

Abstract

L. M. Honcharuk,
O. I. Fediv,
V. T. Kulachek,
Y. M. Teleki,

*Higher State Educational
Institution of Ukraine «Bukovynian
State Medical University»*

FIBRINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITY OF BLOOD PLASMA IN PEPTIC ULCER OF THE STOMACH, TAKING INTO ACCOUNT THE PATHOGENIC STRAINS OF HELICOBACTER PYLORI

The **purpose** of the study is to investigate changes in fibrinolytic and proteolytic activity of blood plasma in patients with peptic ulcer (PU) taking into account pathogenic *Helicobacter pylori* (Hp) strains.

Materials and methods. 93 patients with PU were examined, of which 30 patients with PU and concomitant Hp cag cag A⁺/vac A⁺ (group I), 31 patients with PU and concomitant Hp cag A⁻/vac A⁻ (group II), 32 patients with PU without concomitant HP infection (group III). The control group consisted of 30 healthy individuals. Fibrinolytic activity of blood plasma was investigated with the help of lysis of azofibrin (fibrin associated with the azo dye orange), which in the alkaline medium turns a bright red color. The level of total (TFA), enzymatic (FFA) and non-enzymatic fibrinolytic activity (NFA) was evaluated. Proteolytic activity of blood plasma was determined by the lysis of azoalbumin, azocasein and azokol.

Research results. The study of fibrinolytic activity of blood plasma showed that the total fibrinolytic activity of blood plasma (TFA) in all groups was significantly higher compared to the control indicators: in patients of group I by 61.5 %, in patients by 40.9 %, in patients of group III by 30.3 %, with a significant intergroup difference between the groups. The growth of TFA was mainly due to FFA. In patients of group I, FFA increased by 2.06 times ($p < 0.05$), and in patients of group II – by 1.79 times ($p < 0.05$), in patients of group III – by 1.52 times ($p < 0.05$) compared with the control. In patients with group I, FFA increased by 12.5 % ($p < 0.05$) compared with group II. In all patients examined, there was an increase in the proteolytic activity of blood plasma, in particular in group I, the lysis of azoalbumin, azocasein and azocolol increased significantly 2.94 times, 2.83 times and 1.90 times, respectively, and in the patients of group II the investigated indicators increased accordingly 1.87-fold ($p < 0.05$), 1.96-fold ($p < 0.05$) and 1.40-fold ($p < 0.05$), in patients of group III, respectively 1.55 times ($p < 0.05$), 1.59 times ($p < 0.05$) and 1.18 times, compared to these values in almost healthy subjects. Significantly more significant changes in proteolysis were detected in the presence of pathogenic Hp strains.

Conclusion. Increased proteolytic and fibrinolytic activity of blood plasma is observed in patients with PU. The presence of concomitant Hp in PU leads to more pronounced changes in proteolysis and fibrinolysis. Pathogenic strains of Hp cag cag A⁺/vac A⁺ cause significantly more abnormalities in hemostasis.

Keywords: peptic gastric ulcer, Helicobacter pylori strains, fibrinolytic and proteolytic activity.

Corresponding author: ludmylahoncharuk@gmail.com

Резюме

Л. М. Гончарук,

О. І. Федів,

В. Т. Кулачек,

Я. М. Телекі,

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», Театральна пл, 2, м. Чернівці, Україна, 58002

ФІБРИНОЛІТИЧНА ТА ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ ПРИ ПЕПТИЧНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА З УРАХУВАННЯМ ПАТОГЕННИХ ШТАМІВ HELICOBACTER PYLORI

Мета роботи – з'ясувати зміни фібринолітичної та протеолітичної активностей плазми крові у пацієнтів із пептичною виразкою шлунка (ПВШ) із урахуванням патогенних штамів Helicobacter pylori (Hp).

