

Білок Клото як медіатор антиоксидантного захисту при коморбідності гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби та автоімунного тиреоїдиту в осіб молодого віку

Т. М. Пасієшвілі

Харківський національний медичний університет, Україна

Ключові слова: гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, автоімунний тиреоїдит, білок Клото, патогенез

Роботами низки дослідників було встановлено, що вже у підлітковому віці відзначається формування ряду хронічних неспецифічних захворювань внутрішніх органів, причому досить часто вони поєднуються між собою, що вимагає додаткових зусиль при їх діагностиці та лікуванні [19]. Серед таких нозологічних форм особливу увагу привертають хвороби травного тракту, що протікають на тлі автоімунного запалення. Такій коморбідності в осіб молодого віку сприяє кілька чинників. Так, автоімунні захворювання, що мають генетичну зумовленість, найчастіше проявляються на тлі ендокринних зрушень у період становлення статевої сфери. Такі передумови доволі часто спостерігаються серед особливого контингенту молоді — студентів. Особливість їх спілкування характеризується підвищеним контактом у великих колективах, як в аудиторіях, так і гуртожитках, що сприяє частому виникненню і швидкому поширенню вірусних захворювань, які змінюють імунний гомеостаз, тобто сприяють формуванню несприятливого імунного фону [2, 7, 8].

Поширення захворювань травного тракту в студентському середовищі пов'язують з їжею «на бігу», нерегулярністю харчування, вживанням їжі, що не відповідає поняттю «корисна, доброякісна». Це, насамперед, продукти з фаст-фудів і кіосків, для яких характерна велика кількість жиру, барвників і ароматизаторів, переважання хлібо-булочних виробів, відсутність овочів і фруктів, використання газованих напоїв невідомого складу і якості [3, 17, 18].

До того ж, п'яти- або шестирічний за період навчання у вузі хронічний хвилюподібний стрес (заліки, сесії), сприяє розвитку функціональних змін у травному тракті, які в міру збереження зазначених поведінкових особливостей переходять у хронічні захворювання [5, 15].

Серед таких нозологічних форм особливе місце посідає гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ), поширеність якої в світі коливається

у межах 8–25% залежно від континенту, раси і статі, проте наголошується на постійне збільшення кількості таких пацієнтів. Так, останніми 20 роками поширеність ГЕРХ збільшилася не менше ніж у 3 рази, продовжуючи стрімко зростати з частотою приблизно 5% на рік [1, 6].

Одним із несприятливих фонів для ГЕРХ можуть бути автоімунні захворювання, серед яких у осіб молодого віку доволі часто діагностують хвороби щитоподібної залози, а саме автоімунний тиреоїдит (АІТ), розповсюдженість якого у світі становить близько 5% [13].

З огляду на перераховані вище фактори, що сприяють формуванню хвороб внутрішніх органів у специфічному студентському середовищі, а також високу поширеність ГЕРХ та АІТ, можна припустити їх часте поєднання, що є підставою до вивчення окремих патогенетичних ланок їх спільного перебігу.

Упродовж останніх років у патогенезі ряду захворювань внутрішніх органів розглядається роль білка (гормону) Клото (англ. Klotho), який був відкритий професором Макото Куро-о (Makoto Kuro-o) у 1997 р. і за своїми властивостями в організмі віднесений до антивікових білків. Його назва була обумовлена асоціацією з міфічним сказанням про роль богині Клото, дочки бога Зевса, у визначенні тривалості життя людини [12]. Спостереження за мишами, позбавленими цього гену, показали, що тварини-мутанти демонструють нормальний розвиток лише до третього-четвертого тижня життя, після чого починають швидко старіти: у них розвивається остеопороз, емфізема легенів, з'являються склеротичні зміни судин — весь «букет» вікових захворювань. Тоді як трансгенні миші, які відрізняються надмірною експресією цього гена, жили на 20–30% довше [12]. Тобто гормон Клото являє собою антивіковий білок, що кодується геном з множинними плеiotропними ефектами [16]. Однак є припущення, що означений білок може брати участь у формуванні багатьох інших

патогенетичних ланок при захворюваннях внутрішніх органів. Тобто визначена антивікова властивість білка Клото не є єдиною його дією, а його синтез може впливати на інші зміни в організмі.

