ЛПС	Без антигена
Контроль	1-e	100,0±3,3	100,0±14,3	100,0±11,9
	4-e	100,0 ±7,2	100,0±12,2	100,0±23,1
Cag A+	1-e	135,9±3,1*↑	113,3± 8,1	193,0±17,6*↑
	4-e	159,7±3,5*↑	154,0± 5,7*↑	149,4±12,4*↑
Cag A-	1-e	102,0±7,3	129,2±14,4	187,6±16,9*↑
	4-e	105,8±10,2	120,8±12,6	119,2±11,2
CagA+ ППФ	1-e	104,2±4,7	166,5±12,7*↑	98,9± 9,5
	4-e	75,6±14,7*/**↓	120,8±4,2	53,6±18,6*↓

что свидетельствует об активации T reg клеток, усилении пролиферативного потенциала иммунокомпетентных T- спленоцитов. Определение интерлейкинов IL-10 и TGF-β, продуцируемых Treg клетками, выявило их количественное увеличение в сыворотке мышей при введении CagA+ бактерий.

Наблюдаемое увеличение Treg клеток и продукции ИЛ10 и TGF-β1, продуцируемых активированными клетками при введении CagA+ бактерий модулируют Th1 ответ, способствуют персистенции возбудителя. Полученные данные согласуются с таковыми полученными у инфицированных *H. p.* большими и свидетельствующими, что Treg (CD25+Fox3+) регулируют кишечное воспаление и колонизацию *H. p. in vivo* [20, 31, 32].

ИЛ10 являясь иммунорегуляторным цитокином, способен снижать адаптивный иммунный ответ на инфекцию и ограничивать воспалительный ответ эпителиальных клеток, взаимодействуя с NF-κB сигнальным путем, который в последующем ведет к снижению секреции ИЛ-8 после стимуляции *H. p.* [20, 33, 34].

Различные изоформы TGF стимулируют дифференцировку T-клеток в направлении Th1 и развитие покоящихся наивных CD4 T-клеток CD4+ в CD25+ FoxP3+ регуляторные T-клетки. [35]. При умеренных уровнях инфекции TGFβ обуславливает персистенцию *H. p.* и возможность хронизации с возникновением условий для карциногенеза [32].

Изучение клеточного инфильтрата в слизистой оболочке желудка инфицированных, а также больных аденокарциномой желудка выявило повышенное количество CD4+ CD25+ Treg –клеток, продуцирующих TGFβ, свидетельствуя о локальной

супрессии, что в свою очередь способствует персистенции патогена [19].

Введение ППФ приводило к нормализации содержания общего количества CD4 и CD8 T-клеток, снижению Treg экспрессирующих CD25+, Foxp3+, CD25+ FoxP3+ в спленоцитах и сопровождалось количественным увеличением IL- 10 в сыворотке. Отмечено снижение пролиферативного потенциала иммунокомпетентных T-клеток и увеличением функциональной активности B-лимфоцитов мышей, инфицированных CagA+ мутантом по сравнению с группами без введения ППФ.

Исследования, проведенные ранее, свидетельствуют, что ФП лигирует α-цепь (CD25) высокоаффинного rИЛ-2, имеющую маннозосодержащие N-гликаны и конкурирует с ИЛ-2 за связь с ним. На том же основании фоспренил блокирует CD25, конститутивно экспрессированный на T-регуляторных клетках (Treg)-супрессорах. В первом случае процесс реализуется только после активации Th-клеток, а во-втором он возможен постоянно, так как экспрессия CD25 является непрерывным условием сосуществования популяции T-регуляторных клеток-носителей иммуносупрессорных функций. ФП тормозит реализацию этой функции T-регуляторных клеток и усиливает иммунный ответ [28, 29, 30].

Таким образом, ППФ оказывает корректирующее воздействие на клеточные иммунные реакции, препятствует выраженной поляризации Th1 иммунного ответа, снижает активацию Treg клеток. Полученные результаты свидетельствуют о возможном снижении провоспалительного иммунного ответа под воздействием препарата.

