

Т. М. Пасієшвілі

АКТИВНІСТЬ КАСПАЗИ-1 ТА ФЕРМЕНТІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ОСІБ МОЛОДОГО ВІКУ З КОМОРБІДНІСТЮ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОЇ РЕФЛЮКСНОЇ ХВОРОБИ ТА АВТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ

Харківський національний медичний університет

Summary. Pasiieshvili T. M. **THE ACTIVITY OF CASPASE-1 AND ENZYMES OF THE GLUTATHIONE LINK OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN YOUNG PERSONSE WITH COMORBIDITY OF GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE AND AUTOIMMUNE THYROIDITIS.** – *National Medical University, Kharkov, Ukraine; e-mail: pasotoma2017@gmail.com.* The aim: to determine the content of caspase-1, the state and role of gastrointestinal enzymes of the second phase of biotransformation of xenobiotics (glutathione peroxidase, glutathione reductase and reduced glutathione) in young patients with gastroesophageal reflux disease (GERD) and autoimmune thyroiditis (AIT). 165 students with GERD were examined. In 120 cases GERD was proceeded against the background of AIT. In patients of both groups there was an increase in the synthesis of caspase-1 as a result of the development of an inflammatory process in the mucous membrane of the esophagus and suppression of the activity of enzymes of the glutathione link of the antioxidant system. The content of these indicators can be used as biochemical markers of the effectiveness of therapeutic measures.

Key words: gastroesophageal reflux disease, autoimmune thyroiditis, pathogenesis, caspase-1, antioxidant system.

Реферат. Пасієшвілі Т. М. **АКТИВНОСТЬ КАСПАЗЫ-1 И ФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА С КОМОРБИДНОСТЬЮ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ И АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА.** Цель работы: определить содержание каспазы-1, состояние и роль гастроинтестинальных ферментов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и восстановленного глутатиона) у больных молодого возраста с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) и аутоиммунным тиреоидитом (АИТ). Обследовано 165 студентов с ГЭРБ. В 120 случаях ГЭРБ протекала на фоне АИТ. Установлено, что у пациентов обеих групп происходило увеличение синтеза каспазы-1 в результате развития воспалительного процесса в слизистой оболочке пищевода и подавление активности ферментов глутатионного звена антиоксидантной системы. Содержание указанных показателей можно использовать в качестве биохимических маркеров эффективности лечебных мероприятий.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, аутоиммунный тиреоидит, патогенез, каспаза-1, антиоксидантная система.

Реферат. Пасієшвілі Т. М. **АКТИВНІСТЬ КАСПАЗИ-1 ТА ФЕРМЕНТІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ОСІБ МОЛОДОГО ВІКУ З КОМОРБІДНІСТЮ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОЇ РЕФЛЮКСНОЇ ХВОРОБИ ТА АВТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ.** **Мета роботи:** визначити вміст каспази-1, стан та роль гастроінтестинальних ферментів другої фази біотрансформації ксенобіотиків: глутатионпероксидази, глутатионредуктази та відновленого глутатиону у хворих молодого віку з гастроэзофагеальною рефлюксною хворобою (ГЕРХ) та аутоімунним тиреоїдитом

© Пасієшвілі Т. М.

(АИТ). Обстежено 165 студентів із ГЕРХ, яка у 120 випадках перебігала на тлі АИТ. Встановлено, що у хворих обох груп відбувалося збільшення синтезу каспази-1 внаслідок розвитку запального процесу у слизовій оболонці стравоходу та пригнічення активності ферментів глутатионової ланки антиоксидантної системи. Вміст означених показників можна використовувати в якості біохімічних маркерів ефективності лікувальних заходів.

Ключові слова: гастроэзофагеальна рефлюксна хвороба, аутоімунний тиреоїдит, патогенез, каспаза-1, антиоксидантна система.