Мета роботи: встановити вміст і роль білка Клото в патогенезі гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби, що протікає на тлі автоімунного запалення в осіб молодого віку.

Матеріали та методи. У роботі взяли участь 120 пацієнтів з ГЕРХ і АІТ (основна група) і 45 осіб, хворих на ізольовану ГЕРХ (група порівняння). Групи пацієнтів були репрезентативні за віком ($21,9 \pm 2,7$ і $22,1 \pm 3,2$ року відповідно), статтю (77,5% і 75,6% відповідно становили жінки), формою ГЕРХ та тривалістю захворювання (до трьох років) і були студентами вищих навчальних закладів міста. Контрольні показники проведених досліджень були отримані при обстеженні 20 практично здорових осіб — студентів, які за всіма параметрами відповідали групам хворих.

Обстеження пацієнтів включало збір скарг, оцінку анамнезу хвороби і життя, об'єктивне обстеження та лабораторно-інструментальні методи діагностики.

Візуальні зміни в слизовій оболонці стравоходу, які були отримані при проведенні езофагогастро-дуоденоскопії (ЕФГДС) (система «Fuginon»), дозволили виявити згідно з рекомендаціями Лос-Анджелеської класифікації дві форми захворювання — ерозивну і неерозивну. Отримання матеріалу для біопсії зі слизової оболонки стравоходу дало можливість провести гістоморфологічне дослідження, яке підтвердило наявність запальної реакції.

При встановленні діагнозу ГЕРХ використовували рекомендації Монреальського консенсусу (2006), «Протоколи ведення хворих ...» з даної нозологічної форми та МКХ-10 — К-21 відповідно.

До другої групи співставлення увійшли 42 хворі на ізольований АІТ, що дозволило відстежити роль білка Клото при даній нозологічній формі. За віком, статтю та тривалістю захворювання пацієнти означеної групи були тотожними двом попереднім, що дозволило співставити результати.

Діагноз АІТ встановлювали на підставі скарг хворих, результатів пальпаторного дослідження щитоподібної залози, даних ультразвукового дослідження залози за стандартною методикою. Одночасно оцінювали показники тестів на антитіла до тиреопероксидази і тиреоглобуліну; функцію залози встановлювали за результатами вмісту тиреотропного гормону, вільного тироксину і вільного трийодтироніну. Діагноз підтверджували при порівнянні з «Протоколом ведення хворих ...» і МКХ-10 — Е-06.3.

У дослідженні дотримувалися лікувально-діагностичних стандартів, що надають етичної складової, клінічних досліджень (GCP, 1997). Тобто до початку роботи пацієнти були проінформовані про суть дослідження, його цілі і можливі результати. Від кожного пацієнта було отримано письмову згоду на участь в дослідженні, згідно з рекомендаціями етичних комітетів з питань біомедичних досліджень, законодавством України з охорони здоров'я, Гельсінською декларацією 2000 року і Директивою Європейського

товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях.

Пацієнти з цукровим діабетом, хворобами серцево-судинної системи, нирок, онкологічними захворюваннями, психічними захворюваннями, вагітні та неповнолітні не включалися в дослідження.

Білок Клото досліджували у сироватці крові хворих імуноферментним методом з використанням комерційної тест-системи виробництва фірми Elabscience (ELISA, США) на імуноферментному аналізаторі «Labline-90» (Австрія) відповідно доданий до набору інструкції.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету програм загального призначення STATISTICA. Використовували методи непараметричної статистики: критерій Краскела — Уолліса, медіанний тест, критерій Манна — Уїтні.

Результати та їх обговорення. Основним клінічним проявом ГЕРХ у хворих обох груп була печія, яка частіше виникала протягом дня (70,8% основна група і 68,9% група порівняння). Появу нічних нападів печії реєстрували у 65% і 31,1% випадків відповідно. Рідше хворі з ГЕРХ відзначали дискомфорт в епігастрії (22,5% і 13,3% відповідно), відрижку (52,5% і 13,3%), відчуття швидкого насичення після прийому їжі (34,2% і 24,4%) і метеоризм (39,2% проти 31,1% відповідно). Такі симптоми захворювання, як дисфагія, нудота, блювота, кашель і осиплість голосу, реєстрували значно рідше.