Литература | References

- Shiota S., Suzuki R., Yamaoka Y. The significance of virulence factors in *Helicobacter pylori*. *J. of digestive diseases*. 2013; 14(3):341–349. doi: 10.1111/1751–2980.12054.
- Novikov V. V., Lapin V. A., Melent'ev D. A., Mokhonova E. V. Features of the human immune response to *Helicobacter pylori* infection. *MediAl*. 2019;2(24):55–69. doi: 10.21145/2225–0026–2019–2–55–69.
Новиков В., В., Лапин В. А., Мелентьев Д. А., Мохонова Е. В. Особенности иммунного ответа человека на инфицирование *Helicobacter pylori*. *МедиАль*. 2019;2(24):55–69. doi: 10.21145/2225–0026–2019–2–55–69.
- Higashi H., Tsutsumi R., Fugita A., Yamazaki S., Asaka M., Azuma T., Hatakeyama M. Biological activity of *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *PNAS*. 2002; 99(22): 14428–14433. doi: 10.1073/pnas.222375399
- Dadashzadeh K., Milani M., Sorni M. H. The prevalence of *Helicobacter pylori* cag A, and iceA genotype and possible clinical outcomes. *Acta Medica Mediterranea*. 2015; 31(7):1345–1349.
- Zambon C.-F. *Helicobacter pylori* babA2, cagA, and s1 vacA genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. *J. Clin. Pathol.* 2003;56:287–291. doi: 10.1136/jcp.56.4.28.
- Peek R.M., Fiske C., Wilson K. T. Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiol. rev.* 2010;90:831–858. doi: 10.1152/physrev.00039.2009.
- Wroblewski L.E., Peek P. M., Wilson K. T. *Helicobacter pylori* and gastric cancer factors that modulate disease risk. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010;23(4): 713–739. doi: 10.1128/CMR.00011–10.
- Shibata A., Parsonnet J., Longacre T. A., Garcia M. I., Puligandla B., Davis R. E., Vogelstein J. H., Orentreich N., Habel L. A. CagA status of *Helicobacter pylori* infection and p53 gene mutation in gastric adenocarcinoma. *Carcinogenesis*. 2002;23:419–424. doi: 10.1093/carcin/23.3.419.
- Lundgren A., Suri-Payer E., Enarsson K., Svennerholm A.-M., Lundin B. S. *Helicobacter pylori*-specific CD4⁺high regulatory cells suppress memory T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals. *Infect. Immun.* 2003;71(4):1765–1762. doi:10.1128/IAI.71.4.1755–1762.2003.
- Muller A., Oertli M. C., Arnold I. H. *pylori* exploits and manipulates innate and adaptive immune cell signaling pathways to establish persistent infection. *Cell Communication and Signaling*. 2011;9(25):2–9.
- Ferreira R. M., Pinto-Ribeiro I., Wen X., Marcos-Pinto R., Dinis-Ribeiro M., Carneiro F., Figueiredo C. *Helicobacter pylori* cagA Promoter Region Sequences Influence CagA Expression and Interleukin 8 Secretion. *J. Infect. Dis.* 2015;213:669–673. doi: 10.1093/infdis/jiv467.
- Lang B.J., Gorrell R. J., Tafreshi M., Hatakeyama M., Kwok T., Price J. T. The *Helicobacter pylori* cytotoxin CagA is essential for suppressing host heat shock protein expression. *Cell Stress Chaperones*. 2016;21:523–533. doi: 10.1007/s12192–016–0680-x.
- Chernutskaya S. P., Gervazieva V. B. The role of the immune system in the persistence of *Helicobacter pylori*. *Infectious diseases*. 2008;6 (2):69–77. (in Russ.)
