

УДК 616.441-006.5:616.34-002]:612.015.1:575

ДИФУЗНИЙ ТОКСИЧНИЙ ЗОБ ТА СИНДРОМ ПОДРАЗНЕНОГО КИШЕЧНИКА: ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ

Москалюк І.І.

Буковинський державний медичний університет

Обстежено 38 жінок на дифузний токсичний зоб II-III ст. у т.ч. з ознаками синдрому подразненого кишечника (СПК), яким проведено дослідження гену SERT (SLC6A4), що кодує білок-переносник серотоніну. За характером порушень із боку органів травлення хворих поділено на 3 групи. До 1-ї групи увійшли 12 хворих на дифузний токсичний зоб у поєднанні СПК із перевагою проносів, до 2-ї групи – 12 пацієнтів з перевагою закрепів. 3-ю групу склали 14 осіб з тиреотоксикозом без порушень з боку органів травлення. У 1 групі пацієнтів нами виявлено усі види поліморфізму: 67% мали гомозиготне носійство LL алелів гену SLC6A4, 25% – SS- генотип, і лише 1 хворий (8%) був гетерозиготним носієм LS-варіанту. У осіб 2-ї групи спостерігалась тенденція до носійства короткого алелю, зокрема, 75% пацієнтів були LS- гетерозиготами, тоді як 25% мали SS- варіант генотипу. При аналізі групи осіб без порушення кишкової функції кількість хворих з SS- генотипом (79%) вірогідно переважала за кількість LS- гетерозигот (21%). Встановлено, що вид кишкової дисфункції при дифузному токсичному зобі пов'язаний з поліморфізмом гену SERT, що зумовлює необхідність корекції лікувальної тактики у таких хворих.

Ключові слова: ген, поліморфізм, серотонін, кишечник, дифузний токсичний зоб.

Постановка проблеми. Останніми роками все більше уваги приділено етіології синдрому подразненого кишечника (СПК). Доведено вагомий внесок у розвиток даного захворювання інфекційних, психосоціальних та дієтичних факторів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Чимало досліджень присвячено вивченню ролі генетичних факторів у виникненні та прогресуванні СПК [2, 4, 5]. При вивченні сімейної спадковості СПК, у 33% хворих виявлена генетична схильність до виникнення даного захворювання, тоді як у загальній популяції вона складала тільки 2% [5].

Останнім часом дедалі частіше вивчають поліморфізм генів-кандидатів, зв'язаних з СПК. Відомо, що в регуляції моторики та секреції кишечника приймають участь різні нервові та гуморальні медіатори [1]. Серед них важливе місце займає серотонін, 95% якого синтезується ентерохроматінами клітинами кишечника. Підвищення рівня серотоніну в кишечнику сприяє виникненню таких клінічних проявів, як нудота, блювота і діарея. Причинами такого підвищення може бути посилений синтез, надмірне використання або неналежна інактивація серотоніну. Білок-переносник, що транспортує надлишок серотоніну з синаптичної щілини у везикули, є одним із регуляторів кількості серотоніну у синапсі, тому порушення його функції може безпосередньо впливати на моторно- евакуаторну функцію кишечника. Нещодавні дослідження [5,6,7] довели зв'язок поліморфізму у регіоні промотора гену – переносника серотоніну у виникненні СПК.

Ген SERT (або SLC6A4), що кодує білок-переносник серотоніну, локалізується на 17 хромосомі в ділянці 17q11.2-q1. Функціональний поліморфізм цього гену, який проявляється у вставці чи делеції 44 пар азотистих основ у 5-HTTLPR (серотонін-транспортер-пов'язана поліморфна область), вперше був описаний Heils у 1996 р. [3].

Залежно від виду поліморфізму гену, L (довга алель) та S (коротка алель) формують 3 види генотипу: LL (довга-довга), LS (довга-коротка) та SS (коротка-коротка). Деякі автори [3,7] стверджують, що 3 види генотипових варіантів відповідають 2-м фенотиповим, оскільки S-алель є доміантним. Відомо, що S-алель сприяє зменшенню зворотного захоплення серотоніну через дефект ДНК, що редукує білок – переносник серотоніну [7].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Разом з тим, аналіз літературних

джерел щодо особливостей дистрибуції генотипічних варіантів поліморфізму гену SERT у хворих на СПК різних популяційних груп засвідчив суперечливі результати [5, 6, 7, 8, 9]. Виявлені факти можна пояснити етнічними особливостями розподілу генотипів та малими вибірками досліджень, які потребують подальшого вивчення та систематизації.

