

УДК 616.441-006.5:616.34-002.1

І. І. Москалюк

Буковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціГЕНЕТИЧНІ ТА НЕЙРО-ГУМОРАЛЬНІ
ОСОБЛИВОСТІ РІЗНИХ ТИПІВ
СИНДРОМУ ПОДРАЗНЕНОГО
КИШЕЧНИКУ У ХВОРИХ НА ТОКСИЧНІ
ФОРМИ ЗОБУ

Ключові слова: токсичні форми зобу, синдром подразненого кишечника, серотонін, ген.

Резюме. У статті виявлені закономірності впливу генетично детермінованої концентрації серотоніну на тип синдрому подразненого кишечника у хворих на токсичні форми зобу. Встановлено, що у хворих на тиреотоксикоз порушення функціонального стану кишечника спричинені надмірною активністю серотоніну. Вид кишкової дисфункції при тиреотоксикозі пов'язаний з поліморфізмом гена SERT: LL-генотип спостерігається за прискореної моторики кишечника, а S – алель – за уповільненої. Виявлено, що концентрація серотоніну в плазмі крові залежить від поліморфізму гена SERT: LL-генотип призводить до підвищеного рівня серотоніну, S – алель – до зниження зворотного захоплення цього гормону.

Вступ

Підвищення інтересу до проблеми тиреоїдної патології за останні роки спричинене її зростаючою поширеністю серед населення України, високою частотою тимчасової і стійкої непрацездатності, що визначає соціальну значущість захворювань. Так, у структурі ендокринних захворювань основне місце належить саме патології щитоподібної залози (ЩЗ) (47,3 %) [5]. Поширеність синдрому тиреотоксикозу (ТТ) в Україні (станом на 1.01.2012 р.) становила 117,9 на 100 тис. населення, захворюваність населення України на тиреотоксикоз у 2011 р. становила 13,6 на 100 тис. населення. Щорічний приріст числа зареєстрованих хворих на токсичні форми зобу (ТФЗ) досягає 4,7 % [6].

Надлишок гормонів ЩЗ має руйнівний вплив практично на всі органи та тканини організму, не є виключенням і органи травлення [3]. Порушення функціонального стану кишечника зустрічається у майже 60% хворих на ТТ і часто навіть після ефективної тиреостатичної терапії перетворюється у синдром подразненого кишечника (СПК). СПК значно погіршує якість життя пацієнтів, особливо за наявності поєднаної патології [4]. Складність даної проблеми зумовлена тим, що багато ланок патогенезу як ТФЗ, так і СПК досліджено недостатньо повно. Зокрема, недостатньо різнобічно досліджено роль генетичних та нейрогуморальних факторів у виникненні і прогресуванні кишкової дисфункції у хворих на ТФЗ.

Відомо, що одним із провідних гормонів, що впливає на органи травлення є серотонін, який ре-

гулює моторно-евакуаторну, секреторну функцію кишечника, має судиннорозширюючу, ноцицептивну дію та впливає на вегетативну нервову систему [9]. Одним із регуляторів кількості серотоніну є білок-переносник, функція якого кодується геном SERT [8,10,11]. Однак дослідження зв'язку концентрації серотоніну та її генетичної детермінованості у пацієнтів з різними видами порушень функції кишечника практично не проведені.

Мета дослідження

Вивчити поліморфізм гена SERT, його вплив на концентрацію серотоніну в плазмі крові та їх зв'язок з видом кишкової дисфункції при синдромі подразненого кишечника у хворих на токсичні форми зобу.

Матеріал та методи

Дослідження проведені в 106 хворих на токсичні форми зобу (субкомпенсований тиреотоксикоз середнього ступеня тяжкості, обумовлений дифузним, вузловим та змішаним токсичним зобом II-III ст.), які підписали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Вік хворих коливався від 22 до 45 років, в середньому $32,5 \pm 1,6$ років.

Всі хворі були комплексно обстежені, що включало збір скарг, анамнезу, об'єктивне обстеження, лабораторні та інструментальні дослідження.

Наявність тиреотоксикозу діагностували на основі клінічних даних, результатів УЗД щитоподібної залози, визначення рівня гормонів ТТГ, вільних T_3 , T_4 .

Діагноз СПК виставляли на основі Римських критеріїв III (2006 р.) [2].