На теперішній час у великих містах нашої країни сформувався прошарок суспільства - студентство – особи молодого віку з несприятливою тенденцією до виникнення великої кількості захворювань внутрішніх органів. Їх формування пов'язують з предикторами, серед яких розглядають: велику скупченість молоді, хронічний стрес, порушення часу прийому та якості їжі, ненормований робочий день та неділю, розумові

навантаження тощо [1, 2]. Так, серед хвороб внутрішніх органів у таких осіб доволі часто зустрічаються гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ) та автоімунний тиреоїдит (АІТ). За статистичними викладками ГЕРХ є найпоширенішим кислото залежним захворюванням шлунково-кишкового тракту та зустрічається у 20-40 % населення світу, та майже у 20 % залишається не діагностованим [3, 4]. Valmus I.M. та співавт. в своїй роботі показали, що більш ніж 40 % студентів відмічаються зміни в шлунково-кишкових проявах під час стресових періодів (заліки, екзамени) [5].

Наявність АІТ реєструється у 5-10 % та відзначається її постійне зростання, особливо серед дітей та молоді [6]. Початок автоімунних захворювань також доволі часто реєструється у дітей та підлітків, чому сприяють генетична схильність, порушення формування імунної системи на тлі частих вірусних захворювань; скупченість молоді у великих колективах; лікування несвоєчасне лікування «застудних захворювань», або його раннє переривання. Усі ці проблеми часто відбуваються на фоні формування ендокринної системи, зокрема, статевого визрівання [7].

Активна фаза ГЕРХ та АІТ супроводжується ініціацією антиоксидантного захисту - складної системи ферментативних і неферментативних компонентів, основною функцією якої є детоксикація продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів (ВРОЛ) [8].

В організмі існує чотири лінії антиоксидантного захисту (АОЗ). Єдина система в організмі, яка бере участь в трьох лініях захисту з чотирьох є глутатіонова, яка складається з відновленого глутатіону та комплексу ферментів - глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази і глутатіонредуктази [9]. Включення антиоксидантного захисту при захворюваннях запальної природи відбувається одночасно з активацією прозапальної ланки імунитету. Підвищення синтезу прозапальних цитокінів у вогнищі ураження починається з посилення синтезу каспази-1 – попередника і активатора усіх цитокінів із прозапальним ефектом [10].

Розвиток захворювань внутрішніх органів і, зокрема, ГЕРХ та АІТ, посилює навантаження на антиоксидантну систему (АОС), що призводить до формування оксидативного стресу [11]. Контроль за змінами в системі ВРОЛ-АОЗ дозволить не тільки визначити перебіг патології, але й вирішити питання щодо використання антиоксидантної терапії.

Мета дослідження: визначити вміст каспази-1, стан та роль гастроінтестинальних ферментів другої фази біотрансформації ксенобіотиків (глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та відновленого глутатіону) у хворих молодого віку з ГЕРХ та АІТ.

Матеріали та методи. До дослідження було включено 165 пацієнтів з ГЕРХ, що була встановлена у студентів вищих навчальних закладів міста Харкова, які звернулися до спеціалізованого студентського медичного закладу (МКЛ №20). Анамнез захворювань не перевищував трьох років. Діагноз ГЕРХ встановлювали відповідно до рекомендацій Монреальського консенсусу (2006) на підставі наявності у пацієнтів характерних клінічних симптомів і результатів ендоскопічного дослідження стравоходу. Морфологічний діагноз захворювання узгоджували з рекомендаціями Лос-Анджелеської класифікації.

У 120 пацієнтів відзначалось сполучення ГЕРХ та АІТ (основна група). Підставою до встановлення автоімунного ураження щитовидної залози (ЩЗ) була наявність антитіл до тиреопероксидази та тиреоглобуліну, які у 3,6 та 4,5 рази відповідно перевищували контрольні показники. Функцію ЩЗ оцінювали за вмістом тиреотропного гормону, тироксину і трийодтироніну, що дозволило встановити еутиреоїдний стан. Клінічний діагноз узгоджували з рекомендаціями «Протоколу ведення хворих з АІТ».

Вік досліджених не перевищував 25 років; середній вік в групі з поєднаним перебігом складав $21,9 \pm 2,7$ років; серед пацієнтів переважали жінки 93 (77,5 %).

У 45 випадках ГЕРХ була самостійною патологією; контингент обстежених, який увійшов до групи порівняння, за всіма основними параметрами відповідав основній групі.

Результати контрольних показників були отримані у 20 практично здорових осіб аналогічної статі, віку і соціального статусу.