Матеріали та методи дослідження. Обстежено 93 хворих із ПВШ, з яких 30 пацієнтів із ПВШ та супутньою Hp cag A⁺/vac A⁺ (група I), 31 особа із ПВШ та супутньою Hp cag A⁻/vac A⁻ (група II), 32 хворих із ПВШ без супутньої Hp-інфекції (група III). Групу контролю склали 30 практично здорових осіб. Фібринолітичну активність плазми крові досліджували за допомогою лізису азофібрину (фібрину, асоційованого з азобарвником помаранчевого кольору), що в лужному середовищі забарвлюється в яскраво-червоний колір. Оцінювали рівень сумарної (СФА), ферментативної (ФФА) та неферментативної фібринолітичної активностей (НФА). Протеолітичну активність плазми крові визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу.

Результати дослідження. Дослідження фібринолітичної активності плазми крові показало, що СФА у всіх групах була достовірно вища порівняно із показниками контролю: у хворих I групи на 61,5 %, у II – на 40,9 %, у хворих III групи на 30,3 %, із наявністю вірогідної міжгрупової різниці між групами. Зростання СФА відбувалось в основному за рахунок ФФА. У хворих I групи ФФА зростав у 2,06 раза ($p < 0,05$), а у осіб II групи – у 1,79 раза ($p < 0,05$), у хворих III групи – у 1,52 ($p < 0,05$) у порівнянні із контролем. У хворих I групи ФФА зростала на 12,5 % ($p < 0,05$) порівняно із II групою. У всіх обстежених хворих встановлено зростання показників протеолітичної активності плазми крові, зокрема у I групі лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу достовірно зростали відповідно у 2,94 раза, 2,83 раза та 1,90 раза, а у хворих II групи досліджувані показники підвищувались відповідно у 1,87 раза ($p < 0,05$), у 1,96 раза ($p < 0,05$) та у 1,40 раза ($p < 0,05$), у хворих III групи відповідно у 1,55 раза ($p < 0,05$), у 1,59 раза ($p < 0,05$) і у 1,18 раза порівняно із даними показниками у практично здорових. Встановлено достовірно істотніші зміни протеолізу при наявності патогенних штамів Hp.

Висновок. У хворих із ПВШ спостерігається підвищення протеолітичної та фібринолітичної активностей плазми крові.

Наявність супутньої Hр при ПВШ, призводить до більш виражених змін протеолізу та фібринолізу. Патогенні штами Hр sag A⁺/vac A⁺ зумовлюють достовірно істотніші порушення в ланці гемостазу.

Ключові слова: пептична виразка шлунка, штами *Helicobacter pylori*, фібринолітична та протеолітична активність.

Автор, відповідальний за листування: ludmylahoncharuk@gmail.com

Вступ

Пептична виразка шлунка (ПВШ) належить до найпоширеніших захворювань шлунково-кишкового тракту. Згідно даних літератури, 6,0–10,0 % населення світу хворіють на ПВШ, а смертність, внаслідок ускладнень даного захворювання, коливається від 6 до 9,7 на 100 тис. населення. За статистичними даними, майже 5 млн. населення України страждає на дане захворювання [1]. *Helicobacter pylori* (Hр) є основним етіологічним чинником в розвитку різноманітних захворювань шлунково-кишкового тракту: від безсимптомного носійства до ПВШ та раку шлунка [2, 3, 4, 5]. За даними Всесвітньої організації гастроентерологів у країнах Східної Європи та Азії інфікованість дорослого населення даною бактерією складає 70–80 % [6]. В Україні від 80 до 90 % дорослого населення інфіковані Hр. Важкість клінічного перебігу хелікобактеріозу залежить від ступеню патогенності штамів збудника, що визначається наявністю цитотоксичних генів. Штами Hр, що мають в своєму складі генотипи sagA, vac A, ice A, bab A призводять до розвитку ПВШ та раку шлунка [7, 8, 9]. Присутність vac A⁺ штамів підсилює стійкість бактерії до антибактеріальних лікарських засобів, спричиняє утворення пор в цитоплазматичній мембрані клітин епітелію, що призводить до їх вакуалізації. Штами sag A⁺ сприяють розвитку інтенсивної клітинної відповіді: запаленню слизової оболонки, підвищують продукцію цитокінів, сприяють клітинній проліферації та загибелі клітин [10]. Метою дослідження стало оцінити зміни фібринолітичної та протеолітичної активності плазми крові при ПВШ з урахуванням патогенних штамів *Helicobacter pylori*.

