

МИМИКРИЯ АНТИГЕНОВ *HELICOBACTER PYLORI* И H^+/K^+ -АТФАЗЫ ЖЕЛУДКА КАК ПРИЧИНА РАЗВИТИЯ АУТОИММУННОГО ГАСТРИТА

В. А. Максимук

blydislove@gmail.com;

Научный руководитель – М. А. Капустин, заведующий учебной лабораторией

Инфекции, вызываемые *H. pylori*, считаются серьезной проблемой, наносящей ущерб общественному здоровью как в развитых, так и в развивающихся странах. *Helicobacter pylori* колонизирует слизистую оболочку желудка примерно у 50% людей в мире, бактерия в слаборазвитых странах поражает более 70% населения [11]. Целью данного исследования является изучение роли *Helicobacter pylori* в развитии аутоиммунного гастрита, который приводит к атрофии слизистой оболочки желудка.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*; аутоиммунный гастрит; атрофия слизистой оболочки; париетальные клетки; молекулярная мимикрия; $CD4^+$ Т-клетки.

Аутоиммунный гастрит (АИГ) является хроническим воспалительным заболеванием желудка, которое в конечном итоге приводит к атрофии слизистой оболочки. Этот вид заболевания может иметь различную этиологию: собственно, АИГ, осложнения инфекции *Helicobacter pylori*, идиопатическую.

В случае АИГ поражаются в основном клетки дна и тела желудка, в отличие от хронического гастрита, который влияет на всю область желудка. Это исследование позволяет лучше понять механизмы развития АИГ и может привести к улучшению качества диагностики и лечения данного заболевания.

Характерная симптоматика АИГ связана с тем, что аутоиммунная реакция нацелена на париетальные клетки. Париетальные клетки – это эпителиальные клетки, расположенные в железах тела и дна желудка, но не в антральном отделе, и продуцирующие соляную кислоту и внутренний фактор Кастла. Подкислением желудка в первую очередь управляет желудочная H^+/K^+ АТФ-аза, протонный насос, который является возбудителем аутоантигена и который распознается $CD4^+$ Т-клетками [5]. Хроническое воспаление приводит к атрофии слизистой оболочки с уменьшением и окончательной полной потерей париетальных клеток во время прогрессирования заболевания. Это приводит к повышению рН желудка и потере внутреннего фактора, который вырабатывается париетальными клетками. Внутренний фактор необходим для усвоения витамина B_{12} , а его дефицит является известным следствием АИГ [1].

Важно отметить, что микробная инфекция, которая инициирует аутоиммунный феномен, может отсутствовать к моменту развития явного заболевания [3].

Мало что известно о роли агентов окружающей среды в развитии аутоиммунных заболеваний. Молекулярная мимикрия является одним из ведущих механизмов, с помощью которых инфекционные или химические агенты могут индуцировать аутоиммунитет. Это происходит, когда сходство между чужеродными и собственными пептидами способствует активации аутореактивных Т- или В-клеток чужеродным антигеном у восприимчивого индивидуума.

Генетика хозяина, воздействие микробиоты и химических веществ окружающей среды являются дополнительными звеньями к нашему пониманию молекулярной мимикрии. Наши текущие знания о подробных механизмах молекулярной мимикрии ограничены проблемами длительных периодов латентности до появления заболевания, отсутствием достаточной статистической мощности в эпидемиологических исследованиях, ограничениями потенциальной роли генетики в исследованиях на людях и особенно ограниченная технология систематического анализа репертуара Т-клеток человека и ответов В-клеток [4].

Аутоиммунный гастрит и атрофия желудка, ассоциированная с *Helicobacter*, развиваются по сходным механизмам, включающим протонную помпу H^+/K^+ -АТФ-азу в качестве аутоантигена. Благодаря клиническим исследованиям у инфицированных *Helicobacter pylori* пациентов с аутоиммунным заболеванием желудка имеются активированные *in vivo* $CD4^+$ Т-клетки желудка, которые распознают как H^+/K^+ -АТФазу, так и антигены *Helicobacter pylori* [2].

