

© М. І. ШЕРЕМЕТ¹, Л. П. СИДОРЧУК¹, В. О. ШІДЛОВСЬКИЙ², А. Д. БЕДЕНЮК², Г. С. КУРОЧКИН³, А. В. ЛЕВИЦЬКИЙ³

Буковинський державний медичний університет, Чернівці¹

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"²

Державний університет медицини та фармації імені Н. Тестеміцану, Кишинів, Республіка Молдова³

Поліморфізм генів *APO-1/Fas*, *CTLA-4* та *BCL-2* у пацієнтів, оперованих із приводу вузлової патології щитоподібної залози

Мета роботи: провести аналіз частоти поліморфних варіантів генів *BCL-2* (*rs17759659*), *CTLA-4* (*rs231775*), *APO-1/Fas* (*rs2234767*) у хворих, оперованих із приводу вузлової патології щитоподібної залози із урахуванням її виду (вузловий зоб на фоні аутоімунного тиреоїдиту (ВЗАІТ), аденома щитоподібної залози (АЩЗ)).

Матеріали і методи. Проведено аналіз частоти поліморфних варіантів генів *BCL-2* (*rs17759659*), *CTLA-4* (*rs231775*), *APO-1/Fas* (*rs2234767*) у 125 хворих, оперованих з приводу вузлової патології щитоподібної залози із урахуванням її виду – вузлового зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту, аденоми щитоподібної залози. Також обстежено 25 практично здорових донорів. Дослідження поліморфізму генів проводили методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу.

Результати досліджень та їх обговорення. Мутація генів *BCL-2* (*rs17759659*) та *CTLA-4* (*rs231775*) у гомозиготному стані у хворих, оперованих з приводу вузлової патології щитоподібної залози, зустрічається із частотою 3,2–4,0 % без вірогідної різниці між хворими на патологію щитоподібної залози та здоровими. Мутація гена *APO-1/Fas* (*rs2234767*) у гомозиготному стані серед обстежених не траплялася взагалі.

Ключові слова: вузловий зоб на фоні аутоімунного тиреоїдиту; аденома щитоподібної залози; поліморфізми *APO-1/Fas*, *CTLA-4* та *BCL-2* генів.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. На сьогодні питання етіології, патогенезу, діагностики та хірургічного лікування такої поєднаної патології, як вузловий зоб і аутоімунний тиреоїдит (АІТ) зберігають свою актуальність [1–4]. Аутоімунний тиреоїдит як фонове захворювання вузлового зоба, при якому практично завжди розвивається гіпотиреоз, на сьогодні ще вивчений недостатньо [1, 2]. В основі розвитку аутоімунних захворювань щитоподібної залози лежить взаємодія генетичних факторів і тригерів навколишнього середовища, що призводить до вислизання від механізму власної імунологічної толерантності [1–3]. Непрямим підтвердженням існування генетичного компонента є висока поширеність сімейних випадків аутоімунних захворювань щитоподібної залози (ЩЗ), яка може бути виявлена в кожному третьому випадку [19, 20]. Різні дослідницькі групи протягом багатьох років неодноразово вказували, що особи з обтяженим сімейним анамнезом щодо захворювань ЩЗ мають більший ризик виникнення даної патології. Т. Н. Вгіх та співавт. довели, що аутоімунні захворювання щитоподібної залози, включно хворобу Грейвса і тиреоїдит Хасімото, спричинені імуною відповіддю на власні антигени щитоподібної залози і «зачіпає» приблизно 2–5 % від загальної популяції [18].

Важливу роль у розвитку ВЗАІТ відіграє поліморфізм генів інгібіторів активації Т-лімфоцитів *CTLA-4* (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, associated with 4 molecules) та *PTPN22* (Protein tyrosine

phosphatase, non-receptor type 2) [15–17]. Описано мутації в інших генах, які впливають на функцію лімфоїдної тканини ЩЗ, чи апоптоз у т. ч. тиреоцитів: ген регулятора апоптозу *BCL-2* (*B-cell lymphoma 2*) (*rs17759659*), *APO-1/Fas* (apoptosis antigen 1 / cluster of differentiation 95 (*CD95*)) (*rs2234767*), локуси, асоційовані з АІТ, наявні на хромосомах 2 (2q33), 6 (6p21), 8 (8q24), 12 (12q22) та 13 (13q32) тощо [13–17].