Матеріали та методи дослідження. Було обстежено 93 хворих із ПВШ. Розподіл хворих на групи здійснювався залежно від наявності патогенних штамів Hр:

- група I – 30 пацієнтів із ПВШ та супутньою Hр sag A⁺/vac A⁺
- група II – 31 особа із ПВШ та супутньою Hр sag A⁻/vac A⁻
- група III – 32 хворих із ПВШ без супутньої Hр-інфекції.

Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб (ПЗО), репрезентативних за віком та статтю.

Всім хворим для діагностики ПВШ було проведено фіброгастродуоденоскопію (ФГДС) з прицільною біопсією за загальноприйнятою методикою за допомогою фіброгастродуоденоскопа «Olympus». Наявність Hр визначали шляхом інвазивної експрес-діагностики інфекції за уреазною активністю біоптату, отриманого під час ендоскопічного дослідження слизової оболонки шлунка за допомогою діагностичних наборів ХЕЛПІЛ®-тест («АМА», Санкт-Петербург), морфологічними дослідженнями (забарвлення азур-П-еозином) [11] та за допомогою імунохроматографічного тесту на виявлення антигенів Hр у зразках фекалій (СerTest Biotec, S. L., Іспанія, «Фармаско»). Визначали штами Hр в калі, крові та біоптатах методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Фібринолітичну активність плазми крові досліджували за рівнем сумарної (СФА), ферментативної (ФФА) та неферментативної фібринолітичної активностей (НФА) з використанням реактивів фірми «Danish Ltd.» (м. Львів). Метод базується на лізісі азофібрину (фібрину, асоційованого з азобарвником помаранчевого кольору), що в лужному середовищі забарвлюється в яскраво-червоний колір [12].

$$\text{СФА} = E_{440} \times 40 \text{ (мл/год)}$$

$$\text{НФА} = E_{440} \times 40 \text{ (мл/год)}$$

$$\text{ФФА} = \text{СФА} - \text{НФА}$$

Визначення протеолітичної активності плазми крові проводили за методом К. Н. Веремєєнко, О. П. Голобородько та ін. [13]. Метод ґрунтується на визначенні лізису

азоальбуміну (низькомолекулярних білків), азоказеїну (високомолекулярних білків) та азоколу (колагену).

Результати дослідження. Аналіз результатів досліджень свідчить про те, що у всіх обстежених хворих спостерігається підвищення інтенсивності фібринолітичної активності плазми крові. При цьому у хворих із Нр-позитивними ПВШ, спостерігали дещо інтенсивніше зростання даних показників. Так,

у хворих I групи СФА зростала на 61,5 % ($p < 0,05$), а у хворих II групи – на 40,9 % ($p < 0,05$), у порівнянні із ПЗО (табл. 1). У хворих III групи також відмічали зростання СФА на 30,3 % ($p < 0,05$), ніж у здорових. Встановлено достовірно істотніше зростання СФА у хворих із патогенними штамами Нр у порівнянні із даним показником у пацієнтів із ПВШ без супутньої Нр.