Активність каспази-1, глутатіонпероксидази (ГПО) глутатіонредуктази (ГТр) і відновленого глутатіону (ГТв) досліджували імуноферментним методом з використанням комерційної тест-системи виробництва фірми «Elabscience» (ELISA, США) відповідно до доданої до набору інструкції.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета програм Statistica Basic Academic 13 for Windows En локальна.

Результати та їх обговорення. За даними анкетування хворих з використанням міжнародного стандартизованого опитувальника GerdQ, перебіг ГЕРХ на тлі АІТ супроводжувався достовірним перерозподілом у бік збільшення частоти виникнення печії, розладів сну, які обумовлені нічними епізодами печії, та, як наслідок, застосування додаткових медичних препаратів для полегшення симптомів. Так, за умов наявності АІТ печія виникала 4-7 разів на тиждень у 77,5 % хворих проти 60 % у пацієнтів з ізольованою ГЕРХ; нічні епізоди печії з розладами сну - у 65 % та 31,1 % відповідно, необхідність застосування додаткових медичних препаратів для полегшення симптомів – у 43,3 % та 20 % хворих відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл частоти основних проявів ГЕРХ за даними опитувальника GERD-Q, n, %

Показник		ГЕРХ та АІТ (n=120)				ГЕРХ (n=45)				Вірогідність різниці*
		0 днів	1 день	2-3 дні	4-7 днів	0 днів	1 день	2-3 дні	4-7 днів	
Печія	n	0	0	27	93	0	0	18	27	$\chi^2=5,053$ p=0,025
	%	0	0	22,5	77,5	0	0	40	60	
Регургітація	n	11	35	43	31	7	5	19	14	$\chi^2=6,315$ p=0,098
	%	9,2	29,2	35,8	25,8	15,6	11,1	42,2	31,1	
Епігастраль-ний біль	n	101	11	8	0	39	5	1	0	$\chi^2=1,337$ p=0,513
	%	84,2	9,2	6,6	0	86,7	11,1	2,2	0	
Нудота	n	106	8	5	1	41	2	1	1	$\chi^2=1,156$ p=0,764
	%	88,3	6,7	4,2	0,8	91,1	4,5	2,2	2,2	
Розлади сну	n	3	8	31	78	4	8	19	14	$\chi^2=16,975$ p<0,001
	%	2,5	6,7	25,8	65	8,9	17,8	42,2	31,1	
Додаткові ліки	n	6	9	53	52	8	7	21	9	$\chi^2=13,353$ p=0,04
	%	5,0	7,5	44,2	43,3	17,8	15,6	46,6	20,0	

Примітка: * - p < 0,05 - різниця є статистично достовірною між групами

Наявність активного запального процесу при коморбідності ГЕРХ та АІТ була підтверджена при дослідженні активності каспази-1. Так, вміст даного цитокіну у осіб ізольованих перебіг ГЕРХ дорівнював 1238,901 (921,3211; 1478,45) пг/мл та вірогідно відрізнявся від показника норми (510,7821 (311,8725; 618,3146) пг/мл) (U=67, p<0,01). У хворих з сукупним перебігом ГЕРХ та АІТ даний показник становив 1394,284 (1155,198; 1517,132) пг/мл, та вірогідно відрізнявся при порівнянні з групою контролю (U=102,5, p<0,01). Між групами з ГЕРХ та АІТ та з ізольованим ГЕРХ статистично значущої відмінності не знайдено (U=2207, p=0,071265) (Рис. 1).

