

Гетерогенность генотипов *Helicobacter pylori*, изолированных из различных биотопов, при заболеваниях гепатобилиарной системы

Г.Ш.Исаева^{1,2}

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ, Казань, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация

Целью работы было изучить распространенность генотипов *Helicobacter pylori*, изолированных из различных биотопов, при заболеваниях гепатобилиарной системы. С помощью ПЦР-анализа на наличие *H. pylori* было обследовано 11 пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы. По результатам генотипирования изолятов *H. pylori*, выделенных из разных биотопов одних и тех же пациентов, было обнаружено, что полученные генотипы *H. pylori* в разных органах гепатобилиарной системы в отдельных случаях неидентичны. Полученные результаты указывают на то, что в колонизации органов гепатобилиарной системы патогенетическое значение могут иметь штаммы *H. pylori* *Ure C*-положительные, *cagA*, *babA2*-негативные, *vacA*-позитивные, но отличающиеся преобладанием *m2* аллельного варианта, имеющего незначительный уровень токсической активности. Обнаружение различий генотипов *H. pylori*, выделенных из желудка, желчных протоков и печени от больного циррозом печени, может указывать на наличие избирательной колонизации разных биотопов различными подтипами *H. pylori*.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, гепатобилиарная система, генотипы

Для цитирования: Исаева Г.Ш. Гетерогенность генотипов *Helicobacter pylori*, изолированных из различных биотопов при заболеваниях гепатобилиарной системы. Бактериология. 2018; 3(4): 7–11. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-4-7-11

Heterogeneity of genotypes of *Helicobacter pylori* isolates obtained from different biotopes in diseases of the hepatobiliary system

G.Sh.Isaeva^{1,2}

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation;

²Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

The objective of the research was to evaluate the prevalence of genotypes of *Helicobacter pylori* isolates from diverse biotopes in diseases of the hepatobiliary system. Eleven patients with problems of the hepatobiliary system were examined by the PCR analysis for *H. pylori*. Genotyping of *H. pylori* isolates from different biotopes of the same patients showed that obtained *H. pylori* genotypes were non-identical for some organs of the system in some cases. The results indicate that *H. pylori* *C*-positive, *cagA*, *bab2A*-negative, and *vacA*-positive strains, but differing by the predominance of the allelic variant *m2* possessing a negligible level of toxic activity, may be of pathogenetic value in colonization of organs of the hepatobiliary system. Genotype differences of *H. pylori* isolates derived from the stomach, bile ducts and liver of a patient with hepatic cirrhosis can be indicative for the process of selective colonization of different biotopes by different *H. pylori* subtypes.

Keywords: *Helicobacter pylori*, hepatobiliary system, genotypes

For citation: Isaeva G.Sh. Heterogeneity of genotypes of *Helicobacter pylori* isolates obtained from different biotopes in diseases of the hepatobiliary system. Bacteriology. 2018; 3(4): 7–11. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-4-7-11

Цирроз печени является полиэтиологическим заболеванием. В его возникновении наибольшее значение имеют: хроническая инфекция, алкоголизм, недостаток в питании белков и витаминов, токсико-аллергический фак-

тор, нарушения иммунной системы, врожденные генетические дефекты, нарушающие усвоение в организме меди (болезнь Вильсона), железа (гемохроматоз), нарушения обмена веществ с избыточным отложением жира в печени и

Для корреспонденции:

Исаева Гузель Шавхатовна, доктор медицинских наук, директор ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, заведующая кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»

Адрес: 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67

Телефон: (843) 236-6721

E-mail: kniem@mail.ru

Статья поступила 25.10.2018 г., принята к печати 25.12.2018 г.