Таблиця 1 – Фібринолітична активність плазми крові при пептичній виразці шлунка, залежно від наявності *Helicobacter pylori* та патогенності штамів *Helicobacter pylori* ($M \pm m$)

| Показники, що вивчалися | Нр sag A ⁺ /vac A ⁺ ПВШ (група I), n = 30 | Нр sag A ⁻ /vac A ⁻ ПВШ (група II), n = 31 | Нр «-» ПВШ (група III), n = 32 | ПЗО (група IV) n = 30 |
|-------------------------|---|--|---|-----------------------------|
| СФА, мл/год | 1,97 ± 0,04 р(зд) < 0,001 | 1,72 ± 0,05 р(зд) < 0,001 р(шт) = 0,003 | 1,59 ± 0,05 р(зд) < 0,001 р(Нр) = 0,026 | 1,22 ± 0,06 |
| НФА, мл/год | 0,98 ± 0,04 р(зд) < 0,001 | 0,88 ± 0,04 р(зд) < 0,044 | 0,80 ± 0,04 | 0,74 ± 0,05 |
| ФФА, мл/год | 0,99 ± 0,05 р(зд) < 0,001 | 0,86 ± 0,05 р(зд) < 0,001 | 0,73 ± 0,04 р(зд) < 0,001 р(Нр) = 0,045 | 0,48 ± 0,03 |

Примітка: n - абсолютна кількість хворих; р (зд) – рівень вірогідності розбіжності порівняно із практично здоровими особами; р (шт) – рівень вірогідності розбіжності між патогенними та непатогенними штамми Нр; р (Нр) – рівень вірогідності розбіжності залежно від наявності Нр

Надмірна активація фібринолітичної системи відбувається в основному за рахунок ферментативного фібринолізу. У хворих I групи показник ФФА зростав у 2,06 раза ($p < 0,05$), а у осіб II групи – у 1,79 раза ($p < 0,05$), а у хворих III групи – у 1,52 ($p < 0,05$) у порівнянні із ПЗО. У хворих I групи ФФА зростала на 12,5 % ($p < 0,05$) порівняно із II групою. Показник НФА у хворих із ПВШ також дещо підвищувався. Так, у обстежуваних із Нр sag A⁺/vac A⁺ НФА підвищувалась у 1,32раза ($p < 0,05$), а в осіб із Нр sag A⁻/vac A⁻ даний показник зростав у 1,18 раза ($p < 0,05$) порівняно із ПЗО.

У обстежених хворих спостерігали також зростання необмеженого протеолізу, що підтверджувалось достовірним підвищенням інтенсивності лізису низькомолекулярних білків (азоальбуміну), високомолекулярних білків (азоказеїну) та колагенолітичної активності крові (азоколу) у порівнянні з групою практично здорових осіб (табл. 2). Наявність супутньої гелікобактерної інфекції,

ймовірно, сприяє вираженішому дисбалансу в системі протеолітичної активності плазми крові у хворих із ПВШ. У хворих I групи лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу достовірно зростали відповідно у 2,94 раза, 2,83 раза та 1,90 раза, а у хворих II групи досліджувані показники протеолітичної активності плазми крові підвищувались відповідно у 1,87 раза ($p < 0,05$), у 1,96 раза ($p < 0,05$) та у 1,40 раза ($p < 0,05$) порівняно із даними показниками у ПЗО. У пацієнтів I групи рівень лізису азоальбуміну зростав у 1,89 раза ($p < 0,05$), рівень лізису азоказеїну у 1,77 раза ($p < 0,05$), ніж у хворих III групи. У хворих із Нр sag A⁻/vac A⁻ рівні лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу були достовірно вищими відповідно у 1,20 раза, 1,23 раза та 1,18 раза, ніж у хворих із Нр-негативними ПВШ.

Обговорення результатів. Система фібринолізу відіграє важливу роль у підтриманні гемостазу, забезпечуючи нормальний кровообіг у судинах, підтримує кров у рідкому стані, перешкоджаючи

внутрішньосудинному тромбоутворенню. Збільшення фібринолізу свідчить про зниження здатності крові до згортання та схильність до розвитку геморагічних проявів. Підвищення

фібринолітичної активності плазми крові за рахунок ферментативного фібринолізу свідчить про високу активність плазміногену та його активаторів.