Однак, в літературі недостатньо повно вивчено особливості поліморфізму гену SERT при поєднанні патології, зокрема при наявності СПК у хворих на дифузний токсичний зоб. В Україні нараховують близько 15 млн хворих з патологією щитоподібної залози, серед яких біля 60% займають токсичні форми зобу [2, 3], що підтверджує доцільність проведення таких генетично-клінічних досліджень.

Мета статті. Головною метою дослідження є вивчення поліморфізму гену SERT у хворих на дифузний токсичний зоб у т.ч. у поєднанні з синдромом подразненого кишечника та проведення аналізу особливостей клінічного перебігу захворювання у осіб з різним генотипом.

Виклад основного матеріалу. Обстежено 38 жінок на дифузний токсичний зоб II-III ст. у т.ч. з ознаками СПК, яким після підписання інформованої згоди пацієнта, проведено генетичний аналіз. У всіх хворих мав місце тиреотоксикоз середнього ступеня тяжкості, субкомпенсований. Вік хворих коливався від 22 до 45 років, в середньому $32,5 \pm 1,6$ років. Комплексне обстеження хворих включало збір скарг, анамнезу, об'єктивне обстеження, лабораторні та інструментальні дослідження. Об'єктивну оцінку моторно-евакуаторної функції кишечника проводили за допомогою удосконаленого нами методу фоноентерографії (ФЕГ). За характером порушень із боку органів травлення хворих поділено на 3 групи. До 1-ї групи увійшли 12 хворих на дифузний токсичний зоб у поєднанні СПК із перевагою проносів, що підтверджувалось на ФЕГ наявністю гіпермоторики кишечника. До 2-ї групи включено 12 пацієнтів з перевагою закрепів, що супроводжувалось наявністю гіпомоторики на ФЕГ. 3-ю групу склали 14 осіб з тиреотоксикозом без клініко-інструментальних ознак порушення моторно-евакуаторної функції кишечника.

Алелі поліморфної ділянки 5-HTTLPR гену SERT вивчали шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферичної крові, стабілізованої ЕДТА в якості антикоагулянта («Merk®», Німеччина), із наступною ампліфікацією поліморфної

ділянки за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на проамованому ампліфікаторі «Amplify-4L» (Росія), з індивідуальною температурною програмою для специфічних праймерів: sense (5'-GCCGCTCTGAATGCCAGCAC 3'), antisense (5'-GGAGGAACCTGACC-CCTGAAAACCTG 3').

Продукти ПЛР аналізували за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі в присутності трисборатного буфера, концентрованого з бромідом етидію. Фрагменти візуалізували за допомогою УФ-випромінювача в присутності маркера молекулярних мас 100-1000 бр («СибЭнзим», Росія).

Статистична обробка результатів досліджень проводилась з використанням електронних таблиць Microsoft® Office Excel (build 11.5612.5703) та програми для статистичної обробки Statgraphics Plus5.1 Enterprise edition (@Statistical Graphics corp. 2001). Статистичну залежність між величинами перевіряли шляхом визначення критерію Фішера, у т.ч. відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга.

У результаті досліджень встановлено, що у пацієнтів з дифузним токсичним зобом у поєднанні з СПК поліморфізм гену SERT має свої особливості залежно від характеру моторно-евакуаторної функції кишечника.

Дистрибуцію поліморфізму гена SERT у хворих на різні варіанти СПК при дифузному токсичному зобі наведено у таблиці 1.

У 1 групі пацієнтів нами виявлено усі види поліморфізму: 67% обстежених мали гомозиготне носійство LL алелів гену SLC6A4, 25% – SS-генотип, і лише 1 пацієнт (8%) був гетерозиготним носієм LS-варіанту.

Таблиця 1
Фенотипічна характеристика хворих на дифузний токсичний зоб у поєднанні з синдромом подразненого кишечника залежно від поліморфізму гена SERT, n=38

№	Група хворих	Генотип SERT		
		LL, % (n)	LS, % (n)	SS, % (n)
1.	ДТЗ + СПК з перевагою проносів, n=12	67% (8)	8% (1)*	25% (3)
2.	ДТЗ + СПК з перевагою закріпів, n=12	0	75% (9) *	25% (3)
3.	ДТЗ без кишкової дисфункції, n=14	0	21% (3) *	79% (11)

Примітка: * – вірогідність різниць показників відносно гомозигот, $p < 0,05$.

Джерело: розроблено автором

У осіб 2-ї групи спостерігалась тенденція до носійства короткого алелю, зокрема, 75% пацієнтів були LS-гетерозиготами, тоді як 25% мали SS-варіант генотипу. У даній групі хворих наявності гомозиготного LL-генотипу не відмічено у жодному випадку.