For correspondence:

Guzel Sh. Isaeva, MD, PhD, DSc, director, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, head of microbiology department of Kazan State Medical University

Address: 67 Bol'shaya Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation

Phone: (843) 236-6721

E-mail: kniem@mail.ru

The article was received 25.10.2018, accepted for publication 25.12.2018

индуцированное этим воспаление (так называемый неалкогольный стеатогепатит), длительно существующая сердечная недостаточность и обусловленный ею застой крови в печени, хроническое нарушение оттока желчи из печени (так называемый билиарный цирроз). В печати обсуждается вопрос о патогенетической роли в развитии цирроза некоторых бактерий, обладающих свойством молекулярной мимикрии и способных вызвать перекрестные аутоиммунные реакции (*E. coli*, микобактерии, хламидии, лактобактерии и хеликобактеры) [1]. Ряд работ указывает на возможную кофакторную роль бактерий рода *Helicobacter* в патогенезе цирроза [2–4]. А. Ponzetto и соавт. (2000, 2003) при обследовании больных хроническим активным гепатитом В и С обнаружили антитела к *H. pylori* в 90% и 73% случаев соответственно, тогда как в контроле (сыворотке неинфицированных доноров) – в 47–59% [5, 6]. Сходные результаты были получены S.J. Kontrek и соавт. и P. Stalke и соавт. [7, 8]. Серологические исследования демонстрируют среди больных вирусными гепатитами В и С, инфицированных хеликобактерами, преобладание тяжелых исходов в виде циррозов по сравнению с контрольными группами. R. Pellicano и соавт. среди инфицированных вирусами гепатита С выявили достоверную разницу между частотой обнаружения диагностических титров антител к *H. pylori* в опытной группе (пациенты с циррозом печени) и контрольной (без цирроза) [9]. Работа M. Rocha и соавт. указывает на наличие возможной связи между присутствием в печени ДНК хеликобактеров и развитием цирроза у больных гепатитом С [10]. В 90,5% образцов печени были обнаружены ДНК *H. pylori* и *H. pullorum* подобных видов у больных циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой, инфицированных вирусом гепатита С, тогда как у пациентов контрольной группы (инфицированных вирусом гепатита С без цирроза) – только в 3,5% случаях. На основании этих данных можно предположить наличие кофакторной роли бактерий рода *Helicobacter* в развитии тяжелых исходов в течении вирусных гемоконтактных гепатитов и синергизма этой бактериально-вирусной ассоциации. Механизмы такого взаимодействия окончательно не ясны.

Целью работы было изучить распространенность генотипов *Helicobacter pylori*, изолированных из различных биотопов, при заболеваниях гепатобилиарной системы.

Материалы и методы

Выборку группы больных с заболеваниями печени составили 11 больных циррозом печени невыясненной этиологии. Средний возраст больных – 43,2 года. Материалом для исследования в подгруппе циррозов служил архивный аутопсийный материал из тканей печени, желчных протоков, желчного пузыря, желудка. Образцы тканей, зафиксированных в парафине, были использованы для молекулярно-генетического исследования.

Выделение ДНК из парафинизированных образцов производили по методике, предложенной V. Tolia и соавт. [11]. Для этого парафинизированные срезы тканей помещали в пробирки типа Эппендорф, депарафинизировали путем промывания в 1 мл ксилола дважды по 5 минут. Регидратацию проводили трижды в растворах этилового спирта (99%, 95% и 70%), инкубируя 5 минут. После каждого этапа промывки

применяли центрифугирование при 12 000 об/мин в течение 3 минут. Окончательно образец ткани промывали дистиллированной водой в течение 5 минут. Далее выделение ДНК производили сорбционным методом с использованием набора реагентов НПФ Литех «Хеликопол» (Москва). Для этого кусочек ткани помещали в 100 мкл лизирующего буфера, включающего 10 мкл Tris HCl pH 8,8, 25 мМ ЭДТА, 100 мкг/мл протеиназы К, и инкубировали до полного растворения при 56°C около 5 ч. К раствору добавляли 20 мкл водной суспензии сорбента и 500 мкл буфера, состоящего из 10 мМ Tris HCl pH 8,0, 5,5 М гуанидинцианата, 10 мМ ЭДТА. Суспензию инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут, периодически встряхивая, после чего осаждали сорбент центрифугированием на микроцентрифуге CM-50 (ELMI-2, США) в течение 15 с при 12 тыс. об/мин. Супернатант удаляли с помощью вакуумного насоса, а сорбент дважды промывали 70% этанолом и высушивали при 56°C около 15 минут. Для элюции ДНК с сорбента в пробирки добавляли 50 мкл ТЕ-буфера, тщательно перемешивали на вортексе и инкубировали в течение 5 минут при 55°C в термостате. Супернатант отделяли центрифугированием. Полученный раствор, снятый с сорбента, переносили в 0,5 мл пробирку и хранили при –20°C.

