

## Процеси апоптозу та проліферації при гастродуоденопатіях, спричинених нестероїдними протизапальними препаратами, у хворих на остеоартроз, з урахуванням патогенних штамів *Helicobacter pylori*

Л. М. Гончарук

Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна  
Corresponding author. E-mail: gresko\_ludmila@mail.ru

Paper received 25.08.2016; Accepted for publication 01.09.2016.

**Анотація.** У роботі досліджено процеси проліферації та апоптозу при гелікобактерно-асоційованих гастродуоденопатіях, індукованих нестероїдними протизапальними препаратами, у хворих на остеоартроз. Виявлено, що у хворих із патогенним та ультрогенним штамом *Helicobacter pylori*  $cagA^+/vacA^+$  відбувається істотноше підвищення ФНП- $\alpha$ , значне зниження sAPO-1/Fas та компенсаторне зростання ЕФР, у порівнянні із обстеженими пацієнтами із *Helicobacter pylori* штамом  $cagA^+/vacA^+$  та штамом  $cagA^+/vacA^-$ .

**Ключові слова:** остеоартроз, нестероїдні гастродуоденопатії, патогенез, *Helicobacter pylori*.

**Вступ.** Остеоартроз (ОА) найбільш розповсюджене захворювання суглобів, що вражає не менше 20% населення планети. Майже всі люди похилого і старечого віку хворіють на ОА. Основними клінічними проявами ОА являються біль та зниження функції. В терапії ОА широко використовують нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), які, згідно рекомендацій OARSI (2008) по лікуванню ОА колінного та тазостегнового суглобів, характеризуються найбільшою доказовістю (ступінь доказовості 93% із 100% можливих) [5,14]. У 10-30% осіб, що тривало приймають НПЗП виникають ерозії та виразки слизової оболонки шлунка. При тривалому використанні НПЗП гастродуоденопатії (ГДП) діагностують у 70% хворих. Зміни слизової оболонки травного каналу часто носять рецидивуючий характер з мінімальними суб'єктивними відчуттями або, не рідко, з повною відсутністю клінічних проявів, що стає причиною серйозних ускладнень, таких як кровотеча та перфорація. У 1/3 хворих, що тривало приймають НПЗП і не мають ніякої симптоматики із сторони травного каналу, при профілактичному проведенні фіброгастродуоденоскопії виявляють характерні ендоскопічні ознаки нестероїдних ГДП. Роль *Helicobacter pylori* (Hр) в патогенетичних механізмах розвитку ГДП, обумовлених НПЗП, у хворих на ОА є неоднозначною і продовжує вивчатися.

**Короткий огляд публікацій по темі:** Відомо, що НПЗП здатні викликати апоптоз шляхом активації каспази-3, через мітохондральний шлях та зовнішній смертельний рецептор [8]. Літературні дані свідчать, що Hр призводить в один і той же час до індукції апоптозу в епітеліоцитах шлунка і до прискорення проліферації, а експресія протеїнів, які регулюють процеси проліферації та апоптозу порушується при посиленні пошкодження слизової оболонки шлунка, обумовлені хронічним персистуванням Hр [2]. Цитотоксин-асоційований ген А ( $cagA$  ген) був першим виявленим фактором вірулентності Hр. Існує думка, що  $cagA$  ген є маркером «островка» генів, що визначають патогенність збудника (близько 40). Білки, що кодуються цими генами, взаємодіють безпосередньо із клітинами шлункового епітелію, викликаючи каскад процесів, що призводить до їх незворотного пошкодження. Штами  $cagA^+$  сприяють розвитку інтенсивної клітинної відповіді: запаленню