Проведена ЕФГДС дозволила візуально у 34 хворих основної групи (28,3%) і 11 пацієнтів з ізольованою ГЕРХ (24,4%) діагностувати ерозивну форму хвороби з наявністю множинних ерозій (від 2–3 до 8–10), здебільшого розташованих у середніх і нижніх відділах стравоходу. При гістологічному вивченні біоптатів слизової оболонки встановлені запальні зміни в слизовому і підслизовому шарах з інфільтрацією їх лейкоцитами і макрофагами, рідше — лімфоцитами, а також залученням до процесу судинної системи. Зазначені скарги хворих і результати ЕФГДС з гістологічним вивченням біоптатів дозволили підтвердити діагноз ГЕРХ, визначивши її форму (ерозивна, неерозивна).

Автоімунний тиреоїдит був встановлений на підставі скарг хворих, результатів пальпаторного, лабораторного та інструментального методів дослідження. При цьому визначали підвищення вмісту антитіл до тиреопероксидази і тиреоглобуліну (у 3,6 та 4,5 разу відповідно), характерні зміни при ультразвуковому дослідженні щитоподібної залози (помірне збільшення органу, ущільнення капсули залози). При дослідженні синтезу тиреоїдних гормонів не було виявлено їх відхилення від норми, що дозволило говорити про еутиреоїдний стан органу.

При дослідженні вмісту білка Клото було встановлено, що у хворих на ізольовану ГЕРХ в цілому по групі даний показник достовірно перевищував контрольні величини ($U=279,5$, $p<0,01$). При коморбідності ГЕРХ та АІТ підвищення досліджуваної величини зберігалось та було статистично значущим як по відношенню до норми ($U=320,5$, $p<0,01$), так і до груп з ізольованими ГЕРХ ($U=1570$, $p<0,01$) та АІТ ($U=1171$, $p<0,01$) (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст білка Клото в сироватці крові обстежених хворих

	Клото, нг/мл	Порівняння з кон- трольною групою
ГЕРХ+АІТ	0,885 (0,611; 1,184)	(U = 320,5, p<0,01)
ГЕРХ	0,638 (0,4612; 0,763)	(U = 279,5, p<0,05)
АІТ	0,5675 (0,4398; 0,7324)	(U = 307, p>0,05)
Контрольна група	0,4866 (0,3679; 0,6098)	

При наявності ізольованого АІТ вміст білка Клото мав тенденцію до збільшення, але його значення по відношенню до норми не було вірогідним (рис. 1).

Вивчено вміст білка Клото з урахуванням форми захворювання при ГЕРХ. Наявність ерозій у слизовій оболонці стравоходу у пацієнтів з ізольованою ГЕРХ не супроводжувалася змінами в зазначеному показнику в порівнянні з пацієнтами з неерозивною формою захворювання і становила 0,6397 (0,4198; 0,7792) нг/мл і 0,6373 (0,5234; 0,7625) нг/мл відповідно. Також дані величини не мали достовірних відмінностей у групі з поєднаною патологією: при ерозивній формі ГЕРХ синтез білка Клото становив 0,8779 (0,5291; 1,2522) нг/мл та при неерозивній 0,8875 (0,6215; 1,1635) нг/мл. За таких умов рівень білка Клото не корелював з кількістю ерозій у слизовій оболонці і їх розташуванням.

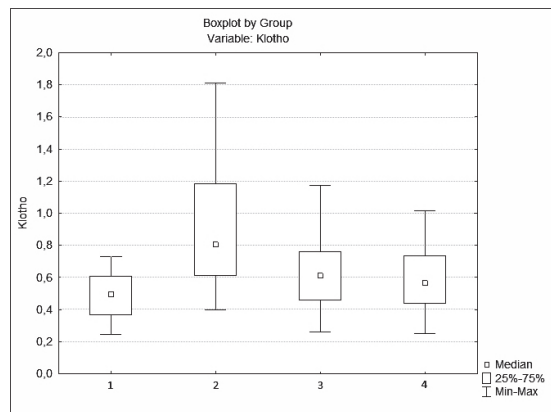


Рис. 1. Графічне зображення вмісту білка Клото в групах, що були обстежені. 1 — здорові люди; 2 — основна група; 3 — пацієнти з ізольованою ГЕРХ; 4 — пацієнти з АІТ.