Таблиця 2 – Протеолітична активність плазми крові при пептичній виразці шлунка, залежно від наявності *Helicobacter pylori* та патогенності штамів *Helicobacter pylori* (M ± m)

| Показники, що вивчалися | Hr sag A ⁺ /vac A ⁺ ПВШ (група I), n = 30 | Hr sag A ⁻ /vac A ⁻ ПВШ (група II), n = 31 | Hr «-» ПВШ (група III), n = 32 | ПЗО (група IV) n = 30 |
|--|---|--|---|-----------------------------|
| Інтенсивність лізису азоальбуміну мл/год | 3,18 ± 0,12 p(зд) < 0,001 p(шт) < 0,001 | 2,03 ± 0,11 p(зд) < 0,001 | 1,68 ± 0,09 p(зд) < 0,001 p(Hp) = 0,01 | 1,08 ± 0,07 |
| Інтенсивність лізису азоказеїну, мл/год | 4,39 ± 0,24 p(шт) < 0,001 p(ур) < 0,001 | 3,04 ± 0,14 p(зд) < 0,001 | 2,47 ± 0,13 p(зд) < 0,001 p(Hp) = 0,002 | 1,55 ± 0,10 |
| Інтенсивність лізису азоколу, мл/год | 1,45 ± 0,06 p(зд) < 0,001 p(шт) < 0,001 | 1,07 ± 0,06 p(зд) < 0,001 | 0,90 ± 0,06 | 0,76 ± 0,06 |

Примітка: n - абсолютна кількість хворих; p (зд) – рівень вірогідності розбіжності порівняно із практично здоровими особами; p (шт) – рівень вірогідності розбіжності між патогенними та непатогенними штамми Hr; p (Hp) – рівень вірогідності розбіжності залежно від наявності Hr

Підсилення інтенсивності фібринолітичної активності плазми крові, ймовірно, носить компенсаторний характер у відповідь на порушення мікроциркуляції в СО ТК. У літературі є відомості щодо зв'язку фібринолізу із протеолізом. Істотне збільшення інтенсивності необмеженого протеолізу в плазмі крові є наслідком надходження протеолітичних ензимів у системний кровотік, що спричинює глибокі порушення регуляції агрегатного стану крові за рахунок активації плазмових факторів коагуляційного гемостазу, фібринолізу і тромбоцитів на тлі ушкодження

ендотеліальних клітин. Протеолітична система в нормі забезпечує неспецифічний розпад білків, підтримуючи фізіологічне функціонування органів та тканин організму. Можна стверджувати про виникнення порушень у діяльності протеїназно-інгібіторної системи плазми крові, що проявляється зростанням активності протеаз. Зростання протеолітичної активності плазми крові зумовлює патологічні процеси у слизовій оболонці травного каналу та сприяє появі ерозивно-виразкових уражень.

Висновки

1. У хворих із пептичною виразкою шлунка спостерігається підвищення протеолітичної та фібринолітичної (в основному за рахунок ферментативного компоненту) активностей плазми крові, що свідчить про порушення в ланці гемостазу.

2. Наявність супутньої *Helicobacter pylori*

при пептичній виразці шлунка, з огляду на отримані дані, ймовірно, призводить до більш виражених змін протеолізу та фібринолізу. Присутність патогенних штамів *Helicobacter pylori* sag A⁺/vac A⁺ сприяє достовірно істотнішій інтенсифікації системи протеолізу та фібринолізу.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується дослідити питання чутливості *Helicobacter pylori* у хворих із пептичною виразкою шлунка, з урахуванням

виявлених патогенних штамів, до антибіотиків та визначити шляхи подолання резистентності до антибактеріальних лікарських засобів.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Відомості про авторів

1. Гончарук Людмила Михайлівна, к. мед. н., доцент кафедри внутрішньої медицини та інфекційних хвороб Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (ludmylahoncharuk@gmail.com, 050 538 14 56);

2. Федів Олександр Іванович, д. мед. н., професор, завідувач кафедри внутрішньої медицини та інфекційних хвороб Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»;

3. Кулачек Вероніка Тарасівна, к. мед. н., доцент кафедри внутрішньої медицини та інфекційних хвороб Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (kulacheknika@gmail.com, 050 803 66 63);

4. Телекі Яна Михайлівна, к. мед. н., доцент кафедри внутрішньої медицини та інфекційних хвороб Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», (jana_med@ua.fm, 050 664 89 12).