Чернуцкая С. П., Гervазиева В. Б. Роль иммунной системы в персистенции *Helicobacter pylori*. *Инфекционные болезни*. 2008;6 (2):69–77.
- Uspensky Yu. P., Gorbacheva I. A., Suvorov A. N., Galagudzya M. M., Baryshnikova N. V., Bogdanova S. A. Immunological changes in *Helicobacter pylori* invasion. Vaccine development prospects. *Translational medicine*. 2018;5(6)31–40. (in Russ.) doi: 10.18705/2311–4495–2018–5–6–31–40.
Успенский Ю. П., Горбачева И. А., Суворов А. Н., Галагудзя М. М., Барышников Н. В., Богданова С. А. Иммунологические изменения при инвазии *Helicobacter pylori* перспективы создания вакцин. *Трансляционная медицина*. 2018;5(6)31–40. doi: 10.18705/2311–4495–2018–5–6–31–40.
- Dubtsova E. A. Some immunological aspects of ulceration. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2002; 4:9–14. (in Russ.)
Дубцова Е. А. Некоторые иммунологические аспекты язвообразования. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2002; 4:9–14.
- Bagneri N., Salimzadeh L., Shizad H. The role of T helper 1-cell response in *Helicobacter pylori* infection. *Microbial pathogenesis*. 2018;123:1–8. doi: 10.1016/j.micpath.2018.06.033.
- Lerner A., Arleevskaya M., et al. Microbes and virus are bugging the gat in celiac disease. Are they friends or foes? *Front Microbiol*. 2017; 8:1382. doi: 10.3389/fmicb.2017.01392.
- Jang T. J. The number of Foxp3-positive regulatory T cells is increased in *Helicobacter pylori* gastritis and gastric cancer. *Pathol. Res. pract.* 2010; 206:34–38. doi: 10.1016/j.prp.2009.07.019.
- Lundgren A., Stromberg E., Sjoling A. Mucosal FOXP3-expressing CD4⁺ CD25⁺ high regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Infect and Immun.* 2005;73:523–531 doi: 10.1128/IAI.73.9.5612–5619.2005.
- Izcue A., Coombes J. L., Powrie F. Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation. *Immunol. Rev.* 2006; 212:256–271. doi: 10.1111/j.0105–2896.2006.00423.x.
- Cardoso C. R., Teixeira G., Provinciatio P. R. Modulation of mucosal immunity in a murine model of food-induced intestinal inflammation. *Clinic Exp. Allergy*. 2008;38(2):338–349. doi: 10.1111/j.1365–2222.2007.02866.x.
- Anderl F, Gerhard M., *Helicobacter pylori* vaccination: is there a path to protection? *J. Gastroenterol.* 2014; 20(34): 11939–11949. doi: 10.3748/wjg.v20.i34.11939.
- Sutton P., Boag J. M. Status of vaccine research and development for *Helicobacter pylori*. *Vaccine*. 2019 Nov 28;37(50):7295–7299. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.01.001.
- Chojnacki T., Dallner G. The biological role of dolichol. *Biochem J*. 1988; 251(1): 1–9. doi: 10.1042/bj2510001.
- Pronin A. V., Grigorieva E. A., Sanin A. V., Narovlyansky A. N., et al. Polyphenols as possible factors that determine an instructive role of the innate immunity in the acquired immune response. *Russian J. Immunol.* 2002; 7 (2): 136–141. (in Russ.)
- Sanin A. V., Ganshina I. V., Sudyina G. F., et al. Phosphorylated polyphenols – a new class of compounds with anti-inflammatory and bronchodilator activity. *Infection and immunity*. 2011;1(4): 355–360. (in Russ.)