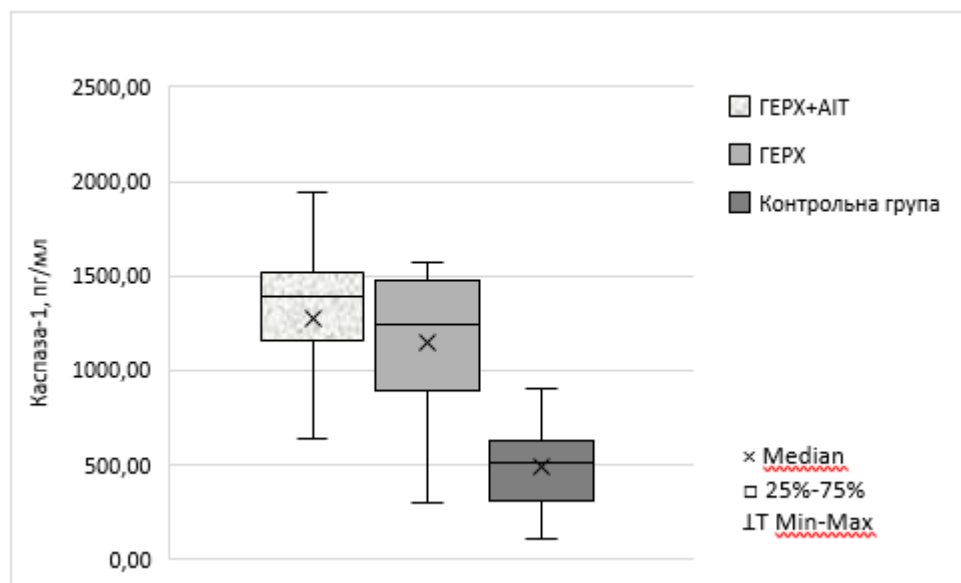


Рис. 1. Розподіл рівня каспази-1 у групах обстежених пацієнтів

Також в ході проведеного дослідження було встановлено, що в осіб молодого віку з ГЕРХ та АІТ відбуваються зміни в показниках активності ферментів другої фази АОС, а саме, спостерігається зниження активності ферментів глутатіонової ланки відносно контрольної групи (табл.2).

Таблиця 2

Показники глутатіонової ланки антиоксидантної системи у хворих з ГЕРХ та АІТ

Пацієнти/ показники	ГТв, мкмоль/г Нв	ГПО, МЕ/г Нв	ГТр, мкмоль НАДФН/г Нв
Контроль	1,913 (1,485; 2,55)	18,753 (16,023; 19,8)	1,875 (1,845; 1,984)
ГЕРХ+АІТ	1,2 (1,05; 1,35)	13,32 (11,1; 14,8)	1,31 (1,15; 1,367)
ГЕРХ	1,62 (1,485; 1,8)	14,82 (13,3; 15,58)	1,533 (1,444; 1,6)
Достовірність	U ₁₋₂ =1557, p ₁₋₂ <0,01	U ₁₋₂ =248, p ₁₋₂ <0,01	U ₁₋₂ =0,00, p ₁₋₂ <0,01

між групами	U ₂₋₃ = 1405, p ₂₋₃ <0,01	U ₂₋₃ = 1990, p ₂₋₃ <0,01	U ₂₋₃ =379, p ₂₋₃ <0,01
-------------	---	---	---

Примітка: U₁₋₂, p₁₋₂ - різниця між групою ГЕРХ + АІТ і контрольної групи;

U₂₋₃, p₂₋₃ - різниця між групою ГЕРХ + АІТ і ізольованою групою ГЕРХ

Наявність змін в показниках ферментної системи глутатіонів можна пояснити тим, що накопичення продуктів ВРОЛ у сироватці крові відбувається у доволі великому обсязі через молодий вік хворих (гіперреактивний тип нервової системи), що потребує значного напруження системи для утримання дії токсичних продуктів [12].

Так, встановлено зниження активності ферменту глутатіонредуктази, який приймає участь у перетворенні окисленої форми глутатіону у відновну. Це можна пояснити тим, що в умовах окислювального стресу інгібується один із ферментів гексозо-монофосфатного шунту глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, який постачає відновлені коферменти НАДФН2 для регенерації глутатіону під впливом глутатіонредуктази, або, можливо, відбувається безпосереднє інгібування ГТр активними кисневими метаболітами [13]. Тобто, незважаючи на пригнічення синтезу глутатіонів, система АОЗ контролює накопичення активних форм кисню та інших токсичних речовин, що підтверджується позитивною клінічною динамікою в процесі лікування.