Для достижения поставленной цели нами была разработана программа в среде Python, позволяющая проводить сравнительный анализ первичной структуры белков по оригинальному алгоритму.

Для получения аминокислотных последовательностей белков *Helicobacter pylori* и H^+/K^+ -АТФазы желудка, мы использовали Protein Data Bank (PDB). Для получения справочной информации – Pubmed.

Принцип работы программы заключается в следующем: мы берем последовательность из 15 аминокислот из последовательности АТФазы и сравниваем ее с последовательностью из 15 аминокислот из последовательности белка *Helicobacter pylori*. Если имеется совпадение, мы добавляем +1 к счетчику. Мы отбрасываем последовательности, в которых нет совпадений. Затем переходим от первой последовательности белков (1-15) ко второй (2-16) и повторяем со всеми. Как только мы пройдем все комбинации для первой последовательности АТФазы, мы

перейдем ко второй и проделаем с ней то же самое. Все результаты сохраняются в отдельных файлах, что упрощает анализ информации.

Проведя анализ данных из таблицы, мы начали исследовать функции наиболее совпадающих из них. В белках VacA (11 совпадений по 7 аминокислот) и CagA (6 совпадений по 7 аминокислот).

Одним из наиболее широко изученных токсинов, продуцируемых *Helicobacter pylori*, является вакуолизирующий цитотоксин А (VacA). Инфицирование штаммами *H. pylori*, содержащими токсигенную аллельную форму s1 VacA, связано с повышенным риском пептической язвы и рака желудка [13,14,15,16,17]. Интересно, что недавние результаты показывают, что эффекты, вызываемые CagA на клетку-хозяина, могут противодействовать эффектам, вызываемым VacA, и наоборот, указывая на еще один уровень сложности в способе действия VacA.

Другим ключевым фактором вирулентности *H. pylori* является генный продукт CagA. CagA доставляется в клетку-хозяина *H. pylori* через систему секреции IV типа [7,8,9,10]. Оказавшись внутри клетки-хозяина, CagA фосфорилируется тирозинкиназой SRC хозяина [16]. Фосфорилированный CagA нарушает регуляцию актиновой перестройки цитоскелета в клетке-хозяине.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что присутствует n-ная степень гомологии. Согласно литературным данным, для аминокислотной гомологии, способной вызвать сходство антигенных детерминантов перекрестный аутоиммунный ответ – 5 аминокислот, последовательно расположенных в первичной структуре белка, при условии экспонирования наружной структуры.

Таким образом, можно заключить, что

1) Белки CagA и VacA подтверждают высокую степень гомологии с α - и β - субъединицами АТФ-азы секреторных клеток. У CagA отмечается 6 сайтов с 7-аминокислотным совпадением с α -субъединицей и 2 сайта с 7-аминокислотным совпадением с β -субъединицей. VacA обнаруживает выраженные структурные различия от CagA, имеет степень гомологии с α -субъединицей на 90% больше, чем CagA – 11 аминокислот.

2) Среди проанализированных белков обнаружены и другие структуры, обладающие гомологией с субъединицами АТФ-азы, однако они не являются специфичными для *Helicobacter pylori* и обнаруживаются у широкого спектра микробиоты, что исключает возможность их использования в качестве специфических индукторов иммунного ответа на *Helicobacter pylori*.

3) Обнаруженные зависимости позволяют с высокой вероятностью утверждать о возможности индукции аутоиммунного гастрита в результате инфицирования *Helicobacter pylori*. Полученный массив

данных требует дальнейшего глубокого анализа для подтверждения выдвинутой гипотезы.