Синтез білка Клото також не залежав від тривалості захворювання і частоти його загострень та наявності шкідливих звичок (куріння). Дану обставину, мабуть, можна пояснити молодим віком пацієнтів, коротким анамнезом захворювань і невеликою кратністю періодів загострення (від «вперше виявлених» до 2–3 загострень за період хвороби, який

не перевищує три роки). Отже перебіг ГЕРХ і її поєднання з АІТ у осіб молодого віку супроводжувалося збільшенням вмісту білка Клото в сироватці крові.

Як було встановлено, білок Клото відноситься до антивікових гормонів. Причому такий його феномен пов'язують з підвищенням опору клітин до «окиснювального стресу». В основі порушення антиоксидантного захисту лежить процес надмірного накопичення в організмі вільних радикалів. Дані зміни призводять до ушкодження таких важливих біологічних макромолекул, як ДНК, ліпіди і білки, тобто до порушення нормального функціонування клітин і, тим самим, старіння організму [11]. Білок Клото підвищує здатність клітин до самостійної детоксифікації за рахунок підвищення синтезу марганецьсупероксиддисмутази — важливого антиоксиданту, кількість якого в організмі, як відомо, зменшується з віком. Цей фермент, який зазвичай знаходять в мітохондріях клітин, виконує свою захисну функцію за рахунок гідролізу шкідливих супероксидів і перетворення їх в менш небезпечний пероксид водню [4, 10]. В такому випадку можна думати, що підвищення вмісту білка Клото є компенсаторним механізмом, що забезпечує потенціювання синтезу марганецьсупероксиддисмутази — мітохондріального внутрішньоклітинного білка другої фази детоксикації ксенобіотиків, що представляє ферментативну внутрішньоклітинну антиоксидазу і контролює локальний рівень системи антиоксидантного захисту [9, 14]. Тобто підвищення вмісту білка Клото в сироватці крові хворих на ГЕРХ та АІТ не є результатом його антивікової дії. У такому разі збільшення синтезу білка Клото зумовлює активацію другої більш специфічної фази антиоксидантного захисту, тим самим — контроль за надходженням токсичних речовин. У хворих на ізольований АІТ вміст білка Клото не мав вірогідного значення, що можна пояснити відсутністю активного запального процесу у щитоподібній залозі, а тенденцію до підвищення — наявністю латентного його перебігу.

Тобто вивчення динаміки показника даного білка в сироватці крові хворих на ГЕРХ та АІТ можна використовувати як контроль за станом антиоксидантної системи, можливого формування ускладнень та ефективності лікувальних заходів. Висловлене припущення вимагає подальшого вивчення.

Висновки. Перебіг ГЕРХ та його поєднання з АІТ у осіб молодого віку супроводжується підвищенням вмісту білка Клото, що забезпечує контроль за станом другої фази системи антиоксидантного захисту.

У хворих на ізольований АІТ вміст білка Клото мав лише тенденцію до підвищення, що, ймовірно, було наслідком латентного процесу у щитоподібній залозі.

Підвищений вміст білка Клото в осіб молодого віку з ГЕРХ та АІТ можна використовувати як показник оцінки ефективності терапії та прогнозування перебігу захворювань.