Дослідження моторно-евакуаторної функції кишечника проводили за допомогою удосконаленого нами методу фоноентерографії (ФЕГ) (патент на корисну модель № 74142).

За характером порушень із боку органів травлення хворих розподілено на 2 групи. До 1-ї групи увійшли хворі на ТФЗ та СПК із перевагою проносів (35 осіб), до 2-ї групи - з перевагою закрепів (34 особи). 3-ю групу склали 37 хворих з токсичними формами зобу без проявів порушень з боку органів травлення. Контролем слугували 20 практично здорових осіб.

Рівень серотоніну досліджували методом ІФА, використовуючи реактиви фірми "DRG" (Німеччина).

Алелі поліморфної ділянки 5-HTTLPR гена SERT вивчали шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферичної крові, стабілізованої ЕДТА як антикоагулянта ("Merk®", Німеччина), із наступною ампліфікацією поліморфної ділянки за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на програмованому ампліфікаторі «Amplify-4L» (Росія), з індивідуальною температурною програмою для специфічних праймерів: sense (5'-

GCCGCTCTGAATGCCAGCAC 3'), antisense (5'-GGAGGAACTGACC-CCTGAAAAGTGG 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 проводилася з використанням електронних таблиць Microsoft® Office Excel (build 11.5612.5703) та програми для статистичної обробки Statgraphics Plus 5.1 Enterprise edition (©Statistical Graphics corp. 2001). Статистичну залежність між величинами перевіряли шляхом визначення критерію Фішера, у т.ч. відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга.

Обговорення результатів дослідження.

При дослідженні моторно-евакуаторної функції кишечника виявлено, що у хворих 1-ї групи за результатами ФЕГ (рис. 1) спостерігалось зростання кількості перистальтичних хвиль, зменшення їх тривалості на тлі зростання амплітуди, зростання сумарного часу скорочень, зростання індексу сили