Библиографические ссылки

1. *Kulnigg-Dabsch, S.* Autoimmune gastritis / S. Kulnigg-Dabsch // Wien Med. Wochenschr. 2016. Vol. 166, № 13-14. P. 424 – 430.
2. *Amedei, A., Bergman, M.P., Appelmelk, B.J.* Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* antigens and H⁺, K⁺-adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity/ A. Amedei, M.P. Bergman, B.J. Appelmelk // J. Exp. Med. 2003. Vol. 198. P. 1147-56.
3. *Oldstone, M.B.* Molecular mimicry and immune-mediated diseases / M.B. Oldstone // FASEB J. 1998. № 12. P. 1255-1265.
4. *Rojas, M., Restrepo-Jiménez, P., Monsalve, D. M.* Molecular mimicry and autoimmunity / Rojas, M., Restrepo-Jiménez, P., Monsalve, D. M. // J. Autoimmunity. 2018. Vol. 95. P. 100-123.
5. *Shayeghi, M.* Identification of an intestinal heme transporter / M. Shayeghi // Cell. 2005. Vol. 122. P. 789–801.
6. *Palframan, S.L., Kwok, T., Gabriel, K.* Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis / S.L. Palframan, T. Kwok, K. Gabriel // Front Cell Infect Microbiol. 2012. Vol. 12. P. 2-92.
7. *Segal, E. D., Cha, J., Lo, J.* Altered states: involvement of phosphorylated CagA in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori* / E. D. Segal, J. Cha, J. Lo // Proc. Natl. Acad. Sci. 1999. Vol. 96. P. 14559–14564.
8. *Backert, S., Ziska, E., Brinkmann, V.* Translocation of the *Helicobacter pylori* CagA protein in gastric epithelial cells by a type IV secretion apparatus / S. Backert, E. Ziska, V. Brinkmann // Cell. Microbiol. 2000. № 2. P. 155-164.
9. *Odenbreit, S., Puls, J., Sedlmaier, B.* Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion / S. Odenbreit, J. Puls, B. Sedlmaier // Science. 2000. Vol. 287. P. 1497–1500.
10. *Stein, M., Rappuoli, R., Covacci, A.* Tyrosine phosphorylation of the *Helicobacter pylori* CagA antigen after *cag*-driven host cell translocation/ M. Stein, R. Rappuoli, A. Covacci // Proc. Natl. Acad. Sci. 2000. Vol. 97. P. 1263–1268.
11. *Bravo, D., Hoare, A., Soto, C.* *Helicobacter pylori* in human health and disease: Mechanisms for local gastric and systemic effects / D. Bravo, A. Hoare, C. Soto // World J. Gastroenterol. 2018. Vol. 24. P. 3071-3089.
12. *Selbach, M., Moese, S., Hauck, C.R.* Src is the kinase of the *Helicobacter pylori* CagA protein *in vitro* and *in vivo* / M. Selbach, S. Moese, C.R. Hauck. // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 6775-6778.
13. *Atherton, J. C., Cao, P., Peek, R. M. Jr.* Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration / J. C. Atherton, P. Cao, R. M. Jr. Peek // J. Biol. Chem. 1995. Vol. 270. P. 17771–17777.
14. *Gerhard, M., Lehn, N., Neumayer, N.* Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesion / M. Gerhard, N. Lehn, N. Neumayer // Proc. Natl. Acad. Sci. 1999. Vol. 96. P. 12778–12783.

15. Miehke, S., Kirsch, C., Agha-Amiri, K. The *Helicobacter pylori* vacA s1, m1 genotype and cagA is associated with gastric carcinoma in Germany / S. Miehke, C. Kirsch, K. Agha-Amiri // Int. J. Cancer. 2000. Vol. 87. P. 322–327.
16. Miehke, S., Yu, J., Schuppler, M. *Helicobacter pylori* vacA, iceA, and cagA status and pattern of gastritis in patients with malignant and benign gastroduodenal disease/ S. Miehke, J. Yu, M. Schuppler // Am. J. Gastroenterol. 2001. Vol. 96. P. 1008–1013.
17. Louw, J. A., Kidd, M. S., Kummer, A. F. The relationship between *Helicobacter pylori* infection, the virulence genotypes of the infecting strain and gastric cancer in the African setting / J. A. Louw, M. S. Kidd, A. F. Kummer // Helicobacter. 2001. Vol. 6. P. 268–273.