При аналізі групи осіб без клініко-інструментальних ознак порушення моторно-евакуаторної функції кишечника кількість хворих з SS-генотипом (79%) вірогідно переважала за кількість LS-гетерозигот (21%). Серед пацієнтів даної групи також не було гомозигот за довгим алелем.

Оскільки ген SLC6A4 кодує білок-переносник серотоніну, функція якого транспортувати надлишковий серотонін з синапсу до везикул, порушення зворотнього захоплення серотоніну залежить від виду алелю. Зокрема, наявність довгого (L) алелю сприяє швидшому транспорту серотоніну, а короткого (S) – уповільненню цього процесу. Ряд авторів

[3, 7] стверджують, що S-алель є доміантним, тому LS та SS –генотипи будуть клінічно проявлятися однаково та відрізнятися від LL-варіанту.

Серотонін, що синтезувався ентерохромафінними клітинами кишечника в синаптичну щілину за відсутності точки прикладання швидко руйнується моноаміноксидазою, тому активність транспортера серотоніну має неабияке клінічне значення. Посилене зворотнє захоплення серотоніну зумовлює надмірне його відкладання у везикулах, а отже, і надлишок вивільнення при появі найменших стимулів, що клінічно проявляється діареєю. Проведене нами дослідження підтверджує наявність такого механізму, оскільки у 67% хворих на дифузний токсичний зоб та СПК з перевагою проносів виявлено LL-варіант гену SERT.

Гомозиготні та гетерозиготні пацієнти на СПК за короткою алеллю (SS та LS) мають уповільнення транскрипції гену SLC6A4, а відтак і зменшення експресії переносника серотоніну. При даному варіанті генотипу зворотнє захоплення серотоніну з синаптичної щілини знижене, що проявляється гіпомоторними порушеннями кишечника у вигляді закріпу.

Оскільки SS та LS –генотипи нами виявлено у 2-х групах хворих: зі зниженою та збереженою моторно-евакуаторною функцією кишечника, можна стверджувати про зв'язок між недостатнім захопленням серотоніну і гіпомоторними порушеннями кишечника. Можливо, наявність у хворих на дифузний токсичний зоб без порушення функції кишечника короткого алелю гену SERT зумовив відсутність проявів гіпермоторики розвитку у даної категорії пацієнтів.

У когорті пацієнтів на дифузний токсичний зоб та СПК з перевагою закріпів кількість LS-гетерозигот (75%) вірогідно перевищувала кількість хворих з SS-генотипом (25%) ($p < 0,05$).

У хворих на тиреотоксикоз без ознак порушення моторно-евакуаторної функції кишечника результат мав протилежну тенденцію: SS-варіант мали 79% осіб, а LS-генотип – 21% ($p < 0,05$). Отже, незважаючи на доміантність короткого алелю, гетерозиготний генотип має свої клінічні відмінності.

Враховуючи отримані дані, правомірно вважати, що однією з причин розвитку певного виду кишкової дисфункції при тиреотоксикозі є поліморфізм гену SERT. Наявність обох довгих алелів спричиняє посилене зворотнє захоплення серотоніну, що клінічно проявляється СПК з перевагою проносів. Навпаки, генотип з коротким алелем призводить до зниження рівня серотоніну у хворих, що веде до зниження моторики кишечника при тиреотоксикозі.

Подальшого вивчення поліморфізму гену SERT у хворих на дифузний токсичний зоб та СПК та дослідження його впливу на характер перебігу захворювання склало підґрунтя для напрацьованих нами нових підходів до оптимізації лікувальної тактики у таких осіб.

Висновки і пропозиції.

1. Вид кишкової дисфункції при дифузному токсичному зобі пов'язаний з поліморфізмом гену SERT: LL-генотип спостерігається за прискореної моторики кишечника, а S – алель – за уповільненої.

2. Серед хворих на дифузний токсичний зоб у поєднанні СПК із перевагою проносів частіше зустрічається носійство LL-варіанту гену SERT (67%) при меншій кількості SS – гомозигот (25%) та LS-гетерозигот (8%).

3. Вірогідна більшість LS-варіанту (75%) генотипу виявлено у пацієнтів на дифузний токсичний зоб з СПК з перевагою закріпів, тоді як лише 25% осіб були SS-гомозиготами.

4. У хворих на тиреотоксикоз без порушення функції кишечника SS- генотип мали 79% осіб, а LS-варіант – 21%.

5. Підвищення ефективності лікування хворих на дифузний токсичний зоб у поєднанні з СПК можливе з уражуванням поліморфізму гена SERT.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Актуальним є вивчення поліморфізму гену SERT та інших генів у хворих СПК у поєднанні з іншими захворюваннями, що дозволить розширити існуючі уявлення про патогенез СПК, розробити адекватні методи лікування таких хворих.