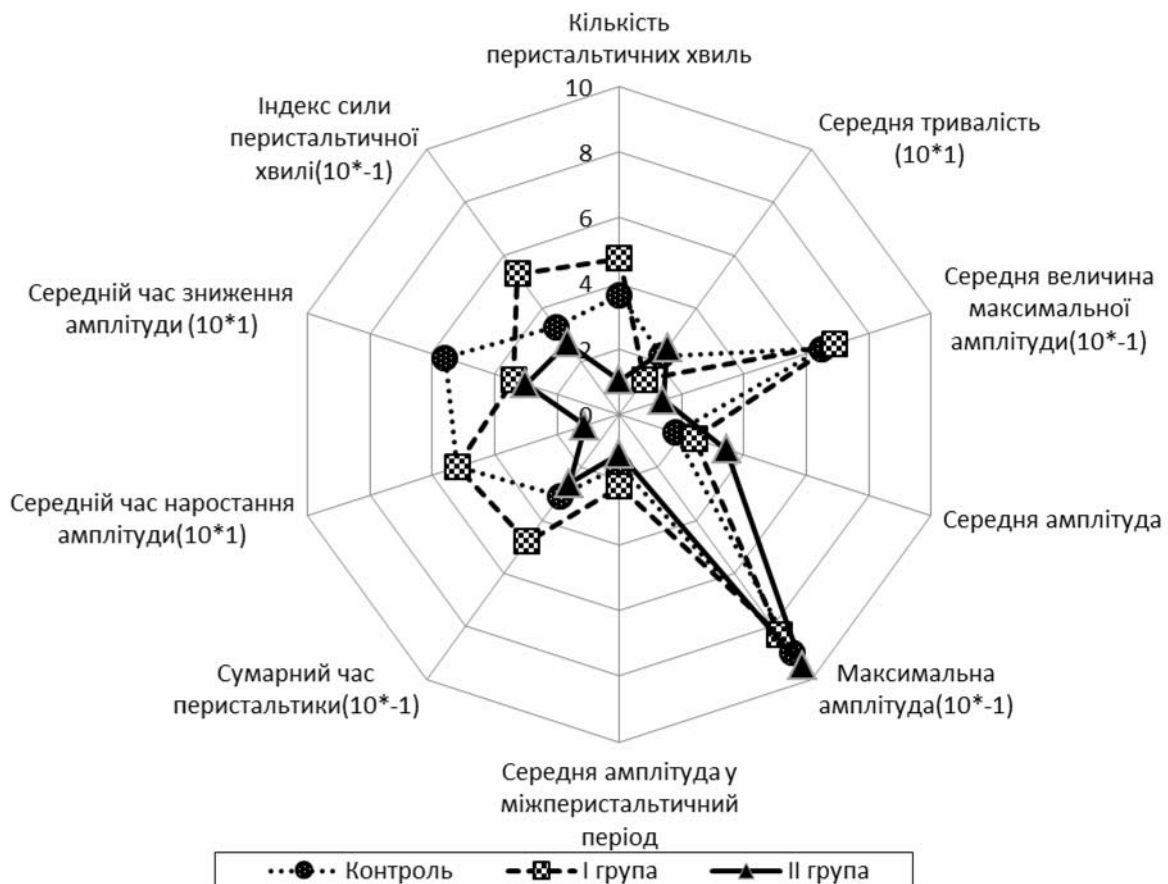


Рис. 1. Параметри фоноентерографії у хворих на токсичні форми зобу з синдромом подразненого кишечника

Таблиця 1

Рівень серотоніну в плазмі крові у хворих на токсичні форми зобу із синдромом подразненого кишечника

Показник	Контроль	Хворі на токсичні форми зобу із синдромом подразненого кишечника	Хворі на токсичні форми зобу із синдромом подразненого кишечника з перевагою проносів (1 група)	Хворі на токсичні форми зобу із синдромом подразненого кишечника з перевагою закрепів (2 група)	Хворі на токсичні форми зобу без кишкової дисфункції (3 група)
	1	2	3	4	5
Концентрація серотоніну (нг/мл)	140,77 ± 11,37	175,29 ± 24,23	225,34 ± 21,15 p1-2 ***	180,41 ± 15,87 p 1-4*	120,12 ± 21,3 p 2-5 * p 3-5** p 4-5 **

Примітка. * - коефіцієнт вірогідності $p < 0,05$; ** - $< 0,01$; *** - $< 0,001$ (приведені тільки статично вірогідні відмінності)

Таблиця 2

Фенотипічна характеристика хворих на токсичні форми зобу у поєднанні з синдромом подразненого кишечника залежно від поліморфізму гена SERT

№	Нозологія	Генотип SERT		
		LL, % (n)	LS, % (n)	SS, % (n)
1.	Токсичні форми зобу та синдром подразненого кишечника з перевагою проносів	67% (8)	8% (1)*	25% (3)
2.	Токсичні форми зобу та синдром подразненого кишечника з перевагою закрепів	0	75% (9) *	25% (3)
3.	Токсичні форми зобу без кишкової дисфункції	0	21% (3) *	79% (11)

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

Таблиця 3

Концентрація серотоніну в плазмі крові (нг/мл) у хворих на токсичні форми зобу із синдромом подразненого кишечника залежно від генотипу SERT

№ п/п	Генотип SERT	Практично здорові	Хворі на токсичні форми зобу із СПК з перевагою проносів (1 група)	Хворі на токсичні форми зобу із СПК з перевагою закрепів (2 група)	Хворі на токсичні форми зобу без кишкової дисфункції (3 група)	В середньому
		1	2	3	4	5
1	LL	140,77 ± 11,37	321,27 ± 48,9 p 1-2 ***	-	-	321,27 ± 48,9
2	SS	140,77 ± 11,37	174,01 ± 10,34 p1-2*	84,52 ± 12,24 p 1-3 ** p 2-3 ***	146,78 ± 25,49 p 3-4*	144,45 ± 22,46
3	LS	140,77 ± 11,37	108,35 ± 12,47 p1-2*	180,08 ± 29,43 p1-3* p2-3*	58,95 ± 15,26 p1-4*** p2-4*** p3-4***	134,65 ± 31,33

Примітка. * - коефіцієнт вірогідності $p < 0,05$; ** - $< 0,01$; *** - $< 0,001$ (приведені тільки статично вірогідні відмінності)

перистальтичної хвилі та помірного скорочення часу наростання та затихання амплітуди хвилі у порівнянні з контролем, що свідчить про посилен-

ня моторно-евакуаторної функції кишечника. У 2-й групі результати ФЕГ мали протилежний характер: спостерігалось високо вірогідне зменшен-

ня як кількості перистальтичних хвиль, так і їх тривалості, вірогідне зниження амплітуди сумарного часу скорочень, індексу сили перистальтичної хвилі та особливо скорочення середнього часу наростання та зниження амплітуди хвилі порівняно з показниками контрольної групи.