Про роль генетичних чинників свідчить і асоціація вузлового зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту та аденоми щитоподібної залози із антигенами HLA-системи: поєднується з генами HLA-B8, HLA-DR3 та HLA-DR5; гіпертрофічна форма ВЗАІТ – із генами HLA-DR5, атрофічна – із генами HLA-DR3 та HLA-B8. Маркером найбільш значного спадкового ризику розвитку АІТ є HLA DQw7. Передбачають також, що можуть успадковуватися специфічні клони Т-лімфоцитів, здатних взаємодіяти із власними антигенами ЩЗ [10–12, 16, 18].

Мета роботи: провести аналіз частоти поліморфних варіантів генів *BCL-2* (*rs17759659*), *CTLA-4* (*rs231775*), *APO-1/Fas* (*rs2234767*) у хворих на патологію ЩЗ із урахуванням її виду (ВЗАІТ, АЩЗ).

Матеріали і методи. Упродовж 2013–2016 рр. на базі Чернівецького обласного ендокринологічного диспансеру обстежили 95 жінок з ВЗАІТ. Вік пацієнтів коливався від 23 до 72 років. Діагноз вста-

новлювали на підставі клінічних і лабораторних методів (антитіла до тиреопероксидази (АТПО) – 60–250 ОД/мл; антитіла до тиреоглобуліну (АТТГ) – 60–500 ОД/мл; тиреотропний гормон (ТТГ) – 4–10 мОД/л), також УЗД ЩЗ та підтверджували гістологічно після хірургічного лікування.

Виділено групу 30 жінок, у яких за даними УЗД, тонкоглкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ) ЩЗ та гістологічного заключення після операції, діагностовано аденому ЩЗ. Ми виділили цю групу, оскільки дана патологія є однією з найбільш розповсюджених серед вузлових форм зоба.

Обстежували також 25 практично здорових донорів.

Генетичні дослідження виконували в лабораторії генетики на базі Державного університету медицини та фармації імені Н. Тестеміцану (Республіка Молдова). ДНК виділяли з лімфоцитів цільної венозної крові. Венозну кров зберігали в пробірках, стабілізовану K2-EDTA. Виділення і очищення ДНК із отриманого матеріалу проводили відповідно до методичного керівництва Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification kit. # K0721, Thermo Fisher Scientific. Для стандартизації умов проведення визначення поліморфізмів всі спроби були приведені до концентрації 2 нг/мкл, розведенням ДНК у воді Nuclease-free water.

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили в режимі реального часу (RT-PCR) із використанням Taq-ДНК-полімерази і специфічних праймерів на обладнанні QuantStudio 6, Applied Biosystems (США), що дозволило отримати амплікони, визначити їх кількість у “реальному часі”, а також зменшити ймовірність діагностичних помилок. Аналіз отриманих даних проводили з застосуванням програми QuantStudio RealTime Software (рис. 1–3).

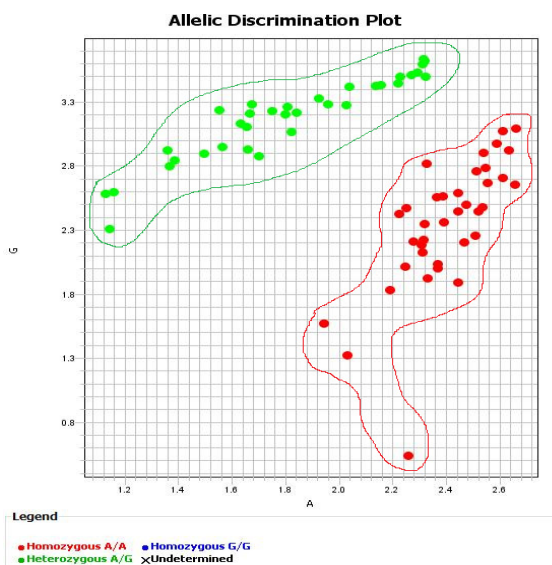


Рис. 1. Дискримінація алелей поліморфізму rs 231775 гена *CTLA4*.