слизової оболонки, підвищують продукцію цитокінів, сприяють клітинній проліферації та загибелі клітин. На сьогоднішній день вважають, що ген  $cagA$  бере участь у ремоделюванні тканин, ангиогенезі, зруйнуванні структури міжклітинного матриксу та базальної мембрани [1,7,15,16]. Вакуолізуючий цитотоксин-асоційований ген (Vacuolating cytotoxin-associated gene –  $vacA$ ) кодує синтез цитотоксину  $vacA$ , якому відводиться значна роль у розвитку патологічного процесу в слизовій оболонці шлунка. Крім вакуолізації клітин шлункового епітелію, протеїн  $vacA$  надає шкідливий вплив на мітохондральний апарат клітини, знижуючи рівень АТФ, зменшує стійкість епітеліальних клітин в умовах оксидативного стресу, дезорганізує їх цитоскелетну архітектоніку, стимулює апоптоз, інгібує клітинну проліферацію [11,12].

**Метою роботи** стало дослідити вміст біохімічних маркерів апоптозу та епідермального фактора росту в крові при гастродуоденопатіях, індукованих нестероїдними протизапальними препаратами, у хворих на остеоартроз залежно від наявності патогенних штамів *Helicobacter pylori*.

**Матеріали та методи.** Для досягнення поставленої мети обстежено 68 хворих на ОА із супутніми *Helicobacter pylori* – асоційованими ГДП, індукованими НПЗП. Розподіл хворих на групи здійснювався залежно від наявності штамів Hр $vacA$  та  $cagA$ .

I групу склали 25 хворих на ОА із супутніми НПЗП-індукованими ГДП, інфікованих Hр із штамом  $cagA^+/vacA^+$ . До II групи увійшли 23 пацієнта на ОА із супутніми НПЗП-індукованими ГДП, інфікованих Hр патогенним штамом  $cagA^+/vacA^-$ , III групу склали 20 осіб із зазначеною патологією, Hр патогенний та ультрогенний штам  $cagA^+/vacA^+$ .

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

Всім хворим для діагностики ГДП було проведено фіброгастродуоденоскопію з прицільною біопсією за загальноприйнятою методикою за допомогою фіброгастродуоденоскопа «Olimpus». Наявність Hр визначали шляхом інвазивної експрес-діагностики інфекції за уреазною активністю біоптату, отриманого під час ендоскопічного дослідження за допомогою діагностичних наборів ХЕЛШЛ®-тест («АМА», Санкт-Петербург) та за допомогою імунохроматографічного тесту на виявлення антигенів Hр у зразках фекалій

(CerTestBiotec, S.L., Іспанія, «Фармаско»). Визначали штами Нр в калі, крові та біоптатах методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) на аналізаторі УНІПЛАН (АІФР-01) (ПІКОН, ЗАО, Росія) досліджували вміст епідермального фактора росту (ЕФР) у плазмі крові (набір реактивів Human EGF (Hu EGF) ELISA Biosource, Бельгія), фактор некрозу пухлин альфа у сироватці крові (ФНП-α) за допомогою набору реактивів «ІФА-TNF-alpha» (Росія). Методом ІФА визначали sAPO-1/Fas в сироватці крові (реактиви Bender Med Systems, Австрія).

**Результати дослідження та обговорення:** Аналіз отриманих даних показав, що у хворих на ОА із супутніми ГДП, індукованими НПЗП, спостерігається дисбаланс у системі фізіологічних інгібіторів та індукторів апоптозу (табл.1). ФНП-α – прозапальний цитокін, відносять до основних фізіологічних індукторів апоптозу. У нормі ФНП-α відіграє роль імунорегуляторного медіатора, бере участь у процесах апоптозу. При запаленні ФНП-α проявляє себе як