Література:

1. Евсютина Ю. В., Трухманов А. С. Новые возможности терапии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни путем повышения приверженности пациентов к лечению. *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2015. № 2. С. 4–9.
2. Пасієшвілі Т. М. Студентський соціум як підґрунття для змін якості життя у молодих осіб хворих на гастроэзофагеальну рефлюксну хворобу та автоімунний тиреоїдит. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2019. № 2. С. 154–158.
3. Abraham S., Noriega Brooke R., Shin J. Y. College students eating habits and knowledge of nutritional requirements. *J. Nutr. Hum. Health.* 2018. Vol. 2, No 1. P. 13–17.
4. Candas D., Li J. J. MnSOD in oxidative stress response-potential regulation via mitochondrial protein influx. *Antioxid Redox Signal.* 2014. Vol. 20, No 10. P. 1599–1617.
5. DaSilva A. W., Huckins J. F., Wang R., Wang W., Wagner D. D., Campbell A. T. Correlates of stress in the college environment uncovered by the application of penalized generalized estimating equations to mobile sensing data. *JMIR mHealth and uHealth.* 2019. Vol. 7, No 3. P. e12084.
6. El-Serag H. B., Sweet S., Winchester C. C., Dent J. Update on the epidemiology of gastroesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut.* 2014. Vol. 63, No 6. P. 871–880.
7. Grant R., Becnel J. N., Giano Z. D., Williams A. L., Martinez D. A latent profile analysis of young adult lifestyle behaviors. *Am. J. Health Behav.* 2019. Vol. 43, No 6. P. 1148–1161.
8. Hanaa Ghaleb Al-Amari, Nedaa Al-Khamees. The Perception of College Students about a Healthy Lifestyle and its Effect on their Health. *J. Nutr. Food Sci.* 2015. Vol. 5, No 6. P. 437–440.
9. Herholz M., Cepeda E., Baumann L. et al. KLF-1 orchestrates a xenobiotic detoxification program essential for longevity of mitochondrial mutants. *Nat. Commun.* 2019. Vol. 10. P. 3323.
10. Holley A. K., Dhar S. K., Xu Y., St Clair D. K. Manganese superoxide dismutase: beyond life and death. *Amino Acids.* 2012. Vol. 42, No 1. P. 139–158.
11. Kimura T., Shiizaki K., Akimoto T. et al. The impact of preserved Klotho gene expression on antioxidative stress activity in healthy kidney. *Am J. Physiol Renal Physiol.* 2018. Vol. 315, No 2. P. 345–352.
12. Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H. et al. Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature.* 1997. Vol. 390, No 6655. P. 45–51.
13. Lee H. J., Li C. W., Hammerstad S. S., Stefan M., Tomer Y. Immunogenetics of autoimmune thyroid diseases: a comprehensive review. *J. Autoimmun.* 2015. Vol. 64. P. 82–90.
14. Lim Sun, Jin Long, Luo Kang, Jin Jian, Shin Yoo, Hong Sung, Yang Chul. Klotho enhances FoxO3-mediated manganese superoxide dismutase expression by negatively regulating PI3K/AKT pathway during tacrolimus-induced oxidative stress. *Cell Death and Disease.* 2017. Vol. 8. P. e2972.
15. Song E. M., Jung H. K., Jung J. M. The association between reflux esophagitis and psychosocial stress. *Digestive diseases and sciences.* 2013. Vol. 58, No 2. P. 471–477.
16. Vo H. T., Laszczyk A. M., King G. D. Klotho, the Key to Healthy Brain Aging? *Brain Plast.* 2018. Vol. 3, No 2. P. 183–194.
17. Wansink B., Cao Y., Saini P., Shimizu M., Just D. R. College cafeteria snack food purchases become less healthy with each passing week of the semester. *Public Health Nutr.* 2013. Vol. 16, No 7. P. 1291–1295.
18. Yahia N., Wang D., Rapley M., Dey R. Assessment of weight status, dietary habits and beliefs, physical activity, and nutritional knowledge among university students. *Perspectives in Public Health.* 2016. Vol. 136. P. 231–244.
19. Zhao B., Jiang X., Cao J., Huang K. Biostatistical analysis on chronic disease risk. *Anim. Husb. Dairy Vet. Sci.* 2019. Vol. 3. P. 13–15.

УДК: [616.329/.33-008.17+616.441-002]-053.81-092-078
doi: 10.33149/vkp.2020.04.08

Білок Клото як медіатор антиоксидантного захисту при коморбідності гастроэзофагеальної рефлюксної хвороби та автоімунного тиреоїдиту в осіб молодого віку

Т. М. Пасієшвілі

Харківський національний медичний університет, Україна

Ключові слова: гастроэзофагеальна рефлюксна хвороба, автоімунний тиреоїдит, білок Клото, патогенез

Мета роботи: встановити вміст і роль білка Клото в патогенезі гастроэзофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ), що перебігає на тлі автоімунного запалення в осіб молодого віку.