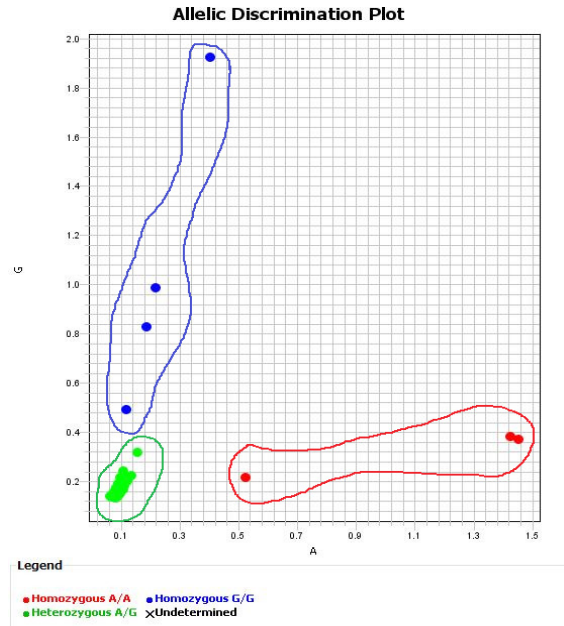


Рис. 2. Дискримінація алелей поліморфізму rs 17759659 гена *BCL-2*.

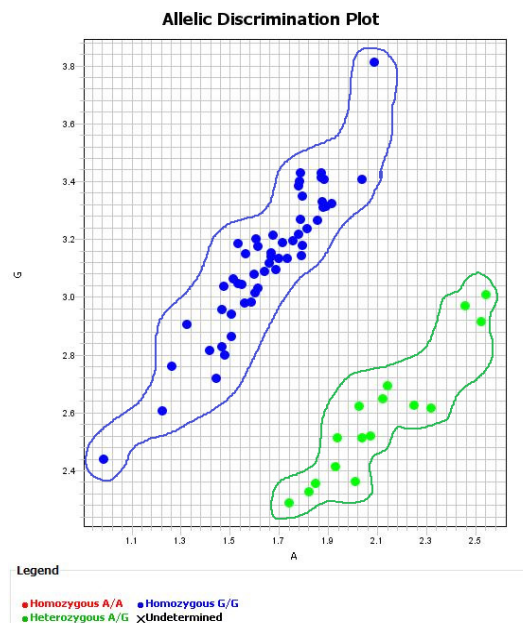


Рис. 3. Дискримінація алелей поліморфізму rs 2234767 гена *Fas*.

Основну частину статистичного аналізу було проведено з використанням програми «Statistica 7.0» (SPSS). Номінальні дані подано у вигляді кількісних та відсоткових значень. Відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді – Вайнберга перевіряли за допомогою Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology Studies (<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>). Для порівняння розподілу генотипів у дослідній та контрольній групах застосовували χ^2 -критерій Пірсона. Достовірність відмінностей середніх величин у групах із різними генотипами визначали за допомогою

методики однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Вплив чинників на розвиток патології ШЗ оцінювали за допомогою моделі бінарної логістичної регресії за величиною відносного ризику (RelR), відношенням ризиків (RR) і відношенням шансів (OR) з 95 % довірчим інтервалом [95 % CI] з урахуванням критерію χ^2 (df = 1). Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз мультиплікативної кодомінантної моделі успадкування патології ШЗ засвідчив, що відносна частота досліджуваних поліморфних варіантів генів *BCL-2* (rs17759659), *CTLA-4* (rs231775) та *APO-1/Fas* (rs2234767) вірогідно між групами дослідження не відрізнялась (табл. 1). У обстеженій популяції як хворих загалом, так і здорових домінував GA-генотип гена *BCL-2* із паритетним співвідношенням дикого A-алеля і G-алеля (52 % проти 48 % – у хворих ($p > 0,05$) та 54 % проти 46 % – у здорових ($p > 0,05$)). Аналіз алельного стану гена *CTLA-4* (rs231775) засвідчив домінування дикого A-алеля над мутаційним G-алелем: у 2,57 раза – у хворих (72 % проти 28 %, $\chi^2=96,8$; $p < 0,001$), у

3,54 раза – у здорових (78 % проти 22 %, $\chi^2=31,36$; $p < 0,001$). За геном *APO-1/Fas* (rs2234767) встановили переважання G-алеля над мутаційним A-алелем: у 9,87 раза – у хворих (90,8 % проти 9,2 %, $p < 0,001$), у 7,33 раза – у здорових (88 % проти 12 %, $\chi^2=57,76$; $p < 0,001$).

Розподіл генотипів A/G поліморфізму гена *BCL-2* у когорті обстежених не відповідав закону *Hardy-Weinberg* ($\chi^2=11,93$; $p < 0,001$), із вірогідною різницею між очікуваною на фактичною гетерозиготністю ($p < 0,001$).

Аналіз розподілу генотипів 49A>G поліморфізму гена *CTLA-4* та алелей 1378G>A поліморфізму гена *Fas* засвідчив відповідність закону *Hardy-Weinberg* ($p > 0,05$). Відмінність у розподілі генотипів у групі контролю та хворих перевіряли за допомогою тесту хі-квадрат із 2-ма ступенями свободи. При аналізі алельного стану обох генів встановили незначний надлишок гетерозиготності у всіх групах спостереження ($F=-0,23/-0,05$; $p > 0,05$), що не порушувало очікуваної популяційної рівноваги.

Дискримінацію генотипів проаналізованих проб поліморфізму rs 231775 гена *CTLA4*, rs17759659 ге-

Таблиця 1. Розподіл поліморфних варіантів генів *BCL-2* (rs17759659), *CTLA-4* (rs231775), *APO-1/Fas* (rs2234767) в обстежених із патологією щитоподібної залози

Досліджуваний ген, n (%)		Дослідна група, n=125 (%)	Контроль, n=25 (%)	ВШ [95 % CI]	χ^2 p
<i>BCL-2</i> (A/G), n (%)	AA	10 (8,0)	3 (12,0)	0,64 [0,16-2,51]	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$
	GA	110 (88,0)	21 (84,0)	1,40 [0,42-4,63]	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$
	GG	5 (4,0)	1 (4,0)	1,0 [0,11-8,95]	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$
χ^2 p		$\chi^2 = 252,0$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 43,68$ $p < 0,001$	–	–
<i>CTLA-4</i> (+49G/A), n (%)	AA	59 (47,20)	15 (60,0)	0,60 [0,25-1,43]	$\chi^2 = 1,37$ $p > 0,05$
	GA	62 (49,60)	9 (36,0)	1,75 [0,72-4,25]	$\chi^2 = 1,55$ $p > 0,05$
	GG	4 (3,20)	1 (4,0)	0,79 [0,08-7,41]	$p > 0,05$
χ^2 p		$\chi^2 = 76,78$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 17,76$ $p < 0,001$	–	–
<i>Fas</i> (-1378G/A), n (%)	AA	0	0	–	–
	GA	23 (18,40)	6 (24,0)	0,71 [0,26-1,99]	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$
	GG	102 (81,60)	19 (76,0)	1,40 [0,50-3,90]	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$
χ^2 p		$\chi^2 = 99,86$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 11,52$ $p < 0,001$	–	–

Примітка. ВШ – відношення шансів; n – абсолютна кількість.

на *BCL-2* і rs2234767 гена *APO-1/Fas* наведено на рисунках 1–3.

Розподіл поліморфних варіантів генів *CTLA4* (rs 231775), *BCL-2* (rs17759659) і *APO-1/Fas* (rs2234767) у обстежених залежно від виду досліджуваної патології ЩЗ (ВЗАІТ, АЩЗ) наведено у таблиці 2. Відносна частота генотипів аналізованих генів між хворими на ВЗАІТ та АЩЗ вірогідно не відрізнялась.

Популяційний та расовий аналіз засвідчив, що частота мінорного *G*-алеля гена *BCL-2* у обстежених нами осіб не відрізняється вірогідно від популяції європеїдної раси ($p > 0,05$). Натомість частота дикого *A*-алеля у наших дослідженнях є вагомо меншою від такої для екваторіальної раси та окремих популяцій азіатської раси ($P_A = 0,52–0,54$ проти $P_C = 0,65–1,0$; $p < 0,05$), і не відрізняється від такої для європеїдів ($P_C = 0,50–0,56$; $p > 0,05$) відповідно [21].