Выявление *H. pylori* проводили с помощью ПЦР с использованием специфичных праймеров на нуклеотидную последовательность гена *ureC*. Реакционная смесь содержала 10 мМ Tris HCl pH 8,3, 50 мМ KCl, 2 мМ MgCl₂, по 50 мкМ каждого дНТФ, по 10 пкМ каждого праймера (прямой 5'-TCACCCCATGTTTGTTCATCCG-3'; обратный 5'-CACGATCCTTAAACTCTGTAAATT-3'), 1 ед Taq-полимеразы и 5 мкл анализируемого очищенного образца.

Реакцию амплификации проводили в объеме 25 мкл: реакционная смесь – 2,5 мкл, вода деионизованная – 17,5 мкл, Taq-полимераза – 0,2 мкл, образец ДНК – 5 мкл.

Амплификацию проводили в приборе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) по следующей программе:

Температура (°C)	Время	Количество циклов
94°C	1 минута	1 цикл
94°C	30 с	5 циклов
60°C	30 с	
72°C	30 с	
92°C	5 с	40 циклов
50°C	10 с	
72°C	15 с	

По завершении программы продукты амплификации разделяли методом горизонтального электрофореза в агарозном геле в трис-ацетатной буферной системе. Результаты документировали с помощью видеосистемы для регистрации гелей DNA Analyzer (НПФ «Литех», Россия). Наличие полосы длиной 492 п.н.о. свидетельствовало о присутствии в пробе ДНК *H. pylori*.

Такие образцы использовали для дальнейшего генотипирования *H. pylori*. Для генотипирования штаммов *H. pylori* в отношении *cagA* использовали набор реагентов «Хеликопол СА» НПФ «Литех» (Москва).

Реакцию амплификации проводили в 30 мкл реакционной смеси: вода деионизованная – 14,3 мкл, ПЦР-буфер – 3 мкл,

раствор dNTP – 3 мкл, MgCl₂ – 2,5 мкл, праймер – 2 мкл, Taq-полимераза – 0,2 мкл, ДНК пробы – 5 мкл.

В качестве положительного контроля использовали нативную ДНК *H. pylori* генотипа *cagA*. Размер полосы в положительной пробе при электрофорезе был равен 404 п.н.о.

Генотипирование проводили при следующем температурном режиме:

Температура (°C)	Время	Количество циклов
94°C	1 минута	1 цикл
94°C	1 минута	35 циклов
52°C	1 минута	
72°C	2 минуты	
72°C	5 минут	1 цикл

Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле в присутствии бромистого этидия в 1x TAE буфере.

Генотипирование в отношении гена *vacA*. Для генотипирования штаммов *H. pylori* в отношении *vacA* использовали набор реагентов «Хеликопол VA» НПФ «Литех» (Москва).

Реакцию амплификации проводили в 30 мкл реакционной смеси: вода деионизованная – 14,3 мкл, ПЦР-буфер – 3 мкл, dNTP – 3 мкл, MgCl₂ – 2,5 мкл, праймер – 2 мкл, Taq-полимераза – 0,2 мкл, ДНК пробы – 5 мкл.

Генотипирование проводили при следующем температурном режиме:

Температура (°C)	Время	Количество циклов
94°C	1 минута	1 цикл
94°C	1 минута	35 циклов
52°C	1 минута	
72°C	2 минуты	
72°C	5 минут	1 цикл

Размеры полос в положительных пробах при электрофорезе были следующими: *vacAs1* – 259 п.н.о., *vacAs2* – 286 п.н.о., *vacAm1* – 290 п.н.о., *vacAm2* – 352 п.н.о.

Для генотипирования изолятов *H. pylori* в отношении *babA* использовали набор реагентов «Хеликопол ВА» НПФ «Литех» (Москва). Реакцию амплификации проводили в 30 мкл реакционной смеси: вода деионизованная – 14,3 мкл, ПЦР-буфер – 3 мкл, dNTP – 3 мкл, MgCl₂ – 2,5 мкл, праймер – 2 мкл, Taq-полимераза – 0,2 мкл, ДНК пробы – 5 мкл.

В качестве положительного контроля была использована плазмида с вставкой ДНК генотипа *babA H. pylori* размером 800 п.н.о.