Матеріали та методи. До роботи було залучено три групи хворих: з поєднанням перебігом ГЕРХ та автоімунного тиреоїдиту (АІТ) (120 осіб), ізольованими ГЕРХ (45) та АІТ (42), віком від 18 до 25 років, аналогічної статі та тривалості захворювання. У сироватці крові означених хворих проведено визначення вмісту білка Клото методом ІФА, реактиви Elabscience (ELISA, США).

Результати. Встановлено при наявності ГЕРХ та особливо при її поєднанні з АІТ достовірне підвищення вмісту білка Клото по відношенню до контролю, вміст якого не корелював з морфологічною формою хвороби та тривалістю захворювання. У хворих на ізольований АІТ даний показник не мав вірогідного значення.

Висновки. Перебіг ГЕРХ та його поєднання з АІТ у осіб молодого віку супроводжуються підвищенням вмісту білка Клото, як результат наявності активного запального процесу у слизовій оболонці стравоходу та його стимулюючої дії на процеси антиоксидантного захисту.

УДК: [616.329/.33-008.17+616.441-002]-053.81-092-078
doi: 10.33149/vkr.2020.04.08

RU Белок Клото как медиатор антиоксидантной защиты при коморбидности гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и аутоиммунного тиреоидита у лиц молодого возраста

Т. М. Пасиешвили

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, аутоиммунный тиреоидит, белок Клото, патогенез

Цель работы: установить содержание и роль белка Клото в патогенезе гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), протекающей на фоне аутоиммунного воспаления у лиц молодого возраста.

Материалы и методы. К работе были привлечены три группы пациентов: с сочетанным течением ГЭРБ и аутоиммунного тиреоидита (АИТ) (120 человек), изолированными ГЭРБ (45) и АИТ (42), в возрасте от 18 до 25 лет, аналогичного пола и продолжительности заболевания. В сыворотке крови указанных больных проведено определение содержания белка Клото методом ИФА, реактивы Elabscience (ELISA, США).

Результаты. Установлено при наличии ГЭРБ и особенно при ее сочетании с АИТ достоверное повышение содержания белка Клото по отношению к контролю, содержание которого не коррелировало с морфологической формой болезни и продолжительностью заболевания. У пациентов с изолированным АИТ данный показатель не имел достоверного отличия.

Выводы. Течение ГЭРБ и ее сочетание с АИТ у лиц молодого возраста сопровождаются повышением содержания белка Клото, как результат наличия активного воспалительного процесса в слизистой оболочке пи-

щевода и его стимулирующего действия на процессы антиоксидантной защиты.

EN Klotho protein as a mediator of antioxidant defense in young people with gastroesophageal reflux disease and autoimmune thyroiditis

T. M. Pasiieshvili

Kharkov National Medical University, Ukraine

Key words: gastroesophageal reflux disease, autoimmune thyroiditis, Klotho protein, pathogenesis

Aim: to establish the content and role of Klotho protein in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease, which occurs against the background of autoimmune inflammation in young people.

Materials and methods. Three groups of patients were involved in the study: with the gastroesophageal reflux disease (GERD) and autoimmune thyroiditis (AIT) (120 persons), isolated GERD (45) and AIT (42) aged 18 to 25 years, of the same sex and duration of the disease. The content of Klotho protein was determined in the serum by ELISA, Elabscience reagents (ELISA, USA).

Results. Significant increase in Klotho protein was detected in patients with GERD and especially in its combination with AIT relative to the control. Content of Klotho protein did not correlate with the morphological form of the disease and its duration. In patients with isolated AIT, Klotho protein level did not have a significant difference with control group.

Conclusion. The GERD and its combination with AIT in young people are accompanied by an increase in Klotho protein content, as a result of the presence of an active inflammatory process in the esophagus mucosa and its stimulating effect on antioxidant defense processes.