Таблиця 2. Розподіл поліморфних варіантів генів *BCL-2* (rs17759659), *CTLA-4* (rs231775) та *APO-1/Fas* (rs2234767) в обстежених залежно від патології щитоподібної залози

Досліджуваний ген, n (%)		Контроль, n=25 (%)	Дослідна група, n (%)		χ^2 p	Загалом, n=150 (%)
			АЩЗ, n=30	ВЗАІТ, n=95		
<i>BCL-2</i> (A/G), n (%)	AA	3 (12,0)	1 (3,33)	9 (9,47)	$p > 0,05$	13 (8,67)
	GA	21 (84,0)	29 (96,67)	81 (85,26)	$p > 0,05$	131 (87,33)
	GG	1 (4,0)	0	5 (5,26)	–	6 (4,0)
χ^2		$\chi^2 = 64,80$	–	$\chi^2 = 209,8$		$\chi^2 = 356,5$
p		$p < 0,001$		$p < 0,001$		$p < 0,001$
<i>CTLA-4</i> (+49G/A), n (%)	AA	15 (60,0)	12 (40,0)	47 (49,47)	$\chi^2 < 1,0$	74 (49,33)
	AG	9 (36,0)	18 (60,0)	44 (46,32)	$p > 0,05$	71 (47,33)
	GG	1 (4,0)	0	4 (4,21)	–	5 (3,33)
χ^2		$\chi^2 = 36,48$	$\chi^2 = 2,40$	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$	–	$\chi^2 = 108,2$
p		$p < 0,001$	$p > 0,05$			$p < 0,001$
<i>Fas</i> (-1377G/A), n (%)	GA	6 (24,0)	5 (16,67)	18 (16,84)	$\chi^2 < 1,0$	29 (19,33)
	GG	19 (76,0)	25 (83,33)	77 (83,16)	$p > 0,05$	121 (80,67)
χ^2		$\chi^2 = 72,20$	$\chi^2 = 26,67$	$\chi^2 = 73,28$	–	$\chi^2 = 112,9$
p		$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$		$p < 0,001$

Примітка. n – абсолютна кількість; p – вірогідність різниць між групою хворих на АЩЗ і ВЗАІТ.

Расові та популяційні відмінності поліморфних варіантів гена *CTLA-4* (rs231775) у порівняльному аспекті засвідчили, що частота основного *A*-алеля гена *CTLA-4* у мешканців Буковини ($P_A = 0,72–0,78$), а також мінорного *G*-алеля ($P_G = 0,22–0,28$) відповідають таким у середньому для європеїдних популяцій ($P_A = 0,61–0,88$ і $P_G = 0,12–0,39$; $p > 0,05$), засвідчуючи відносну однорідність за поліморфним локусом досліджуваного гена. При цьому встановили суттєві відмінності при порівнянні з окремими популяціями екваторіальної раси, де частота виявлення алелей і генотипів має широкий розкид і розбіжності, засвідчуючи досить високу гетерогенність ($P_A = 0,54–0,67$ і $P_G = 0,33–0,46$; $p < 0,05$, відповідно). Дещо меншу гетерогенність встановили для популяції азіатської раси, у яких частота *A*-алеля, за даними NCBI, є вірогідно нижчою від виявленої, а *G*-алеля, навпаки – перевищує таку у мешканців Буковини ($P_A = 0,29–0,37$ і $P_G = 0,63–0,71$; $p < 0,05$, відповідно) [22].

Частота алелей поліморфного сайту гена *APO-1/Fas* (rs2234767) у обстежених нами осіб не відрізнялась від середньої для європеїдних популяцій ($P_A = 0,09–0,12$, $P_G = 0,88–0,91$ проти $P_A = 0–0,12$ і $P_G = 0,88–1,0$ для європеїдної раси, відповідно, $p > 0,05$). Однак частота мінорного *A*-алеля у нашому дослідженні виявилась вірогідно нижчою, а *G*-алеля – вищою, ніж у популяціях азіатської ($P_A = 0,21–0,42$, $P_G = 0,58–0,79$) і, особливо, екваторіальної рас ($P_A = 0,54–0,67$, $P_G = 0,33–0,46$), відповідно ($p < 0,05$) [23].

За допомогою методів клінічної епідеміології проаналізували ризик появи ВЗАІТ та АЩЗ у популяції з урахуванням генетичної складової (табл. 3, 4). Поліморфізм генів *BCL-2* (rs17759659) та *APO-1/Fas* (rs2234767) не є чинниками ризику патології ЩЗ загалом, ВЗАІТ чи АЩЗ зокрема.

Поліморфні варіанти *CTLA-4* (rs231775) не асоціюють із ризиком появи ВЗАІТ чи АЩЗ (табл. 5).

Таблиця 3. Поліморфні варіанти гена *BCL-2* (rs17759659) як чинники ризику патології щитоподібної залози

Генотип гена <i>BCL-2</i>		<i>RelR</i>	<i>OR</i>	95 % <i>CI RR</i>	95 % <i>CI OR</i>	<i>p</i>
Патологія щитоподібної залози	AA	0,67	0,63	0,20-2,25	0,16-2,51	>0,05
	AG	1,05	1,40	0,87-1,26	0,42-4,63	>0,05
	GG	1,0	1,0	0,12-8,20	0,11-8,95	>0,05
Аденома щитоподібної залози	AA	0,28	0,26	0,03-2,51	0,02-2,60	>0,05
	AG	1,15	5,52	0,96-1,38	0,58-53,05	>0,05
	GG	–	–	–	–	–
Вузлові форми зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту	AA	0,79	0,77	0,23-2,70	0,19-3,07	>0,05
	AG	1,01	1,10	0,84-1,23	0,33-3,70	>0,05
	GG	1,32	1,33	0,16-10,76	0,15-11,96	>0,05

Примітка. *RelR* (relative risk) – відносний ризик; *OR* (Odds Ratio) – відношення шансів; 95 % *CI RR*, *OR* (confidence interval) – довірчий інтервал відношення ризиків (*RR*), шансів (*OR*).

Таблиця 4. Поліморфні варіанти гена *APO-1/Fas* (rs2234767) як чинники ризику патології щитоподібної залози

Генотипи гена <i>APO-1/Fas</i>		<i>RelR</i>	<i>OR</i>	95 % <i>CI RR</i>	95 % <i>CI OR</i>	<i>p</i>
Патологія щитоподібної залози загалом	AG	0,77	0,71	0,35-1,69	0,26-1,99	>0,05
	GG	1,07	1,40	0,84-1,36	0,50-3,90	>0,05
Аденома щитоподібної залози	AG	0,69	0,63	0,24-2,01	0,17-2,39	>0,05
	GG	1,10	1,58	0,84-1,44	0,42-5,96	>0,05
Вузлові форми зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту	AG	0,79	0,74	0,35-1,78	0,26-2,12	>0,05
	GG	1,07	1,35	0,84-1,36	0,47-3,87	>0,05

Примітка. Вузлові форми зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту; *RelR* (relative risk) – відносний ризик; *OR* (Odds Ratio) – відношення шансів; 95 % *CI RR*, *OR* (confidence interval) – довірчий інтервал відношення ризиків (*RR*), шансів (*OR*).

Таблиця 5. Поліморфні варіанти гена *CTLA-4* (rs231775) як чинники ризику патології щитоподібної залози

Генотип гена <i>CTLA-4</i>		<i>RelR</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI RR</i>	95% <i>CI OR</i>	<i>p</i>
Патологія щитоподібної залози (загалом)	AA	0,79	0,60	0,54-1,14	0,25-1,43	>0,05
	AG	1,38	1,75	0,79-2,39	0,72-4,25	>0,05
	GG	0,80	0,79	0,09-6,86	0,08-7,41	>0,05
Аденома щитоподібної залози	AA	0,67	0,44	0,39-1,15	0,15-1,31	>0,05
	AG	1,67	2,67	0,92-3,03	0,89-7,98	>0,05
	GG	–	–	–	–	–
Вузлові форми зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту	AA	0,82	0,65	0,56-1,20	0,27-1,60	>0,05
	AG	1,29	1,53	0,73-2,27	0,62-3,81	>0,05
	GG	1,05	1,05	0,12-9,01	0,11-9,88	>0,05

Примітка. *RelR* (relative risk) – відносний ризик; *OR* (Odds Ratio) – відношення шансів; 95 % *CI RR*, *OR* (confidence interval) – довірчий інтервал відношення ризиків (*RR*), шансів (*OR*).