активний прозапальний агент. Підвищення рівня ФНП-α, як правило, свідчить про пошкодження та запалення. ФНП-α здатний викликати апоптоз шляхом утворення вільних радикалів, сповільнюючи процеси загоєння. ФНП-α володіє пірогенністю, активує запальні процеси клітини, синтез білків гострої фази, стимулює експресію молекул адгезії. Літературні дані свідчать про безпосередню клітинну деструкцію під впливом ФНП-α, внаслідок якої розвивається апоптоз і настає загибель клітинмішеної [3,6,9]. Так, у хворих III групи ФНП-α зростає у 4,03 рази ( $p < 0,05$ ), а у хворих II і I груп ФНП-α достовірно збільшувався відповідно у 2,72 та 2,08 рази у порівнянні із практично здоровими особами. У осіб II групи ФНП-α був у 1,3 рази достовірно вище, ніж у пацієнтів I групи, а у осіб III групи ФНП-α був а 1,48 рази вище ( $p < 0,05$ ), ніж у пацієнтів II групи. У хворих із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами ФНП-α достовірно був вище у 1,94 рази порівняно із пацієнтами із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами.

**Таблиця 1.** Вміст ФНП-α, ЕФР та sAPO-1/Fas при гастродуоденопатіях, спричинених нестероїдними протизапальними препаратами, у хворих на остеоартроз, залежно від наявності патогенних штамів *Helicobacter pylori* (M ± m)

Показники, що вивчалися	Нр $sagA^+/vacA^+$ (група I) n = 25	Нр $sagA^+/vacA^-$ (група II) n = 23	Нр $sagA^+/vacA^+$ (група III) n = 20	ПЗО (група IV) n = 30
ФНП-α, пг/мл	16,70 ± 0,98*	21,78 ± 0,70***	32,33 ± 1,38***	8,02 ± 0,73
sAPO-1/Fas, пг/мл	87,97 ± 6,82*	41,84 ± 5,72***	26,10 ± 6,45***	244,16 ± 36,35
ЕФР, пг/мл	174,00 ± 25,68	162,90 ± 23,08***	260,48 ± 31,71***	62,98 ± 13,46

**Примітка:** n – абсолютна кількість хворих \* –  $p < 0,05$  – рівень вірогідності розбіжності порівняно із здоровими особами; \*\* –  $p < 0,05$  – рівень вірогідності розбіжності між II і III групами; \*\*\* –  $p < 0,05$  – рівень вірогідності розбіжності між I і II групами; \*\*\*\* –  $p < 0,05$  – рівень вірогідності розбіжності між I і III групами.

Вміст ЕФР в плазмі крові у обстежених I групи був вище у 2,76 рази, у пацієнтів II групи відповідно у 2,59 рази, а у осіб III групи – у 4,13 рази порівняно із групою практично здорових осіб. У хворих із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами вміст ЕФР достовірно був вище у 1,59 рази порівняно із пацієнтами із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^-$  та у 1,49 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно із хворими Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами. ЕФР відноситься до інгібіторів апоптозу, що стимулює проліферацію клітин і міграцію, репарацію тканин, стимулює синтез ПГ, збільшує секрецію слизу та інгібує кислотопродукуючу секрецію шлунка. Проліферація відіграє важливу роль в підтриманні цілісності слизової оболонки шлунка [13]. Літературні дані свідчать, що інфекція Нр порушує баланс між проліферацією клітин слизової оболонки шлунка та процесами апоптозу, також впливаючи на епідермальний фактор росту [10].

Антиген CD 95/Fas/APO-1 трансмембранний глікопротеїд, насичений цистеїном, є членом сімейства фактора некрозу пухлин. Він вступає у взаємодію із лігандом Fas або із моноклональними антитілами проти Fas, відбувається активація каспазного каскаду, індукується Fas-опосередкований апоптоз. Розчинна форма APO-1/Fas утворюється в результаті протеолізу мембранної форми та інгібує Fas-опосередкований апоптоз, зв'язуючись із Fas-лігандом, конкуруючи із мембранною формою Fas [4]. На основі отриманих

даних, можна стверджувати про збільшення інтенсивності процесів апоптозу при ГДП, спричинених НПЗП, у хворих на ОА, що підтверджується зниженням sAPO-1/Fas. У хворих I, II та III груп вміст sAPO-1/Fas знижувався відповідно у 2,78 ( $p < 0,05$ ), у 5,84 ( $p < 0,05$ ) та у 9,35 рази ( $p < 0,05$ ), у порівнянні із IV групою. У хворих із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами вміст sAPO-1/Fas був нижче у 1,60 рази порівняно із пацієнтами із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^-$  та у 3,38 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно із хворими Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами. У хворих із Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^-$  зазначений показник зменшувався у 2,10 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно із хворими Нр-позитивними  $sagA^+/vacA^+$  штамами.