Встановлено (табл.1), що у пацієнтів з токсичними формами зобу рівень серотоніну майже на 25,3% перевищує контрольний показник.

Найвища концентрація цього гормону спостерігалась у хворих 1-ї групи з гіпермоторними порушеннями функції кишечника, на 87,6% перевищуючи такий у пацієнтів 3-ї групи і на 24,9% - у хворих 2-ї групи. Характерно, що у пацієнтів 3-ї групи, у яких були відсутні ознаки кишкової дисфункції, концентрація серотоніну у плазмі була навіть нижчою за контрольні показники.

Виявлені зміни концентрації серотоніну, з нашого погляду, дають можливість стверджувати, що одним із провідних і незалежних чинників, який сприяє функціональним порушенням з боку кишечника у хворих на тиреотоксикоз є надмірна концентрація в крові серотоніну. Кількість цього гормону в плазмі крові залежить від активності білка-переносника серотоніну, яка визначається генетично. Відповідальним за активність транспортера серотоніну є ген SERT [8,10].

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). Зокрема, довгий алель гену визначає підвищену активність білка-транспортера серотоніну, а короткий алель - знижену. Посилене зворотне захоплення серотоніну призводить до надлишку виділення гормону, що веде до надмірної стимуляції скорочення кишечника [1,7].

Нами проведено генетичні дослідження, у результаті яких встановлено, що у пацієнтів з токсичними формами зобу у поєднанні з СПК поліморфізм гена SERT має свої особливості залежно від характеру моторно- евакуаторної функції кишечника (табл.2).

У 1-й групі пацієнтів нами виявлено усі види поліморфізму: 67% обстежених мали гомозиготне носійство LL алелів гену SLC6A4, 25% - SS- генотип, і лише 8% були гетерозиготними носіями SL-варіанту.

У осіб 2-ї групи спостерігалась тенденція до носійства короткого алелю, зокрема, 75% пацієнтів були SL- 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 SL-гетерозигот (21%). Серед пацієнтів даної групи також не було гомозигот за довгим алелем.

Для оцінки ймовірності виникнення різних порушень моторно – евакуаторної функції кишечника залежно від поліморфізму гену SERT ми застосували теорію шансів.

Встановлено, що у хворих на ТФЗ з LL-варіантом гену SERT високовірогідна ймовірність виникнення СПК з перевагою проносів ($t=2,256$; $p<0,05$) у співставленні з пацієнтами, що мають SS –варіант та високовірогідна ймовірність – у співставленні з пацієнтами, що мають LS-варіант ($t= 3,795$; $p<0,01$).

У пацієнтів з наявністю LS-гетерозигот ймовірність розвитку СПК з перевагою закріпів у порівнянні з такими, що мають SS- генотип статистично не значима ($t= 1,789$; $p>0,05$).

Ймовірність відсутності порушень моторно-евакуаторної функції кишечника у хворих на ТФЗ з SS- генотипом вірогідно вища у порівнянні з такими, що мають LS-генотип гену SLC6A4 ($t=2,732$; $p<0,01$).

Нами досліджено рівень серотоніну у плазмі крові у хворих на ТФЗ та СПК залежно від поліморфізму гена SERT. Виявлено (табл.3), що при LL-варіанті концентрація серотоніну становила $321,27\pm 48,9$ нг/мл. Характерно, що цей варіант генотипу спостерігався тільки у хворих на ТФЗ з СПК з перевагою проносів.

При SS- варіанті генотипу рівень серотоніну у таких хворих склав $144,45\pm 22,46$ нг/мл, що вірогідно менше, ніж у хворих з LL-варіантом.

Разом з тим, при поділі цих хворих за характером порушень кишечника, виявлено, що у хворих, які за перевагою проносів були включені до 1-ї групи, концентрація серотоніну в плазмі крові склала $174,01\pm 10,34$ нг/мл, що значно вище за середній показник групи з SS-варіантом генотипу.