Висновки. 1. Мутація генів *BCL-2* (rs17759659) та *CTLA-4* (rs231775) у гомозиготному стані серед мешканців дорослої популяції Північної Буковини зустрічається із частотою 3,2–4,0 % без вірогідної різниці між хворими на патологію ЩЗ та здоровими. Мутація гена *APO-1/Fas* (rs2234767) у гомозиготному стані серед обстежених не зустрічалась взагалі.

2. АЩЗ та ВЗАІТ частіше зустрічається у носіїв

мінорного G-алеля (GA- і GG-генотипи) гена *BCL-2* та гомозиготних власників основного G алеля (GG-генотипу) гена *Fas* – у 11,5 і 4,34 раза ($p < 0,001$), без суттєвої залежності між генотипами гена *CTLA4*.

3. Патологія ЩЗ загалом має невірогідні шанси на успадкування залежно від поліморфізму генів *BCL-2* (rs17759659), *CTLA-4* (rs231775) та *APO-1/Fas* (rs2234767).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Research of prognostic markers of proliferation and apoptosis in patients with nodular goiters combined with autoimmune thyroiditis / M. I. Sheremet, L. P. Sydoruk, V. O. Shidlovskiy, A. D. Bedenyuk // Archives of the Balkan Medical Union. – 2016. – Vol. 51 (4). – P. 488–491.
2. Tsyganenko O. S. Immunomorphological reaction in the thyroid tissue in patients with autoimmune thyroiditis in combination with nodular goiter / O. S. Tsyganenko,