Як відомо, процеси вільнорадикального окиснення ліпідів супроводжуються накопиченням надлишку перекису водню, який, в свою чергу, призводить до зниження активності загальної АОС. Надлишок перекису водню викликає ушкодження у молекулі ДНК, володіє цитотоксичною дією, інактивує ряд ферментів гліколізу, порушує фізичні властивості цитоплазматичних мембран [13]. З іншого боку, збільшення кількості H₂O₂ сприяє розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій, які забезпечують формування ендотелінезалежної вазодилатації та спрямовано на поліпшення процесів циркуляції, тому що перекис водню є фактором гіперполяризації ендотеліоцитів [12]. Таким чином, згідно отриманих даних при поєднанні ГЕРХ та АІТ до процесу залучаються дві системи організму: імунна через активацію прозапальної ланки цитокінів через каспазу-1, та АОС – через систему глутатіонів.

Висновки:

Поєднаному перебігу ГЕРХ та АІТ у осіб молодого віку притаманне збільшення синтезу каспази-1 – прозапального цитокіну, вміст якого дозволяє підтвердити та контролювати активний запальний процес.

У студентському середовищі з поєднанням ГЕРХ і АІТ реєструються зміни в показниках глутатіонової ланки антиоксидантної системи, які характеризуються зниженням активності її основних ферментів – глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та відновленого глутатіону, що є результатом наявності активних кисневих метаболітів та процесу детоксикації ксенобіотиків.

Література/References:

1. Nirwan JS, Hasan SS, Babar ZU, Conway BR, Ghori MU. Global Prevalence and Risk Factors of Gastro-oesophageal Reflux Disease (GORD): Systematic Review with Meta-analysis. *Sci Rep.* 2020 Apr 2;10(1):5814. doi: 10.1038/s41598-020-62795-1.
2. Pasiieshvili TM. Vegetative reactivity and vegetative supply in different variants of gastroesophageal reflux disease in young patients with autoimmune inflammation. *Actual problems of modern medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy.* 2020;20(1):115–119. doi.org/10.31718/2077-1096.20.1.115. [In Ukrainian].
3. Savarino E., de Bortoli N., De Cassan C. et al. The natural history of gastro-esophageal reflux disease: a comprehensive review. *Dis Esophagus.* 2017;30(2):1–9. doi: 10.1111/dote.12511.
4. El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC et al. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut.* 2014;63:871-880. doi: 10.1136/gutjnl-2012-304269.
5. Balmus IM, Robea M, Ciobica A, Timofte D. Perceived stress and gastrointestinal habits in college students. *Acta Endocrinol (Buchar).* 2019;15(2):274-275. doi:10.4183/aeb.2019.274
6. Halawani HM, Ali Naji AN, M Alahmari MS et al. A Literature Review on the Incidence of Autoimmune Thyroid Diseases. *EC Endocrinology and Metabolic Research.* 2017;1(1):10-18.
7. Aversa T, Corica D, Zirilli G, et al. Phenotypic Expression of Autoimmunity in Children With Autoimmune Thyroid Disorders. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:476. doi: 10.3389/fendo.2019.00476.
8. Patlevič P, Vašková J, Švorc P, Vaško L, Švorc P. Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integrative Medicine Research.* 2016;5(4):250-258 doi.org/10.1016/j.imr.2016.07.004.
9. Kwon DH, Cha HJ, Lee H, et al. Protective Effect of Glutathione against Oxidative Stress-induced Cytotoxicity in RAW 264.7 Macrophages through Activating the Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor-2/Heme Oxygenase-1 Pathway. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(4):82. Published 2019 Apr 1. doi:10.3390/antiox8040082.
10. Lee DJ, Du F, Chen SW, et al. Regulation and Function of the Caspase-1 in an Inflammatory Microenvironment. *J Invest Dermatol.* 2015;135(8):2012-2020. doi:10.1038/jid.2015.119.
11. [Zuo L](#), [Prather ER](#), [Stetskiy M](#) et al. Inflammaging and Oxidative Stress in Human Diseases: From Molecular Mechanisms to Novel Treatments. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20(18), 4472; <https://doi.org/10.3390/ijms20184472>.

12. Ungvari Z, Tarantini S, Donato AJ, Galvan V, Csiszar A. Mechanisms of Vascular Aging. *Circ Res.* 2018;123(7):849-867. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.311378

13. Liguori I, Russo G, Curcio F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 2018;13:757-772. Published 2018 Apr 26. doi:10.2147/CIA.S158513

Робота надійшла в редакцію 27.08.2020 року.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування