

УДК 616.329-002:616.379-008.64]-08-035:575.113

О.І. Федів,**Ю.В. Коханюк,****Л.П. Сидорчук**Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ДИФЕРЕНЦІЙОВАНЕ ЛІКУВАННЯ
ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОЇ РЕФЛЮКСНОЇ
ХВОРОБИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ
ДІАБЕТ ТИПУ 2, ЗАЛЕЖНО ВІД
ГАПЛОТИПІВ ГЕНІВ ГЛУТАТІОН S-
ТРАНСФЕРАЗИ КЛАСІВ M1 ТА T1****Ключові слова:** гастроезофа-
геальна рефлюксна хвороба,
цукровий діабет типу 2, гени
глутатіон-S-трансферази класів
M1 та T1, пепсан, кверцетин.**Резюме.** У статті наведено дані щодо особливостей клінічної картини, морфологічних змін слизової оболонки стравоходу, окиснювальної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту, протеолітичної та фібринолітичної активностей крові, маркерів апоптозу у хворих на гастроезофагеальну рефлюксну хворобу та цукровий діабет типу 2, залежно від гаплотипів генів глутатіон-S-трансферази класів M1 та T1, в динаміці лікування. Встановлено, що одночасне застосування пепсану та кверцетину на тлі базисної терапії виявляє найбільш виражений терапевтичний вплив при зазначеній поєднаній патології, а особливо при GSTT1 + / GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0 гаплотипах.**Вступ**

Гени ферментів детоксикації II фази суперсімейства глутатіон-S-трансферази (GST), особливо класів GSTT1 і GSTM1, відіграють важливу роль у забезпеченні резистентності клітин до пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та впливу вільних радикалів на алкілування білків, запобіганні пошкодження ДНК [2], відповідальні за активність окиснювального стресу у патогенезі діабетичних ускладнень [9], можуть ініціювати канцерогенез [6, 8, 10], визначають пероксидазну активність щодо цитотоксичних метаболітів запальних реакцій [7].

Відомо, що збільшення концентрації активних форм кисню (АФК) та їх метаболітів спричиняють окиснювальну модифікацію білків (ОМБ), що призводить до зміни структурно-функціональних властивостей клітин. Паралельно спостерігається підвищення інтенсивності ПОЛ. Вплив руйнівної дії АФК у тканинах залежить від можливостей організму щодо мобілізації антиоксидантного захисту (АОЗ), який знижується за наявності "мутантного" D-алеля генів GSTM1 та GSTT1. Порушення АОЗ під впливом токсичної дії вільнорадикальних продуктів призводить до структурних і метаболічних порушень у клітинах з подальшим некрозом [1, 3].

Знаючи, що у випадку делеції функціональної зони генів GSTM1 та GSTT1 спостерігається підвищення концентрації АФК і підсилення внаслідок цього процесів ПОЛ та ОМБ, які в подальшому послаблюють регенераторні властивості слизової

оболонки стравоходу (СОС), необхідно модифікувати терапію гастроезофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ) шляхом включення до лікувального комплексу лікарських засобів з антиоксидантною дією [7, 11]. У зв'язку з цим актуальним є вивчення впливу пепсану та кверцетину на деякі патогенетичні механізми розвитку ГЕРХ на тлі цукрового діабету (ЦД) типу 2, з урахуванням поліморфізму генів [4, 5, 11, 12].

Мета дослідження.

Оцінити ефективність застосування пепсану та кверцетину в лікуванні хворих на ГЕРХ, поєднану з ЦД типу 2, на підставі вивчення патогенетичних механізмів її розвитку та генетичних чинників.

Матеріал і методи

У дослідженні брало участь 33 хворих на ГЕРХ у поєднанні з ЦД типу 2 віком від 41 до 67 років. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб (ПЗО) відповідного віку та статі.

ГЕРХ діагностували на підставі наявності скарг на печію, дисфагію, кисле зригування, даних ендоскопічного дослідження стравоходу та внутрішньостравохідного рН-моніторингу. Діагноз ЦД встановлювали згідно з "Протоколом надання медичної допомоги хворим на неускладнений цукровий діабет", затвердженим Наказом МОЗ України за № 356 від 22.05.2009 р. "Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Ендокринологія". Критерієм вик-

лючення з дослідження була наявність некомпенсованого ЦД з тяжким перебігом захворювання.

Відповідно до завдань дослідження пацієнтів розподілили на такі групи, залежно від гаплотипів аналізованих генів та проведеного лікування: I-у групу склали 21 хворий на ГЕРХ, поєднану з ЦД типу 2, з гаплотипами GSTM1+/GSTT1 + та GSTM1+/GSTT1 0/0, яка в свою чергу поділялася на 1-у підгрупу (10 пацієнтів) - отримували на тлі базисної терапії омепразолом (по 20 мг/добу) пепсан (по 1 капсулі 4 рази на добу) впродовж 28 днів, та 2-у підгрупу (11 обстежених) - додатково до стандартного лікування призначались пепсан (по 1 капсулі 4 рази на добу) та кверцетин (по 0,04 г на ? склянки води 2 рази на добу за 30 хвилин до їжі впродовж 28 днів); у II групу увійшло 12 пацієнтів з ГЕРХ на тлі ЦД типу 2 з гаплотипами GSTT1+/GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0/GSTM1 0/0, які також були розподілені на 3-ю підгрупу (6 хворих) - отримували на тлі базисної терапії омепразолом (по 20 мг/добу) пепсан (по 1 капсулі 4 рази на добу впродовж 28 днів) та 4-у підгрупу (6 осіб) - додатково до стандартного лікування отримували пепсан (по 1 капсулі 4 рази на добу) та кверцетин (по 0,04 г на 1/2 склянки води 2 рази на добу за 30 хвилин до їжі впродовж 28 днів).

Алелі поліморфних ділянок аналізованих генів вивчали один раз, після включення хворих у дослідження, шляхом виділення геномної ДНК із лейкоцитів периферичної крові, стандартним методом фенол-хлороформної екстракції з використанням протеїнази К відповідно до інструкції комплексу виділення РНК/ДНК (Росія) із наступною ампліфікацією поліморфної ділянки за допомогою ПЛР на програмованому ампліфікаторі "Amplify-4L" ("Віокон", Росія), з індивідуальною температурною програмою для обраних праймерів генів. Аналіз продуктів ампліфікації проводили шляхом розділення фрагментів ДНК у агарозному гелі, візуалізували за допомогою транслюмінатора за наявності маркера молекулярних мас (ММ) 100-1000 бр.

Гістологічне дослідження біоптатів СОС проводили, використовуючи забарвлення гематоксилін-еозином, на підставі чого визначали питомих об'єм кровеносного русла та міжклітинного матриксу стромы, відсоток слизистих клітин у ділянці метаплазії. Слизопродукуючі властивості різних структурних елементів СОС вивчали на основі кількісних параметрів оптичної густини PAS-позитивного забарвлення методом комп'ютерної мікроденситометрії. Гістохімічну оцінку ОМБ проводили методом комп'ютерної мікроспектрофотометрії із забарвленням гістологічних

зрізів бромфеноловим синім за методом Мікель-Кальво.

Процеси ОМБ вивчали за рівнем альдегід- і кетондинітрофенілгідразонів нейтрального характеру (АКДНФГ НХ) у плазмі крові за методикою Дубініної Е.Е. та співавт. (1995) в модифікації І.Ф. Мещишена (1998).

Продукти ПОЛ визначали за рівнем його кінцевого продукту - малонового альдегіду (МА) у плазмі (пл) та еритроцитах (ер) за Ю.А.Владимировим, А.І. Арчаковим (1972). Вміст у крові глутатіону відновленого (ГВ) досліджували за методом О.В. Травіної (1955) в модифікації І.Ф. Мещишена, І.В. Петрової (1983). Систему АОЗ вивчали за активністю: глутатіонпероксидази (ГП) - за І.Ф. Мещишеним (1982), глутатіон-S-трансферази (ГТ) - за І.Ф. Мещишеним (1987). Активність ферментів розраховували на 1 г гемоглобіну (Нв). Вміст у сироватці крові церулоплазміну (ЦП) визначали за методом Ревіна (1976).

Стан протеїназо-інгібіторної системи крові визначали за методом К.Н. Веремеєнко та ін. за лізісом азоальбуміну (ЛАА) (розпад низькомолекулярних білків) та вмістом α^2 -макроглобуліну (α^2 -МГ) ("Даниш Ltd.", Львів). Стан ферментативного та неферментативного фібринолізу у плазмі крові вивчали за допомогою набору реактивів фірми "Даниш Ltd." (Львів) за методиками Н.Тіца.

Статистична обробка даних проводилася за допомогою комп'ютерної програми "STATISTICA v.6.0 (StatSoftInc; 1984-1996) із застосуванням методів параметричної та непараметричної статистики. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Обговорення результатів дослідження

Аналізуючи динаміку клінічних проявів ГЕРХ у хворих на ЦД типу 2 (табл. 1), встановлено вірогідне зниження ($p < 0,05$) кількості обстежених 1-ої та 2-ої підгруп, яких турбувала печія, порівняно з даними до лікування. У пацієнтів 3-ої та 4-ої підгруп було відмічено лише тенденцію до зменшення чисельності осіб, які скаржилися на даний симптом. У цілому спостерігалася тенденція до зменшення частоти проявів кислого зригування, відрижки повітрям, відчуття кислоти у роті та осиплості голосу у всіх підгрупах хворих. В той же час, у хворих 2-ої підгрупи було більш виразне зниження частоти досліджуваних ознак.

Контрольне ендоскопічне дослідження через місяць після початку лікування в обстежених з гаплотипами GSTM1+/GSTT1+ та GSTM1+/GSTT1 0/0 показало повну ендоскопічну ремісію у

Таблиця 1

Поширеність симптомів гастроезофагеальної рефлюксної хвороби у хворих на цукровий діабет типу 2, залежно від гаплотипів генів GSTM1 та GSTT1 у динаміці лікування

Симптоми	Групи обстежених							
	I група, n=21				II група, n=12			
	1 підгрупа, n=10		2 підгрупа, n=11		3 підгрупа, n=6		4 підгрупа, n=6	
	до лік., n (%)	після лік., n (%)	до лік., n (%)	після лік., n (%)	до лік., n (%)	після лік., n (%)	до лік., n (%)	після лік., n (%)
Печія	9 (90%)	2 (20%)*	10 (90,9%)	1 (9,1%)*	5 (83,3%)	2 (33,3%)	5 (83,3%)	1 (16,7%)
Кисле зригування	5 (50%)	2 (20%)	5 (45,5%)	1 (9,1%)	3 (50%)	2 (33,3%)	3 (50%)	1 (16,7%)
Відрижка повітрям	7 (70%)	3 (30%)	8 (72,7%)	2 (18,2%)*	4 (66,7%)	3 (50%)	4 (66,7%)	2 (33,3%)
Відчуття кислоти у роті	6 (60%)	3 (30%)	5 (54,5%)	2 (18,2%)	4 (66,7%)	2 (33,3%)	3 (50%)	2 (33,3%)
Осиплість голосу	3 (30%)	1 (10%)	2 (18,2%)	0	1 (16,7%)	1 (16,7%)	1 (16,7%)	0

Примітка. * – різниця вірогідна між показниками до та після курсу лікування ($p < 0,05$)

80% хворих (8 осіб), які застосовували базисну терапію і пепсан, та у 100% пацієнтів (11 осіб), які використовували стандартне лікування з додаванням пепсану та кверцетину. Слід зазначити, що у обстежених з гаплотипами GSTT1+/GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0, які приймали лише базисну терапію і пепсан, епітелізація слизової оболонки стравоходу наступила лише у 50% хворих (3 осіб), а у пацієнтів, які використовували стандартне лікування з додаванням пепсану та кверцетину у 83,3% (5 осіб). У хворих, в яких зберігалися зміни СОС, лікування було продовжено ще протягом чотирьох тижнів у тій же дозі, після чого при контрольній ендоскопії зафіксоване повне загоєння СОС.

Результати впливу лікування на динаміку морфологічних змін ГЕРХ вказують на те, що у всіх підгрупах виявлена позитивна динаміка (табл. 2), а саме: відзначено вірогідне зниження питомого об'єму кровеносного русла строми, питомого об'єму міжклітинного матриксу строми та коефіцієнта R/B в епітеліоцитах багатоядерного плоского епітелію ($p < 0,05$), порівняно з даними до лікування та з вірогідною різницею між групами ($p < 0,05$). Однак у хворих з гаплотипами GSTT1 + / GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0, які додатково приймали пепсан, дані показники були

вірогідно вищими у порівнянні з хворими 1-ої, 2-ої та 4-ої підгруп ($p < 0,05$). Оптична густина забарвлення PAS-позитивних речовин у сполучно-тканинних волокнах вірогідно зростала у всіх підгрупах ($p < 0,05$), порівняно з даними до лікування та з вірогідною різницею між групами ($p < 0,05$), тим самим збільшуючи слизовий бар'єр.

Аналіз впливу лікування на вміст продуктів ОМБ та ПОЛ (табл. 3) вказує на вірогідне зменшення рівня АКДНФГ НХ, а також МА в еритроцитах та плазмі крові у всіх групах обстежених відносно даних до лікування ($p < 0,05$). Однак у хворих 1-ої та 2-ої підгруп вміст АКДНФГ НХ був вірогідно нижчим ніж у пацієнтів 3-ої та 4-ої підгруп ($p < 0,05$). Рівень МА в еритроцитах та плазмі крові після лікування у обстежених 3-ої підгрупи був вірогідно вищим у порівнянні з їх рівнем у хворих 1-ої підгрупи на 16% та 26,6%, у осіб 2-ої підгрупи - на 21% та 33,1%, у пацієнтів 4-ої підгруп - на 13,4% та 23,6% відповідно ($p < 0,05$).

Вивчення стану системи глутатіону у хворих через місяць від початку лікування показало, що вміст ГВ в еритроцитах змінювався вірогідно відносно даних до лікування ($p < 0,05$) у всіх підгрупах (табл. 3).

У хворих, які отримували додатково пепсан і

Таблиця 2

Морфологічні зміни слизової оболонки стравоходу у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу із супровідним цукровим діабетом типу 2, залежно від гаплотипів генів GSTM1 та GSTT1, у динаміці лікування, (M ± m)

Показники	Групи обстежених							
	І група, n=21				ІІ група, n=12			
	1 підгрупа, n=10		2 підгрупа, n=11		3 підгрупа, n=6		4 підгрупа, n=6	
	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.
Питомий об'єм кровоносного русла строми (%)	40±1,1	30±0,8 **	42±1,2	23±1,0 **/**	41±1,1	37±0,8 **/**/ ****	42±1,0	28±0,9 ****/#
Питомий об'єм міжклітинного матриксу строми (%)	62±1,8	48±0,9 **	62±1,8	38±1,1 **/**	62±1,6	56±0,8 **/**/ ****	62±2,0	43±0,8 **/**/ ****/#
Оптична густина забарвлення PAS-позитивних речовин у сполучно-тканинних волокнах (ум.од.опт.густ.)	0,121±0,0021	0,134±0,0013 **	0,120±0,0022	0,141±0,0020 **/**	0,120±0,0024	0,127±0,0017 **/**/ ****	0,120±0,0018	0,138±0,0016 **/#
Коефіцієнт R/B в епітеліютах багатоплощового плоского епітелію	1,8±0,08	1,3±0,07 **	1,8±0,08	1,1±0,07 **	1,8±0,08	1,6±0,07 **/**/ ****	1,9±0,08	1,2±0,04 **/#

** – різниця вірогідна у порівнянні з показником до лікування (p<0,05);

*** – різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 1 після лікування (p<0,05);

**** – різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 2 після лікування (p<0,05);

– різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 3 після лікування (p<0,05)

кверцетин, та у обстежених з гаплотипами GSTM1 + / GSTT1 + та GSTM1 + / GSTT1 0/0, які додатково приймали пепсан, рівень ГП та ГТ нормалізувалися, вірогідно відрізняючись від показників до лікування (p<0,05). У пацієнтів 3-ої підгрупи вміст ГП та ГТ також знижувався, однак невірогідно, а лише була тенденція до зменшення на 3,5% (p>0,05) та 8,1% (p>0,05) відносно даних до лікування, при цьому зазначені показники були вірогідно нижчими ніж у підгрупах хворих з гаплотипами GSTM1 + / GSTT1 + та GSTM1 + / GSTT1 0/0.

Вміст ЦП (табл. 3) вірогідно зменшувався порівняно з показниками до лікування (p<0,05) таким чином: у 1-й підгрупі - в 1,8 раза, у 2-й підгрупі - в 2,1 раза, у 3-й підгрупі - в 1,4 раза та у 4-й підгрупі - в 1,9 раза із наявністю вірогідної

різниці між 1-ою і 3-ою, 2-ою і 3-ою та 4-ою і 3-ою підгрупами (p<0,05).

Як видно з табл. 3, в осіб з гаплотипами GSTT1 + / GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0 вміст продуктів ПОЛ до лікування був найвищий, а активності ГП та ГТ - найнижчими, що свідчить про зниження здатності організму щодо забезпечення резистентності клітин до ПОЛ, впливу вільних радикалів у випадку делеції функціональної зони гена GSTM1. Аналіз впливу лікування на оксидантно-протиоксидантну систему у даної групи хворих свідчить про те, що під впливом базисної терапії і пепсану відбувається недостатня корекція даних змін.

При дослідженні впливу лікування на протеолітичну і фібринолітичну активність плазми крові та вміст інгібіторів протеолізу (табл. 4) було встановлено вірогідне зниження рівня ЛАА, СФА та

Таблиця 3

Показники інтенсивності окисної модифікації білків, оксидантно-протиоксидантної системи у хворих на гастроезофагеальну рефлюксну хворобу із супровідним цукровим діабетом типу 2, залежно від гаплотипів генів GSTM1 та GSTT1, у динаміці лікування, (M ± m)

Показники	Групи обстежених								
	I група, n=21				II група, n=12				ПЗО
	1 підгрупа, n=10		2 підгрупа, n=11		3 підгрупа, n=6		4 підгрупа, n=6		
	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	
АКДНФГ НХ, ммоль/г білка	0,90± 0,03*	0,53± 0,02**	0,89± 0,03*	0,47± 0,02**	0,91± 0,05*	0,74± 0,02 */**/ ***/*** *	0,90± 0,03*	0,56± 0,01 */**/ ***/#	0,42± 0,04
МА ер, мкмоль/л	11,16± 0,24 *	9,64± 0,22 **	11,05± 0,23 *	9,24± 0,20 **	12,05± 0,34 *	11,18± 0,25 */***/ ****	12,00± 0,23 *	9,86± 0,22 **/#	8,98± 0,26
МА пл, мкмоль/л	4,41± 0,20 *	3,27± 0,12 **	4,29± 0,18 *	3,11± 0,15 **	4,97± 0,24 *	4,14± 0,15 */ ***/***/ ****	4,84± 0,26 *	3,35± 0,16 **/#	2,81± 0,15
ГВ, ммоль/л	0,61± 0,02 *	0,91± 0,03 **	0,62± 0,03 *	0,94± 0,04 **	0,60± 0,02*	0,78± 0,02 */**/ ***/ ****	0,61± 0,02 *	0,90± 0,03 **/#	0,96± 0,05
ГП, нмоль ГВ/хв. × Іг Нб	235,73± 6,75 *	189,01± 7,18 **	234,66± 5,79 *	181,32± 8,33 **	219,02± 5,90 *	211,28± 5,95 */****	220,97± 5,82 *	190,40± 8,52 **	181,95± 7,21
ГТ, нмоль ГВ/хв. × Іг Нб	175,49± 8,22 *	130,15± 4,52 **	177,48± 5,43 *	124,44± 7,52 **	160,37± 5,98 *	147,32± 3,85 */***/ ****	161,77± 6,50 *	129,70± 6,34 **	123,19± 5,28
ЦП, мг/л	247,74± 13,82 *	138,87± 8,36 */**	249,72± 12,67 *	119,73± 6,51 */**	255,54± 13,76 *	180,84± 9,47 */***/ ***/**	250,38± 15,00 *	129,02± 9,26 **/#	90,21± 6,92

* – різниця вірогідна щодо показників у ПЗО (p<0,05);

** – різниця вірогідна у порівнянні з показником до лікування (p<0,05);

*** – різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 1 після лікування (p<0,05);

**** – різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 2 після лікування (p<0,05);

– різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 3 після лікування (p<0,05)

зростання вмісту α2-МГ у всіх підгрупах відносно даних до лікування (p<0,05), крім підгрупи хворих з гаплотипами GSTT1 + / GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0, яка додатково приймала пепсан. У 3-ій підгрупі пацієнтів рівень ЛАА був вірогідно вищим (на 21,5% - відносно даних 1-ої підгрупи, на 30,6% - відносно показників 2-ої підгрупи та на 23,4% - відносно даних 4-ої підгрупи),

а вміст α2-МГ був вірогідно нижчим на 15,3%, на 23,1% та на 16,7% відповідно (p<0,05). Результати застосування пепсану на тлі базисної терапії показали, що СФА також знижувалася, проте дані зміни були менш суттєвими порівняно з підгрупами, яким призначали комбіноване лікування пепсаном і кверцетином, та лише мали тенденцію до зниження (p>0,05) із наявністю вірогідної між-

Таблиця 4

Показники протеїназо-інгібіторної системи крові та інтенсивності фібринолізу у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу із супровідним цукровим діабетом типу 2, залежно від гаплотипів генів GSTM1 та GSTT1, у динаміці лікування, (M±m)

Показники	Групи обстежених								
	I група, n=21				II група, n=12				ПЗО
	1 підгрупа, n=10		2 підгрупа, n=11		3 підгрупа, n=6		4 підгрупа, n=6		
	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	до лік.	після лік.	5 підгрупа, n=20
Лізис азоальбуміну, E ₄₄₀ /мл/год	2,00 ± 0,12 *	1,30 ± 0,07 **	2,01 ± 0,16 *	1,21 ± 0,09 **	1,97 ± 0,19 *	1,58 ± 0,06 ***/****	1,99 ± 0,19 *	1,28 ± 0,08 **/#	1,19 ± 0,16
α ₂ -МГ мкмоль/л	0,48 ± 0,03	0,59 ± 0,02 **	0,48 ± 0,04	0,65 ± 0,03 **	0,47 ± 0,04	0,50 ± 0,02 ***/****	0,47 ± 0,03 *	0,60 ± 0,03 **/#	0,59 ± 0,03
СФА E ₄₄₀ /мл/год	1,61 ± 0,08	1,34 ± 0,05 **	1,60 ± 0,09	1,25 ± 0,07 **	1,60 ± 0,07 *	1,55 ± 0,05 ***/****	1,62 ± 0,06 *	1,30 ± 0,07 **/#	1,30 ± 0,08

* – різниця вірогідна щодо показників у ПЗО (p<0,05);

** – різниця вірогідна у порівнянні з показником до лікування (p<0,05);

*** – різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 1 після лікування (p<0,05);

**** – різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 2 після лікування (p<0,05);

– різниця вірогідна у порівнянні з показниками у підгрупі 3 після лікування (p<0,05)

групової різниці (p<0,05).

Висновки

1. У хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу, поєднану з цукровим діабетом типу 2, з гаплотипами GSTT1+/GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0 встановлене найсуттєвіше підвищення інтенсивності окиснювальної модифікації білків, процесів пероксидного окиснення ліпідів, дисбаланс у системі антирадикального захисту, підвищення фібринолітичної активності плазми крові та дисбаланс протеїназо-інгібіторної системи.

2. Застосування пепсану на тлі базисної терапії у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу у поєднанні з цукровим діабетом типу 2, з гаплотипами GSTT1+/GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0, призводить до недостатньої корекції патогенетичних механізмів розвитку даного коморбідного стану.

3. Терапія з додаванням пепсану та кверцетину до базисного лікування у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу на тлі цукрового діабету типу 2, була найбільш ефективною, особ-

ливо у пацієнтів з гаплотипами GSTT1+/GSTM1 0/0 та GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0.

Перспективою подальших досліджень є вивчення впливу пепсану та кверцетину на інші ланки патогенезу гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби на тлі цукрового діабету типу 2, залежно від поліморфізму генів.

Література. 1. Аметов А.С. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и пути его коррекции / А.С. Аметов, О.Л. Соловьева // Проблемы эндокрин. - 2011. - № 6. - С. 52-56. 2. Баранов В.С. Генетический паспорт - основа индивидуальной и предиктивной медицины / В.С. Баранов - СПб.: Н-Л, 2009. - 528 с. 3. Гриб В.А. Окиснювальна модифікація білків при діабетичній дистальній симетричній полінейропатії / В.А. Гриб, А.М. Ерстенко // Архів клін. мед. - 2009. - № 1. - С. 40-42. 4. Применение препарата "Пепсан-Р" в лечении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / И.Д. Лоранская, Л.Г. Ракитская, Л.Д. Мамедова [и др.] // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. - 2008. - № 4. - С. 78-82. 5. Успенский Ю.П. Патогенетические основы дифференцированной тактики лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / Ю.П. Успенский, Е.И. Ткаченко // Сучасна гастроентерол. - 2010. - № 1. - С. 92-101. 6. Combined effect of smoking and inherited polymorphisms in arylamine N-acetyl transferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 on bladder cancer in a Tunisian population. / K. Rouissi, S. Ouerhani, R. Marrakchi [et al.] // Cancer Genet. Cytogenet. - 2009. - Vol. 190 (2). - P. 101-107. 7. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase and disease activity of rheumatoid arthritis. / Grabar P. Bohanec, D. Logar, M. Tomsic [et al.] // Clin. Exp. Rheumatol.

- 2009. - Vol. 27 (2). - P. 229-236. 8. Genetic polymorphism of GSTM1 and GSTP1 in lung cancer in Egypt. / M. Maggie Ramzy, M. Mohei El-Din Solliman, A. Hany Abdel-Hafiz [et al.] // Intern. J. Of Collabor. Research on Intern. Med. & Public Health. - 2011. - Vol. 3 № 1. - P. 41-51. 9. Glutathione S-transferase T1- and M1-null genotypes and coronary artery disease risk in patients with Type 2 diabetes mellitus. / S. Manfredi, D. Calvi, M. del Fiandra [et al.] // Pharmacogenomics. - 2009. - Vol. 10 (1). - P. 29-34. 10. Pongtheerat T. Glutathione S-transferase polymorphisms in breast cancers of Thai patients. / T. Pongtheerat, M. Tretrisool, W. Purisa // Asian Pac. J. Cancer Prev. - 2009. - Vol. 10 (1). - P. 127-132. 11. Tipnis N.A. Distension during gastroesophageal reflux: effects of acid of inhibition and correlation with symptoms / N.A. Tipnis, P.L. Rhee, R.K. Mittal // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. - 2007. - Vol. 293, № 2. - P. 469-474. 12. Sharma B. Effect of omeprazole and domperidone on adult asthmatics with gastroesophageal reflux / B. Sharma, M. Sharma, M.K. Daga // World J. Gastroenterol. - 2007. - Vol. 13, № 211. - P. 1706-1710.

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ
ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ
БОЛЕЗНИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ
ТИПА 2 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГАПЛОТИПОВ
ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ КЛАССОВ
M1 И T1**

А.И. Федив, Ю.В. Коханюк, Л.П. Сидорчук

Резюме. В статье приведены данные об особенностях клинической картины, морфологических изменений слизистой оболочки пищевода, окислительной модификации белков, перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты, протеолитической и фибринолитической активностей крови, маркеров апоптоза у больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и сахарным диабетом типа 2, в зависимости от гаплотипов генов глутатион S-трансферазы классов M1 и T1, в динамике лечения. Установлено, что одновременное применение пепсана и кверцетина на фоне базисной терапии оказывает наиболее выраженное терапевтическое воздействие при указанной сочетанной патологии, особенно при GSTT1 + / GSTM1 0/0 и GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0 гаплотипов.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, сахарный диабет типа 2, гены глутатион S-трансферазы классов M1 и T1, пепсан, кверцетин.

**DIFFERENTIAL TREATMENT OF
GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE IN
PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2
DEPENDING ON GENE HAPLOTYPE GLUTATHIONE
S-TRANSFERASE M1 AND T1 CLASSES**

O.I. Fediv, Ju.V. Kohaniuk, L.P. Sydorчук

Background. It is known that an increase of the concentration of active forms of oxygen and their metabolites causes oxidative modification of proteins, leading to changes in the structural and functional properties of cells. At the same time an increase of lipid peroxidation intensity is observed. The influence of the damage action of active forms of oxygen in tissues depends on the capacity of organism to mobilize the antioxidant defense that decreases in the presence of "mutant" D allele genes GSTM1 and GSTT1. Disorder of antioxidant defense under the influence of toxic effects of free radical products leads to structural and metabolic abnormalities in cells with subsequent

necrosis.

The aim of the study. To evaluate effectiveness of pepsan and quercetin in the treatment of patients with GERD, combined with diabetes mellitus type 2, on the basis of study of pathogenic mechanisms of its development and genetic factors.

Material and methods. The study involved 33 patients with GERD combined with diabetes mellitus type 2 aged 41 to 67 who subsequently were divided into groups depending on the analyzed gene haplotypes and treatment. Alleles of polymorphic sites of analyzed genes were studied once, after inclusion of patients in the study by means of providing genomic DNA from peripheral blood leukocytes, a standard method to the instructions set allocation RNA / DNA (Russia), followed by amplification of polymorphic sites by PCR using programmable Amplificator "Amply- 4L" ("Biokom", Russia), with individual temperature program for selected gene primers. Data of oxidant-antioxidant homeostasis, protease-inhibitor and fibrinolytic system of blood, morphological changes of esophageal mucosa were studied by standard methods.

Results. The results of the impact of treatment on the dynamics of morphological changes GERD indicate that in all subgroups a positive dynamics were revealed, namely, possible decline of specific volume bloodstream stroma, specific volume and stromal extracellular matrix coefficient R/B in epitheliocytes squamous epithelium ($p < 0,05$) were observed compared to the data before treatment and significant difference between groups ($p < 0,05$). However, in patients with haplotype GSTT1+ / GSTM1 0/0 and GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0, which additionally took pepsan these indices were significantly higher in comparison with patients of the 1st, 2th and 4th subgroups ($p < 0,05$).

Before treatment in patients with haplotype GSTT1 + / GSTM1 0/0 and GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0 content of lipid peroxidation products was the highest, and the level of glutathione level and glutathione-S-transferase - the lowest in plasma, indicating reduced ability of the body to provide resistance of cells to lipid peroxidation, free radicals in the case of deletion of the gene GSTM1 functional areas. Analysis of the impact of treatment on oxidant-antioxidant system in this group of patients indicates that under the influence of basic treatment and pepsan insufficient correction of the changes occurs.

Studying the influence of treatment on proteolytic and fibrinolytic activity of blood plasma and proteolysis inhibitors content a probable reduction in LAA, SFA and increased content ?2-MG in all subgroups with respect to the data treatment ($p < 0.05$), except for the 3rd subgroup of patients has been established.

Conclusions. Pepsan use against a background of basic therapy in patients with gastroesophageal reflux disease combined with diabetes mellitus type 2, haplotype GSTT1 + / GSTM1 0/0 and GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0, results in inadequate correction of pathogenetic mechanisms of development of this comorbid state. Therapy with the pepsan and quercetin addition to basic treatment in patients with gastroesophageal reflux disease combined with diabetes mellitus type 2, regardless polymorphisms of genes found the highest level of efficiency.

Key words: gastroesophageal reflux disease, diabetes mellitus type 2, genes glutathione-S-transferase M1 and T1 classes, pepsan, quercetin.

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol. 13, №4 (50). - P. 141-147.

Надійшла до редакції 02.12.2014

Рецензент – проф. О.І. Волошин

© О.І. Федів, Ю.В. Коханюк, Л.П. Сидорчук, 2014