Генотипирование проводили при следующем температурном режиме:

Температура (°C)	Время	Количество циклов
94°C	1 минута	1 цикл
94°C	1 минута	35 циклов
52°C	1 минута	
72°C	2 минуты	
72°C	5 минут	1 цикл

Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле в присутствии бромистого этидия в 1x TAE буфере.

Результаты и обсуждение

Было проведено сравнительное изучение генотипов изолятов *H. pylori*, выделенных из разных биотопов одних и тех же пациентов. Результаты представлены в таблице. По данным генотипирования было обнаружено, что полученные генотипы *H. pylori* в разных органах гепатобилиарной системы в отдельных случаях неидентичны. Так, у пациента №2 генотип *H. pylori*, детектируемый в желчном протоке (*cagA + vacAs1/m2*), отличается от такового в образцах печени (*cagA + vacAs2*); у пациента №6 результат ПЦР, полученный в желудке (*cagA + vacAm2*), не подтвердился ни в печени, ни в желчном пузыре (*cagA-vacAm2*); *cagAvacAs1/s2*-положительный генотип был обнаружен в биоптате желудка пациента №7, а из печени был выделен *cagA*-негативный изолят.

Подобные несоответствия генотипов, обнаруженные также и у других больных, могут быть объяснены инфицированием больного бактериями с различными генотипами. Явление специфичной колонизации гепатобилиарного тракта штаммами хеликобактеров, отличных от таковых, колонизирующих желудок или двенадцатиперстную кишку, возможно, объясняется наличием определенных рецепторов в тканях гепатобилиарной системы и условий, в которых определенные штаммы оказываются более успешными, а другие элиминируются под действием этих же условий. Другое возможное объяснение может быть связано с тем, что на начальном этапе инфицирования потеря «островка патогенности» *cagA* штаммами *H. pylori* может стать полезной ввиду его высокой иммуногенности, тем самым способствовать задержке таких бактерий в гепатобилиарном тракте. Возможно, этим можно объяснить, что в исследуемой нами группе больных более половины пациентов являются носителями *cagA*-отрицательных штаммов *H. pylori*.

Известно, что на процесс формирования различных исходов *H. pylori* инфекции могут оказывать влияние как эндогенные факторы макроорганизма (генетические особенности человека, иммунный статус и т.д.), так и экзогенные, в том числе и факторы окружающей среды (социально-

Таблица. Встречаемость различных генотипов *H. pylori* в зависимости от биотопа

№	Образцы	<i>H. pylori</i>	Генотипы <i>H. pylori</i>
1	ж. проток	+	<i>vacAs1/m2babA2</i>
	желудок	+	<i>vacAm2babA-</i>
2	ж. проток	+	<i>cagA+vacAs1/m2</i>
	желудок	+	<i>cagA+vacAs2</i>
3	ж. проток	+	<i>cagA+vacAs1m2</i>
	печень	+	<i>cagA+vacAs2m2</i>
4	ж. проток	+	<i>cagA-vacAm2</i>
	печень	+	<i>cagA-vacAm2</i>
5	ж. пузырь	+	<i>cagA-vacAm2</i>
	желудок	+	<i>cagA+vacAm2</i>
	печень	+	<i>cagA-vacAm2</i>
6	ж. пузырь	+	<i>cagA-vacAm2</i>
	желудок	+	<i>cagA+vacAm2</i>
7	печень	+	<i>cagA-vacAs1/s2</i>
	ж. проток	-	-
8	желудок	+	<i>cagA+vacAs1/s2</i>
	Печень	+	<i>cagA-vacAs2</i>
	желудок	+	<i>cagA+vacAs1</i>

экономические условия, характер питания и т.д.). На характер течения заболевания может оказывать влияние и генотип микроорганизма.