- Санин А. В., Ганшина И. В., Судьина Г. Ф., Санина В. Ю., Кожевникова Т. Н., Пронин А. В., Наровлянский А. Н., Суханова С. А., Проскура О. В., Митрохин Н. М.. Фосфорилированные полипренолы – новый класс соединений с противовоспалительной и бронхолитической активностью. *Инфекция и иммунитет*. 2011;1(4): 355–360.
27. Syrov V. N., Weiss E. V., Egamova F. R., et al. Antiulcer activity of polyprenols isolated from cotton leaves. *Chemical and Pharmaceutical Journal*. 2012;46(3):34–38. (in Russ.)
- Сыров В. Н., Вайс Е. В., Эгамова Ф. Р., и др. Противоязвенная активность полипренолов, выделенных из листьев хлопчатника. *Химико-фармацевтический Журнал*. 2012;46(3):34–38.
28. Sobolev S. M., Nikolaeva T. N., Grigorieva E. A., Pronin A. V. Sodium polyprenyl phosphate (phosprenyl) in the mechanism of interleukin-2-dependent recovery of delayed-type hypersensitivity inhibited in vitro. *Medical Immunology*. 2012;14(4–5):399–402. (in Russ.)
- Соболев С. М., Николаева Т. Н., Григорьева Е. А., Пронин А. В. Полипренилфосфат натрия (фоспренил) в механизме зависимого от интерлейкина-2 восстановления ингибированной in vitro гиперчувствительности замедленного типа. *Медицинск. Иммунол.* 2012;14(4–5):399–402.
29. Sobolev S. M., Nikolaeva T. N., Grigorieva E. A., Pronin A. V. The role of lectin-substrate recognition in the immunoregulatory interaction of interleukin-2 and Ig G. *Medical Immunology*. 2010;12(1–2):13–20. (in Russ.)
- Соболев С. М., Николаева Т. Н., Григорьева Е. А., Пронин А. В. Роль лектин-субстратного распознавания в иммунорегуляторном взаимодействии интерлейкина-2 и Ig G. *Медицинская иммунология*. 2010;12(1–2):13–20.
30. Sobolev S. M., Nikolaeva T. N., Grigorieva E. A., Pronin A. V. Lactobacillus plantarum and the immunomodulator fosprenil competitively distinguish oligomannosis from N-glycan ovalbumin. *J. microbiol.* 2011; 6:42–46. (in Russ.)
- Соболев С. М., Николаева Т. Н., Григорьева Е. А., Пронин А. В. Lactobacillus plantarum и иммуномодулятор фоспренил конкурентно различают олигоманнозу из N-гликан овальбумина. *Ж. микробиол.* 2011; 6:42–46.
31. Kandulski A., Malefertheiner P., Wex T. Role of regulatory T-cells in *H. pylori*-induced gastritis and gastric cancer. *Anticancer research*. 2010 Apr;30(4):1093–103. PMID: 20530414.
32. Beswick E. J., Pinchuk V., Earley R. B., Schmitt D., A., Reyes V. E. Role of gastric e. Piteal cell-derived transforming growth factor β in reduced CD4+ T cell proliferation and development of regulatory T cells during *Helicobacter pylori* infection. *Infect.Immun.* 2011; 79(7):2737–2745. doi: 10.1128/IAI.01146–10.
33. Stromberg E., Edebo A., Lundin B. S., Bergin P., Brisslert M., Svennerholm A. M., Lindholm C Downregulation of epithelial IL-8 responses in *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients depends on host factors, rather than bacterial factors. *Clin.exp. Immunol.* 2005;140:117–125. doi: 10.1111/j.1365–2249.2005.02736.x.
34. Robinson K., Kenefect R., Pidgeon E. L., et al. *Helicobacter pylori* induced peptic ulcer disease in associated with inadequate regulatory T- cell responses. *Gut*. 2008;37: 1375–1385. doi: 10.1136/gut.2007.137539.
35. Bagheri N., Shirzad H., Elahi S., et al. Downregulated regulatory T cell function is associated with increased peptic ulcer in *Helicobacter pylori*-infection. *Microb Pathog.* 2017 Sep;110:165–175. doi: 10.1016/j.micpath.2017.06.040.