**Висновки:** 1. При *Helicobacter pylori*-асоційованих гастродуоденопатіях, індукованих нестероїдними протизапальними препаратами, у хворих на остеоартроз спостерігається підвищення ФНП-α, значне зниження sAPO-1/Fas та компенсаторне зростання ЕФР, що може свідчити про підсилення апоптозу та активацію проліферативних процесів у слизовій оболонці.

2. Наявність гелікобактерної інфекції із патогенним та ульцерогенним штамом  $sagA^+/vacA^+$  при гастродуоденопатіях, спричинених нестероїдними протизапальними препаратами, у хворих на остеоартроз сприяє істотнішим змінам процесів проліферації та апоптозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аникеенок М.О. Обнаружение генотоксичности *Helicobacter pylori* ΔРАІ методом ДНК-комтет / М.О. Аникеенок, О.Н. Ильинская // Цитология. – 2008. – Т.50., №11. – С.1005-1008.
2. Балабеков А.В. Полиферация и апоптоз при *H.Pylori*-ассоциированном хроническом атрофическом гастрите с метаплазией эпителия / А.В. Балабеков, В.Д. Пасечников, С.З. Чуков // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. - №6 (111). – 93-97.
3. Компанієць К.М. Оцінка впливу еспаліпону на цитокіновий профіль крові у хворих з хронічним некалькульозним холециститом на фоні хелікобактеріозу у сполученні з ішемічною хворобою серця / К.М. Компанієць // Перспективи медицини та біології. — 2011. — Т. III, № 1. — С. 55-58.
4. Петрищев Н.Н. Клеточные и гуморальные маркеры апоптоза при остром коронарном синдроме / Н.Н. Петрищев, Л.В. Васина // Патология. – 2008. – Т5., №3. – С.94.
5. Поворознюк В.В. Селективный ингибитор ЦОГ-2 (Мелоксикам) в терапии остеоартроза коленных суставов / В.В. Поворознюк, М.А. Быстрицкая // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2011. - №4. - С.38–43.
6. Поликарпова А.В. Влияние ІL-2 на цитокиновый профиль и уровень гормонов в сыворотке крови морских свинок / А.В. Поликарпова, Т.В. Горбач // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. — 2009. — Серія «Біологія». — Вип. 9, № 856. — С. 39-43.
7. Титов С.Е. Возможности ПЦР с детекцией в реальном времени в лабораторной диагностике инфекции *Helicobacter pylori* / С.Е. Титов, Г.В. Панасюк, М.К. Иванов // Новости «Вектор-Бест». – 2009. - №3 (53). – С.2-8.
8. Bao Q. Apoptosome: a platform for the activation of initiator caspases / Q. Bao, Y. Shi // Cell Death Differ. - 2007. – Vol.14 (1). – P.56-65.
9. Bradley J.R. TNF-mediator inflammatory disease / J.R. Bradley // J. Pathol. — 2008. — Vol. 214. — P. 291-300.
10. Epidermal growth factor receptor activation protects gastric epithelial cells from *Helicobacter pylori*-induced apoptosis / F. Yan, H. Cao, R. Chaturvedi [et al.] //Gastroenterology. – 2009. – Vol. 136 (4). – P.1297-1307.
11. Essawi T. Determination of *Helicobacter pylori* Virulence Genes in Gastric Biopsies by PCR [Електронний ресурс] / Т. Essawi, W. Hammoudeh, I. Sabri // ISRN Gastroenterol.. – 2013. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/606258/>.
12. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *CagA* / R.H. Argent, R.J. Thomas, D.P. Letley [etal.] // J. Med. Microbiol. — 2008. — Vol. 57 (Pt. 2). — P. 145-150.
13. Healing Potential of *Picrorhizakurroa* (Scrofulariaceae) rhizomes against indomethacin-induced gastric ulceration: a mechanistic exploration / Debashish Banerjee, Biswanath Maity, Subrata K Nag [et al.] //BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2008. – Vol.8. – P.3.
14. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines / W. Zhang, R.W. Moskowitz, G. Nuki [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2008. – Vol.16(2). – P.137–162.
15. Prevalence of *H. Pylori* strains harbouring *cagA* and *iceA* virulence genes in Saudi patients with gastritis and peptic ulcer disease [Електронний ресурс] / [H. Roqayah, Eman M. Halawani, Hayam S. Abdelkader et al.] // Microbiology Discovery. – 2014. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.hoajonline.com/journals/pdf/2052-6180-2-2.pdf?doi=10.7243/2052-6180-2-2>.
16. Shadrin O.G. *Helicobacter pylori* in children: current approaches to diagnosis and ways to optimize therapy / O.G. Shadrin, N.E. Zaitseva, T.A. Garynycheva // Contemporary Pediatrics. – 2014. – Vol. 5, № 61. – P. 119-127.

REFERENCES

1. Anikeenok M.O. Obnaruzhenie genotoxicity *Helicobacter pylori* ΔРА I by the method of DNAkomtet/ М.О. Anikeenok, О.Н. Іl'inskaya // Citologiya. – 2008. – Т.50. №11. – P.1005-1008.
2. Balabekov A.V. Proliferation and apoptosis in *H.Pylori*-associated chronic atrophic gastritis with epithelial metaplasia / A.V. Balabekov, V.D. Pasechnikov, S.Z. Chukov// Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. – 2009. - №6 (111). – 93-97.
3. Kompaniets K.N. Assessment of influencing of espalipon on the cytokine's type of blood at patients with chronic uncalculosis cholecystitis on a background helicobacteriosis in combination with ischemic heart disease / K.N. Kompaniets// Perspektivi medicine ta biologii.— 2011. — Т. III, № 1. — P. 55-58.
4. Petrishchev N.N. Cellular and humoral markers of apoptosis in acute coronary syndrome / N.N. Petrishchev, L.V. Vasina // Patologiya. – 2008. – Т5., №3. – P.94.
5. Povoroznyuk V.V. Selective COX-2 inhibitor (Meloxicam) in the treatment of osteoarthritis of the knee / V.V. Povoroznyuk, M.A. Bystrickaya //Bol'. Sustavy. Pozvonochnik. – 2011. - №4. - P.38–43.
6. Polikarpova A.V. IL-2 influence on the cytokine profile and hormones level in guinea pigs blood serum /A.V. Polikarpova, T.V. Gorbach // Вісник Harkivskogo nacional'nogo universitetu imeni V.N. Karazina. — 2009. — Seriya «Biologiya». — Vip. 9, № 856. — P. 39-43.
7. Titov S.E. PCR detection capabilities in real time in the laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* infection / S.E. Titov, G.V. Panasyuk, M.K. Ivanov // Novosti «Vektor-Best». – 2009. - №3 (53). – P.2-8.
8. Bao Q. Apoptosome: a platform for the activation of initiator caspases / Q. Bao, Y. Shi // Cell Death Differ. - 2007. – Vol.14 (1). – P.56-65.
9. Bradley J.R. TNF-mediator inflammatory disease / J.R. Bradley // J. Pathol. — 2008. — Vol. 214. — P. 291-300.
10. Epidermal growth factor receptor activation protects gastric epithelial cells from *Helicobacter pylori*-induced apoptosis / F. Yan, H. Cao, R. Chaturvedi [et al.] //Gastroenterology. – 2009. – Vol. 136 (4). – P.1297-1307.
11. Essawi T. Determination of *Helicobacter pylori* Virulence Genes in Gastric Biopsies by PCR [Elektronnij resurs] / T. Essawi, W. Hammoudeh, I. Sabri // ISRN Gastroenterol.. – 2013. – Rezhim dostupu do resursu: <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/606258/>.
12. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *CagA* / R.H. Argent, R.J. Thomas, D.P. Letley [etal.] // J. Med. Microbiol. — 2008. — Vol. 57 (Pt. 2). — P. 145-150.
13. Healing Potential of *Picrorhizakurroa* (Scrofulariaceae) rhizomes against indomethacin-induced gastric ulceration: a mechanistic exploration / Debashish Banerjee, Biswanath Maity, Subrata K Nag [et al.] //BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2008. – Vol.8. – P.3.
14. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines / W. Zhang, R.W. Moskowitz, G.