У хворих з цим варіантом генотипу, у яких виявлено клінічні ознаки переваги закріпів, рівень серотоніну в плазмі крові склав $84,52\pm 12,24$ нг/мл, що вірогідно нижче, ніж в середньому по групі та високовірогідно нижче, ніж у хворих з перевагою проносів.

У пацієнтів з тиреотоксикозом без порушення кишкової функції та варіантом генотипу SS, концентрація серотоніну склала $146,78\pm 25,49$ нг/мл, що майже не відрізняється з середніми показниками цієї групи. Це свідчить, що при SS-варіанті помірні величини рівня серотоніну тісно корелює з нормальною моторно-евакуаторною функцією

кишечнику. Зростання концентрації серотоніну у цих пацієнтів може проявитись проносами, а зниження – закрепамі.

У хворих з LS-варіантом генотипу концентрація серотоніну в плазмі становила $134,65 \pm 31,33$ нг/мл, що практично не відрізняється у таких з SS-варіантом. Це підтверджує дані літератури, що SS та LS-варіанти є найбільш сприятливі для забезпечення в крові фізіологічних параметрів серотоніну. Разом з тим, у хворих, у яких клінічно мали місце проноси, рівень серотоніну становив $108,35 \pm 12,47$ нг/мл, що значно нижче ніж в середньому по групі, а у хворих, у яких клінічно були ознаки закрепів, концентрація серотоніну зростала до $180,08 \pm 29,43$ нг/мл.

У хворих з нормальною функцією кишечника, концентрація серотоніну була найнижчою ($58,95 \pm 15,26$ нг/мл), вірогідно відрізняючись від такої у хворих з закрепамі та проносами та середньою по групі. Ймовірно, при LS-варіанті має місце посилене захоплення серотоніну з синаптичної щілини, а зростання концентрації в крові реалізує свій вплив іншими, ніж вагус-залежні механізмами.

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

Урахування виявлених особливостей дозволить розробити індивідуалізоване лікування хворих на ТФЗ з СПК з використанням антагоністів серотонінових рецепторів.

Висновки

1. У хворих на токсичні форми зобу порушення функціонального стану кишечника спричинені надмірною активністю серотоніну.

2. Вид кишкової дисфункції при тиреотоксикозі пов'язаний з поліморфізмом гена SERT: LL-генотип спостерігається за прискореної моторики кишечника, а S – алель – за уповільненої.

3. Концентрація серотоніну в плазмі крові залежить від поліморфізму гена SERT: LL-генотип призводить до підвищеного рівня серотоніну, S – алель – до зниження зворотного захоплення цього гормону.

4. Підвищення ефективності лікування хворих на токсичні форми зобу у поєднанні з СПК можливе з урахуванням поліморфізму гена SERT.

Перспектива подальших досліджень

Перспективними є дослідження інших механізмів порушення нейро-гуморальної регуляції функціональних порушень кишечника у хворих на токсичні форми зобу та синдром подразненого кишечника.

Література. 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 // Современная педиатрия. - 2009.-№1(23). - С.114-116. 2. Дорофеев А.Э. Заболевания кишечника / А.Э.Дорофеев, Т.Д.Звягинцева, Н.В.Харченко. – Горлівка : Ліхтар, 2010. –С.149-152. 3. Кандрор В.И. Механизмы развития болезни Грейвса и действия тиреоидных гормонов / В.И. Кандрор // Клини. и эксперим. тиреод. - 2008, т. 4, № 1. – С. 26-34. 4. Особенности лечения абдоминальной боли у пациентов с синдромом раздраженного кишечника / А.Э.Дорофеев, О.А.Рассохина, С.В.Коваленко-Рагушняк [и др.] // Арх. клінічної та експерим. медицини. – 2011. – Т.20, №2. – С.202-205. 5. Паньків В.І. Практична тиреїдологія (монографія) / В.І.Паньків. – Донецьк: Заславський О.Ю.,2011. – 224 с. 6. Паньків В. І. Синдром тиреотоксикозу / В. І. Паньків // Міжнар. ендокринол. ж. - 2012. - №4. - С. 102-116. 7. Рассохина О.А. Влияние серотонина на психологический статус у больных с синдромом раздраженной кишки / О.А. Рассохина // Гастроэнтерология. - 2010. - №313. – С.26-29. 8. Colucci R. Influence of the serotonin transporter 5HTTLPR polymorphism on symptom severity in irritable bowel syndrome / R/Colucci, D. Gambaccini, N. Ghisu // PLoS One . – 2013. – Vol.8, №2. – P.2-9. 9. Faure C. Serotonin signalling is altered in irritable bowel syndrome with diarrhea but not in functional dyspepsia in pediatric age patients / C. Faure, N. Patey, C. Gauthier // Gastroenterology. – 2010. - № 139(1). – P. 249-258. 10. Talley N.J. Pathogenesis of irritable bowel syndrome are genes a SERT-ainty? / N.J.Talley // Journal of Clinical Gastroenterology. – 2009. – Vol.43, №10. – P.902-904. 11. Toyoshima F. Serotonin transporter gene polymorphism may be associated with functional dyspepsia in a Japanese population / F. Toyoshima, T.Oshima, S.Nakajima [et al.] // Med. Genet. – 2011. -№12. - P.88.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И НЕЙРО-ГУМОРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ С ТОКСИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ЗОБА