Штаммы *H. pylori* разделены на два генотипа: тип I – имеющие *cagA* и экспрессирующие *CagA* и *VacA* цитотоксины и тип II – не экспрессирующие их. С определенным генотипом может быть связана колонизирующая способность различных штаммов *H. pylori*. Так, установлено, что *CagA*-негативные штаммы обычно колонизируют слизистый слой и верхушки эпителиальных клеток, а *CagA*-позитивные расположены вблизи эпителиальных клеток или в межклеточном пространстве [12]. Возможно, в колонизации органов гепатобилиарной системы принимают участие штаммы *H. pylori*, имеющие генотип, отличный от штаммов, колонизирующих желудочный эпителий. По данным P.Avenaud и соавт., бактерии I типа преобладают над II типом при изучении геномов *H. pylori*, выделенных из ткани печени [13]. E.Apostolov и соавт. демонстрировали присутствие цитотоксинов *CagA* и *VacA* в эпителиальных клетках желчного пузыря при хроническом воспалении [14], но P.Stalke и соавт. наряду с высокой частотой детекции *H. pylori* в печени и желудке с использованием иммуногистохимических и молекулярных методов *CagA* штаммы в печени выявляли значительно реже, чем в желудке, и предположили возможную роль *cagA*-негативных штаммов в развитии заболеваний печени [8]. Сходные данные были получены T.Pirouz и соавт., которые обнаружили ДНК *H. pylori* в 17 образцах печени 46 больных, при этом все изоляты *H. pylori* были *cagA*-негативными [15].

В нашем исследовании сравнение генотипов изолятов *H. pylori*, выделенных из различных биотопов желудочно-кишечного тракта больных с заболеваниями гепатобилиарной системы, показало их принадлежность ко всем основным генотипам: I, Ia, Ib, III. Но, несмотря на преобладание в слизистой оболочке желудка штаммов *H. pylori* с I генотипом, чаще из ткани печени, желчных протоков выделяли *cagA*-отрицательные изоляты. Полученные данные могут указывать на избирательную колонизацию гепатобилиарной системы *cagA*-негативными вариантами.

В нашем исследовании ДНК *H. pylori* в образцах печени, желчного пузыря и желчного протока была обнаружена у 8 из 11 пациентов с циррозом печени. Высокая частота обнаружения *H. pylori* в органах гепатобилиарной системы больных циррозом печени сочеталась с высокой частотой выявления этого микроорганизма в слизистой оболочке желудка. Патогенетическим механизмом повреждающего действия *H. pylori* на гепатоциты может служить аутоиммунное повреждение клеток печени, при котором антитела к *H. pylori* из-за антигенной «мимикрии» микроорганизма способны вступать во взаимодействие с клетками эпителия желчных канальцев или гепатоцитами. На патогенетическую роль *H. pylori* в патогенезе цирроза печени указывают экспериментальные работы *in vitro* и *in vivo*. K.Ito и соавт. провели заражение клеточной культуры гепатоцитов взвесью *H. pylori*, содержащей 10^7 микробных клеток, для изучения персистирующей способности этого микроорганизма [16]. Они установили, что большая часть инокулята адгезировалась на гепатоцитах, приблизительно 2% бактерий проникли внутрь и персистировали внутриклеточно на