- Nuki[et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2008. – Vol.16(2). – P.137–162. <http://www.hoajonline.com/journals/pdf/2052-6180-2-2.pdf?doi:10.7243/2052-6180-2-2>.
15. Prevalence of *H. pylori* strains harbouring *cagA* and *vacA* virulence genes in Saudi patients with gastritis and peptic ulcer disease [Elektronij resurs] / [H. Roqayah, Eman M. Halawani, Hayam S. Abdelkader та ин.] // Microbiology Discovery. – 2014. – Rezhim dostupu do resursa:
16. Shadrin O.G. Helicobacter pylori in children: current approaches to diagnosis and ways to optimize therapy / O.G. Shadrin, N.E. Zaitseva, T.A. Garynycheva // Contemporary Pediatrics. – 2014. – Vol. 5, № 61. – P. 119-127.

**The processes of apoptosis and proliferation of gastroduodenopathies induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, in patients with osteoarthritis, taking into account the pathogenic *Helicobacter pylori* strains**

**Honcharuk L. M.**

**Abstract.** The paper studied the processes of proliferation and apoptosis in Helicobacter-associated Helicobacter pylori-associated gastroduodenopathies induced by usage of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in patients with osteoarthritis. It was found that patients with pathogenic and ulcerative strains of Helicobacter pylori *cagA*<sup>+</sup>/*vacA*<sup>+</sup> demonstrated significant substantial increase in TNF- $\alpha$  levels, significant reduction sAPO-1/Fas levels and compensatory increase of epidermal growth factor levels comparing to patients with Helicobacter pylori strains *cagA*<sup>-</sup>/*vacA*<sup>+</sup> and strains *cagA*<sup>+</sup>/*vacA*<sup>-</sup>.

**Keywords:** Osteoarthritis, gastroduodenopathy induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, pathogenesis, *Helicobacter pylori*.

**Процессы апоптоза и пролиферации при гастродуоденопатиях, индуцированных нестероидными противовоспалительными препаратами, у больных остеоартрозом с учетом патогенных штаммов *Helicobacter pylori***

**Л. М. Гончарук**

**Аннотация.** В работе изучено процессы пролиферации и апоптоза при геликобактерно-ассоциированных гастродуоденопатиях, индуцированных нестероидными противовоспалительными препаратами, у больных остеоартрозом. Установлено у больных с патогенным и язвенным штаммом *Helicobacter pylori cagA*<sup>+</sup>/*vacA*<sup>+</sup> существенное повышение ФНП- $\alpha$ , значительное понижение sAPO-1/Fas и компенсаторное повышение ЕФР, в сравнении с обследованными пациентами с *Helicobacter pylori* штаммом *cagA*<sup>-</sup>/*vacA*<sup>+</sup> и штаммом *cagA*<sup>+</sup>/*vacA*<sup>-</sup>.

**Ключевые слова:** остеоартроз, нестероидные противовоспалительные препараты, гастродуоденопатии, патогенез, *Helicobacter pylori*.