И. И. Москалюк

Резюме. В статье выявлены закономерности влияния генетически детерминированной концентрации серотонина на тип синдрома раздраженного кишечника у больных с токсическими формами зоба. Установлено, что у больных с тиреотоксикозом нарушение функционального состояния кишечника вызванные чрезмерной активностью серотонина. Вид кишечной дисфункции при тиреотоксикозе связан с полиморфизмом гена SERT: LL-генотип наблюдается при ускоренной моторике кишечника, а S-аллель – при замедленной. Обнаружено, что концентрация серотонина в плазме крови зависит от полиморфизма гена SERT: LL-генотип приводит к повышенному уровню серотонина, S - аллель - к снижению обратного захвата этого гормона.

Ключевые слова. Токсические формы зоба, синдром раздраженного кишечника, серотонин, ген.

UDC 616.441-006.5:616.34-002.1

**GENETIC AND NEUROHUMORAL PECULIARITIES
OF DIFFERENT TYPES OF IRRITABLE BOWEL
SYNDROME IN PATIENTS WITH TOXIC FORMS OF
GOITER***I. I. Moskaliuk*

The aim of the study. To study SERT gene polymorphism, its effect on the concentration of serotonin in the blood plasma and their relation to the type of intestinal dysfunction in irritable bowel syndrome in patients with toxic goiter forms.

Materials and methods. The study involved 106 patients with TGF. The average age of patients was $32,5 \pm 1,6$ years. All patients were subjected to complex examination, which included the collection of complaints, anamnesis, objective examination, laboratory and instrumental investigations.

The diagnosis of thyrotoxicosis was made on the basis of clinical, laboratory (level of TSH, free T3 and T4) and instrumental data. The diagnosis of IBS was made on the basis of the Rome III criteria (2006). The level of serotonin was examined by ELISA method using reagents "DRG" (Germany). SERT gene polymorphism was identified by means of polymerase chain reaction.

All the patients were divided into 3 groups. The first group included 35 patients with TGF combined with IBS- diarrhea type, the second group - 34 patients with thyrotoxicosis and IBS with

a predominance of constipation. The 3rd group consisted of 37 patients with TGF without disorders of the digestive system. Control group involved 20 healthy individuals.

Results. The serotonin level in blood plasma of patients depended on the type of intestine disorder. The highest serotonin concentration was in patients with IBS with predominance of diarrhea. The level of serotonin in plasma in the patients of the 2nd group was lower in comparison with the 1st group, but higher – as compared with the 3rd group and the control one.

Due to genetic research, all types of polymorphism: 67% homozygous LL alleles carriers of gene SERT, 25% - SS-genotype, and only 1 patient (8%) was heterozygous carrier of LS-variant have been revealed in the first group of patients. Among the persons of the 2nd group there were 75% patients with LS-genotype, 25% had SS-variant. In the third group 79% patients had SS-genotype and 21% - LS-genotype.

Conclusion. The type of intestinal dysfunction in toxic goiter forms with IBS is connected with SERT gene polymorphism and serotonin level in blood plasma. It shows the necessity of special treatment correction in such patients.

Key words: gene, serotonin, irritable bowel syndrome, toxic goiter forms.

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №2 (44). - P.130-135.

Надійшла до редакції 17.05.2013

Рецензент – проф. О.І.Волошин

© I. I. Moskaliuk, 2013