протяжении нескольких пассажей более 2 мес. Эти результаты были подтверждены электронной микроскопией. Количество адгезировавших и инвазированных в гепатоциты хеликобактеров было выше, чем в эпителиальные клетки слизистой оболочки желудка с достоверностью $p < 0,05$, и зависело от *cag*-PAI-статуса, преимущественно от присутствия генов «островка патогенности» *babA*, *oipA*, *vacA*. Процесс адгезии бактерий к гепатоцитам был ингибирован антителами к β -1-интегрину – поверхностному рецептору *H. pylori*. На основании полученных результатов был сделан вывод, что *H. pylori* адгезирует на гепатоцитах, инвазирует их и персистирует внутриклеточно на протяжении длительного времени. Процесс адгезии и инвазии находится в зависимости от факторов патогенности и наличия рецептора β -1-интегрин. Эти опыты указывают на потенциальную способность *H. pylori* вызывать патологические изменения ткани печени. Эта же исследовательская группа обнаружила, что *H. pylori* вызывает нарушения апоптоза и синтез ДНК в гепатоцитах, причем эти изменения в зараженных клетках зависят от вирулентности *H. pylori*: различия цитопатических эффектов, вызываемых вирулентными и менее вирулентными штаммами *H. pylori*, были существенными [17]. Сходные результаты были получены другой исследовательской группой под руководством D.-F.Chen и соавт., которые при изучении воздействия штаммов *H. pylori*, выделенных из желчного пузыря, на первичные культуры эпителиальных клеток желчного пузыря человека обнаружили выраженное цитопатическое действие в виде изменения морфологии клеток, уменьшения их размеров, вакуолизации цитоплазмы, уменьшения ядра, агрегации хроматина, в дальнейшем на 3–4-й день культивирования наблюдали разрыв клеток и их гибель [18]. В контроле жизнеспособность клеток уменьшалась на 7-й день, а гибель клеточной культуры произошла на 14-й день. Измерение активности клеточных ферментов показало повышение их уровня в культуральной жидкости при внесении микробной взвеси *H. pylori* и ультразвуковых фильтратов в различных разведениях, свидетельствующее о повреждении клеточных мембран эпителиальных клеток желчного пузыря и «утечке» энзимов. Хотя при заражении клеточных культур ультразвуковыми фильтратами повреждающий эффект был слабее, а повышение уровня ферментов незначительным по сравнению с заражением супернатантами *H. pylori*. Это может быть связано с тем, что липополисахарид клеточной стенки (основной токсин, образующийся при гибели *H. pylori* в ультразвуковых фильтратах) имеет менее выраженный токсический эффект, чем цитотоксины *CagA* и *VacA*, выделяемые *H. pylori* прижизненно. На основании полученных результатов *in vitro* был сделан вывод, что *H. pylori* способен повреждать эпителий желчного пузыря и вызывать холецистит. Результаты исследований *in vitro* коррелируют с результатами, проведенными *in vivo*. Группа исследователей под руководством X.F.Tian пришли к выводу, что эти бактерии способны колонизировать печень, вызывать хроническое воспаление, цирроз, гепатоцеллюлярную карциному, действуя как независимый этиологический фактор. Это заключение было сделано на основании двухлетнего наблюдения за мышами линии C57BL/6, зараженными перорально штаммом SS1 *H. pylori*. У 12 из 20 зара-

женных мышей обнаружение *H. pylori* в желудке сочеталось с патологическими изменениями, включая один случай лимфомы. У 7 из них в печени было выявлено *H. pylori*-инфицирование, ассоциированное с поражениями печеночной ткани в виде воспаления, фиброза, гиперплазии и атипии. Результаты секвенирования обнаруженных в печени и желудке изолятов показали 100% гомологию со штаммом SS1. В группе мышей, у которых *H. pylori* отсутствовал в желудке, также он не был выявлен в печени, патологические изменения также отсутствовали. На основании полученных результатов было сделано заключение, что *H. pylori*, колонизируя слизистую оболочку желудка, далее колонизирует гепатобилиарную систему, вызывая повреждения в виде воспаления, фиброза, гиперплазии и атипии. Но не у всех инфицирование одним штаммом *H. pylori* заканчивается колонизацией, вероятно, процессы адгезии, колонизации, инвазии, персистенции зависят от ряда других факторов экзогенного и эндогенного характера [19].

Заключение

Полученные результаты указывают на то, что в колонизации органов гепатобилиарной системы патогенетическое значение могут иметь штаммы *H. pylori* Ure C-положительные, *cagA*, *babA2*-негативные, *vacA*-позитивные, но отличающиеся преобладанием m2 аллельного варианта, имеющего незначительный уровень токсической активности. Обнаружение различий генотипов *H. pylori*, выделенных из желудка, желчных протоков и печени от больного циррозом печени, может указывать на наличие избирательной колонизации разных биотопов различными подтипами *H. pylori*.