Список літератури:

1. Зимницкая Т. В. Влияние содержания серотонина и гистамина в крови у детей с синдромом раздраженного кишечника на показатели биоэлектрической активности толстой кишки / Т. В. Зимницкая // *Соврем. педиатрия.* – 2009. – № 1(23). – С. 114-115.
2. Паньків В. І. Синдром тиреотоксикозу (етіологія, патогенез, діагностика, терапія) / В. І. Паньків // *Міжнар. ендокринолог. журн.* – 2006. – № 4(6). – С. 23-29.
3. Паньків В. І. Синдром тиреотоксикозу / В. І. Паньків // *Міжнар. ендокринолог. журн.* – 2012. – № 4. – С. 102-116.
4. Bengtson M. B. Irritable bowel syndrome in twins: genes and environment / M. B. Bengtson, T. Ronning, M. H. Vatn [et al.] // *Gut.* – 2006. – № 55. – P. 1754-1759.
5. Jarrett M. E. Relationship of SERT polymorphisms to depressive and anxiety symptoms in irritable bowel syndrome / M. E. Jarrett, R. Kohen, K. C. Cain [et al.] // *Biol. Res. Nurs.* – 2007. – № 9. – P. 161-169.
6. Morris-Yates A. Evidence of a genetic contribution to functional bowel disorder / A. Morris-Yates, N. J. Talley, P. M. Boyce [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 1998. – № 93. – P. 1311-1317.
7. Saito Y. A. The genetics of irritable bowel syndrome / Y. A. Saito, G. M. Petersen, G. R. Locke [et al.] // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2005. – № 3. – P. 1057-1065.
8. Sikander A. Serotonin transporter promoter variant: analysis in Indian IBS patients and control population / A. Sikander, S. Rana, V. Sinha [et al.] // *J. Clin. Gastro.* – 2009. – № 43. – P. 957-961.
9. Yeo A. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women / A. Yeo, P. Boyd, S. Lumsden [et al.] // *Gut.* – 2004. – № 53. – P. 1452-1458.

Москалюк И.И.

Буковинский государственный медицинский университет

ДИФFUЗНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ И СИНДРОМ РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА: ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ

Аннотация

Обследовано 38 женщин на диффузный токсичный зоб в т.ч. с признаками синдрома раздраженного кишечника (СРК), которым проведен генетический анализ. По характеру нарушений со стороны органов пищеварения больных разделено на 3 группы. В 1-ю группу вошли 12 больных диффузным токсичным зобом в сочетании СРК с диареей, во 2-ю группу – 12 пациентов с запором, в 3-ю группу – 14 больных тиреотоксикозом без нарушений со стороны органов пищеварения. В 1 группе пациентов нами выявлены все виды полиморфизма: 67% имели гомозиготный носитель LL аллеля гена SERT, 25% – SS – генотип, и только 1 больной(8%) был гетерозиготным носителем LS- варианта. У лиц 2-й группы наблюдалась иная тенденция. 75% пациентов были LS – гетерозиготами, тогда как 25% имели SS – вариант генотипа. При анализе группы лиц без нарушения кишечной функции количество больных с SS – генотипом (79%) достоверно преобладало количество LS – гетерозигот (21%). Установлено, что вид кишечной дисфункции при диффузном токсичном зобе связан с полиморфизмом гена SERT, что обуславливает необходимость коррекции лечебной тактики у таких больных.

Ключевые слова: ген, полиморфизм, серотонин, кишечник, диффузный токсический зоб.

Moskaliuk I.I.

Bukovinian State Medical University

DIFFUSE TOXIC GOITER AND IRRITABLE BOWEL SYNDROME: GENETIC POLYMORPHISM

Summary

The study involved 38 women with diffuse toxic goiter and irritable bowel syndrome (IBS), who has been conducted a genetic analysis. The patients were divided into 3 groups. The first group included 12 patients with diffuse toxic goiter combined with IBS-D, second group – 12 patients with a predominance of constipation. Third group consisted of 14 persons with thyrotoxicosis without violation of the digestive system. In a first group of patients we have found all types of polymorphism: 67% homozygous LL alleles carrier gene SERT, 25% – SS-genotype, and only 1 patient (8%) was heterozygous carrier of LS-variant. Among persons of second group were 75% patients with LS-genotype, 25% had SS-variant. In the third group 79% patients had SS-genotype and 21% – LS-genotype. The type of intestinal dysfunction in diffuse toxic goiter with IBS is linked to SERT gene polymorphism, it shows the necessity of treatment correction in such patients.

Keywords: gene, polymorphism, serotonin, intestine, diffuse toxic goiter.