References (список літератури)

1. Mykhalskyi AV, Mykhalska YuA. [Features of physical therapy of gastric ulcer and duodenum at different stages of rehabilitation]. *Visnyk Kamianets-Podilskoho natsionalnoho universytetu imeni Ivana Ohiiienka. Fizychno vykhovannia, sport i zdorovia liudyny*. 2018;(11):246-253. Режим доступу: <http://nbuv.gov.ua/UJRN/>
2. Dudnykova ЭV, Hyls ЭV, Zazian VH, Zazian AV, Chernova MS. [Influence of Helicobacter Pylori Dupa pathogenicity factors on the character of morphological pattern of gastric mucosa in diseases of the upper gastrointestinal tract in children]. *Kubanskyi nauchnyi medytsynskyi vestnyk*. 2016;(3):59-62. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2016-3-59-62>
3. Pozdeev OK, Pozdeeva AO, Valeeva YuV, Huliaeв PE. [Mechanisms of interaction of Helicobacter pylori with gastric mucosa epithelium. and pathogenicity factors contributing to successful colonization]. *Infektsyia i immunitet*. 2018;8(3):273-283. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-273-283>
4. Fadiienko HD, Kolesnikova OV. [Helicobacter pylori eradication: how to improve the effectiveness of therapy?]. *Suchasna gastroenterolohiia*. 2015;2(82):66-72. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/SGastro_2015_2_11.
5. Bastos J, Peleteiro B, Pinto H, Marinho A, Guimarães JT, Ramos E, et al. Prevalence, incidence and risk factors for Helicobacter pylori infection in a cohort of Portuguese adolescents (EpiTeen). *Dig Liver Dis*. 2013;45(4):290-5. doi: 10.1016/j.dld.2012.11.009.
6. Kanovska LV, Kaushanska OV, Bedyk NM, Novytska IO. [Helicobacter pylori as an urgent problem of modern gastroenterology (literature review)]. *Molodyi vchenyi*. 2016;(2):156-160. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2016_2_40
7. Baudron CR, Franceschi F, Salles N, Gasbarrini A. Extragastric diseases and Helicobacter pylori. *Helicobacter*. 2013;(18 Suppl 1):44-51. doi: 10.1111/hel.12077.
8. Bridge DR, Merrell DS. Polymorphism in the Helicobacter pylori CagA and VacA toxins and disease. *Gut Microbes*. 2013;4(2):101-17. doi: 10.4161/gmic.23797.
9. Kim A, Servetas SL, Kang J, Kim J, Jang S, Cha HJ, et al. Helicobacter pylori bab Paralog Distribution and Association with cagA, vacA, and homA/B Genotypes in American and South Korean Clinical Isolates. *PLoS One*. 2015;10(8):0137078. doi: 10.1371/journal.pone.0137078.

10. Ysaeva HSh, Valyeva RY. [Biological properties and virulence of *Helicobacter pylori*]. *Klınıcheskaia mykrobiolohıia y antymykrobnaiia khımyoterapiia*. 2018;(1):14-22.
11. Venerucci F. *Histopathology kits: methods and applications* Bologna, Milan: Bio-Optica, 2001.95 p.
12. Kravchenko NA, Yarmysh NV. [Biochemical and molecular genetic mechanisms of regulation of nitric oxide synthesis by endothelial NO synthase in normal and cardiovascular pathology]. *Ukrainskyi terapiychnyi zhurnal*. 2007;(1):82-89.
13. Veremeenko KN, Holoborodko OP, Kyzym AY. *Proteoliz v norme y pry patolohy* [Proteolysis in normal and pathologists]. K: Zdorovia, 1988.198p.

(received 31.01.2020, published online 29.03.2020)

(одержано 31.01.2020, опубліковано 29.03.2020)