Литература/References

1. Bogdanos DP, Vergani D. Bacteria and primary biliary cirrhosis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2009 Feb;36(1):30-9. DOI: 10.1007/s12016-008-8087-9.
2. Pellicano R, Menard A, Rizzetto M, Megraud F. *Helicobacter species* and liver diseases: association or causation? *Lancet Infect Dis.* 2008 Apr;8(4):254-60. DOI: 10.1016/S1473-3099(08)70066-5.
3. Pellicano R. *Helicobacter pylori* among patients with cirrhosis: incidence or prevalence? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017 Nov;29(11):1315. DOI: 10.1097/MEG.0000000000000978.
4. Pogorzelska J, Łapińska M, Kalinowska A, Łapiński TW, Flisiak R. *Helicobacter pylori* infection among patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017 Oct;29(10):1161-1165. DOI: 10.1097/MEG.0000000000000928.
5. Ponzetto A, Pellicano R, Leone N, Berrutti M, Turrini F, Rizzetto M. *Helicobacter pylori* seroprevalence in cirrhotic patients with hepatitis B virus infection. *Neth J Med.* 2000 Jun;56(6):206-10.
6. Ponzetto A, Pellicano R, Pedaelli A, Rizzetto M, Roffi L. *Helicobacter pylori* infection in patients with hepatitis C virus positive chronic liver diseases. *New Microbiol.* 2003 Oct;26(4):321-8.
7. Konturek SJ, Gonciarz M, Gonciarz Z, Bielanski W, Mazur W, Mularczyk A, et al. Progastrin and its products from patients with chronic viral hepatitis and liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol.* 2003 Jun;38(6):643-7.
8. Stalke P, Abu Al-Soud W, Bielawski KP, Bakowska A, Trocha H, Stepinski J, Wadström T. Detection of *Helicobacter* species in liver and stomach tissues of patients with chronic liver diseases using polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis and immunohistochemistry. *Scand J Gastroenterol.* 2005 Sep;40(9):1032-41. DOI: 10.1080/00365520510023251
9. Pellicano R, Leone N, Berrutti M, Cutufia MA, Fiorentino M, Rizzetto M, Ponzetto A. *Helicobacter pylori* seroprevalence in hepatitis C virus positive patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 2000 Oct;33(4):648-50.
10. Rocha M, Avenaud P, Ménard A, Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P, et al. Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut.* 2005 Mar;54(3):396-401. DOI: 10.1136/gut.2004.042168
11. Tolia V, Nilsson HO, Boyer K, Wuerth A, Al-Soud WA, Rabah R, Wadström T. Detection of *Helicobacter ganmani*-like 16S rDNA in pediatric liver tissue. *Helicobacter.* 2004 Oct;9(5):460-8. DOI: 10.1111/j.1083-4389.2004.00266.x
12. Camorlinga-Ponce M, Romo C, González-Valencia G, Muñoz O, Torres J. Topographical localisation of *cagA* positive and *cagA* negative *Helicobacter pylori* strains in the gastric mucosa; an in situ hybridisation study. *J Clin Pathol.* 2004 Aug; 57(8):822-8. DOI: 10.1136/jcp.2004.017087
13. Avenaud P, Marais A, Monteiro L, Le Bail B, Bioulac Sage P, Balabaud C, Mégraud F. Detection of *Helicobacter species* in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. *Cancer.* 2000 Oct 1;89(7):1431-9.
14. Apostolov E, Al-Soud WA, Nilsson I, Kornilovska I, Usenko V, Lyzogubov V, et al. *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species in gallbladder and liver of patients with chronic cholecystitis detected by immunological and molecular methods. *Scand J Gastroenterol.* 2005 Jan;40(1):96-102.
15. Pirouz T, Zounubi L, Keivani H, Rakhshani N, Hormazdi M. Detection of *Helicobacter pylori* in paraffin-embedded specimens from patients with chronic liver diseases using the amplification method. *Dig Dis Sci.* 2009 Jul;54(7):1456-9. DOI: 10.1007/s10620-008-0522-5
16. Ito K, Yamaoka Y, Ota H, El-Zimaity H, Graham DY. Adherence, internalization, and persistence of *Helicobacter pylori* in hepatocytes. *Dig Dis Sci.* 2008 Sep;53(9): 2541-9. DOI: 10.1007/s10620-007-0164-z
17. Ito K, Yamaoka Y, Yoffe B, Graham DY. Disturbance of apoptosis and DNA synthesis by *Helicobacter pylori* infection of hepatocytes. *Dig Dis Sci.* 2008 Sep;53(9):2532-40. DOI: 10.1007/s10620-007-0163-0.
18. Chen DF, Hu L, Yi P, Liu WW, Fang DC, Cao H. *Helicobacter pylori* damages human gallbladder epithelial cells *in vitro*. *World J Gastroenterol.* 2008 Dec 7;14(45): 6924-8.
19. Tian XF, Fan XG, Huang X, Fu CY, Dai H, Huang Y. A two-year animal experimental study on the pathological effects of *Helicobacter pylori* on liver tissues. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2008 Feb;16(2):129-33.