- R. S. Voroschuk // *Arta Medica. Nicholas Anestiadi, Tenth Congress of the Association of Surgeons of Moldova: Chisinau. 2007 October.* – Vol. 4 (25). – P. 51–52.
3. New prognostic markers of nodular forms of goiter combined with autoimmune thyroiditis / M. I. Sheremet, L. P. Sydorчук, V. O. Shidlovskiy [et al.] // *Journal of Education, Health and Sport.* – 2017. – Vol. 7 (3). – P. 475–482.
 4. Cytokines cascade changes in patients with rheumatoid arthritis depending on endothelial no-synthase (T-786C) genes polymorphism / L. P. Sydorчук, A. R. Sydorчук, M. I. Sheremet [et al.] // *Archives of the Balkan Medical Union.* – 2017. – Vol. 52, No. 1. – P. 32–38.
 5. Сидорчук Л. П. Поліморфізм генів коннексину 26 (GJB2) та інтерлейкіну 4 (C-590T) у дітей – жителів Буковини із втратою слуху / Л. П. Сидорчук, О. М. Іфтода, О. В. Кушнір // *Врачебное дело.* – 2017. – № 5-6. – (1139). – С. 25–30.
 6. Sydorчук L. P. Influence of pharmacogenetically determined treatment on parameters of peripheral hemodynamics in patients with arterial hypertension / L. P. Sydorчук, K. M. Amosova // *The New Armenian Medical J.* – 2011. – Vol. 5 (2). – P. 35–43.
 7. CTLA-4 and TNF- α promoter-308 A/G polymorphisms and ANCA-associated vasculitis susceptibility: a meta-analysis / Y. H. Lee, S. J. Choi, J. D. Ji, G. G. Song // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, No. 1. – P. 319–326.
 8. Constitutive and induced expression of APO-1, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor superfamily, in normal and neoplastic cells / F. Leithäuser, J. Dhein, G. Mechtersheimer [et al.] // *Lab. Invest.* – 1993. – Vol. 69. – P. 415–429.
 9. Association of FAS gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A case-control study and meta-analysis / Man-Man Lu, Qian-Ling Ye, Chen-Chen Feng [et al.] // *Experimental and Therapeutic Medicine.* – 2012. – Vol. 4. – P. 497–502.
 10. Асоціація поліморфізмів генів IL-1B, IL-4 І IL-6 с формированием генетической предрасположенности к аутоиммунному тиреоидиту / Э. М. Биктагирова, Л. И. Саттарова, Г. Р. Вагапова, О. А. Кравцова // *Медицинская иммунология.* – 2011. – № 13(6). – С. 603–608.
 11. Dong Y. H. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge / Y. H. Dong, D. G. Fu // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2014. – Vol. 18 (23). – P. 3611–3618.
 12. Tomer Y. Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function / Y. Tomer, T. F. Davies // *Endocr. Rev.* – 2003. – Vol. 24 (5). – P. 694–717. doi: 10.1210/er.2002-0030.
 13. Поліморфізм A49G гена цитотоксического T-лимфоцитсвязанного иммуноглобулина 4 (CTLA4), связь с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы в популяции Новосибирска / Ю. П. Никитин, О. Д. Рымар, В. Н. Максимов [и др.] // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология.* – 2008. – Т. 4. – №4. – С. 41–45.
 14. Association of CTLA-4 variants with susceptibility to inflammatory bowel disease: a meta-analysis / M. Zhang, J. Ni, W. D. Xu [et al.] // *Hum. Immunol.* – 2014. – Vol. 75, No. 3. – P. 227–233.
 15. Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 polymorphism and Hashimoto's thyroiditis susceptibility: a meta-analysis / H. Qiu, W. Tang, P. Yin [et al.] // *Endocrine.* – 2014. – Vol. 45, No. 2. – P. 198–205.
 16. Влияние полиморфизмов генов CTLA-4 и RPTN-22 на риск развития аутоиммунного тиреоидита среди населения республики Татарстан / Э. М. Биктагирова, О. А. Кравцова, Л. И. Саттарова, Г. Р. Вагапова // *Медицинская иммунология.* – 2010. – № 12(1-2). – С. 103–114.
 17. CTLA-4 gene poly-morphisms and their influence on predisposition to autoimmune thyroid diseases (Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis) / D. Pastuszek-Lewandoska, E. Sewerynek, D. Domańska [et al.] // *Arch. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 4, 8, No. 3. – P. 415–421.
 18. Brix T. H. Twin studies as a model for exploring the aetiology of autoimmune thyroid disease / T. H. Brix, L. Hegedus // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2012. – Vol. 76 (4). – P. 457–464. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04318.
 19. Kochetova O. V. DIO2, TPO, CYP1A1 AND CYP1A2 gene polymorphism in women with thyroid disease / O. V. Kochetova, M. K. Gaynullina, T. V. Viktorova // *Gig. Sanit.* – 2014. – No. 3. – P. 52–56.
 20. Is the TSHR D727E polymorphism a genetic predisposition for multinodular goiter in the Turkish population? / H. I. Gözü, S. Özçelik, M. Aloğlu [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2016. – No. 15 (3). – P. 385–390.
 21. Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation) / dbSNP Short Genetic Variation // NCBI. – 2017. – URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=rs17759659
 22. Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation) / dbSNP Short Genetic Variation // NCBI. – 2017. – URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=231775
 23. Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation) / dbSNP Short Genetic Variation // NCBI. – 2017. – URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=2234767

REFERENCES

1. Sheremet, M.I., Sydorчук, L.P., Shidlovskiy, V.O. & Bedeniuk, A.D. (2016). Research of prognostic markers of proliferation and apoptosis in patients with nodular goiters combined with autoimmune thyroiditis. *Archives of the Balkan Medical Union*, 51, (4), 488-491.
2. Tsyganenko, O.S. & Voroschuk, R.S. (2007). Immunomorphological reaction in the thyroid tissue in patients with autoimmune thyroiditis in combination with nodular goiter. *Arta Medica. Nicholas Anestiadi, Tenth Congress of the Association of Surgeons of Moldova: Chisinau.* October; 4 (25), 51-52.
3. Sheremet, M.I., Sydorчук, L.P., Shidlovskiy, V.O. & Bedeniuk, A.D. (2017). New prognostic markers of nodular forms of goiter combined with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport*, 7, (3), 475-482.
4. Sydorчук, L.P., Sydorчук, A.R., Sheremet, M.I. & Sydorчук, R.I. (2017). Cytokines cascade changes in patients with rheumatoid arthritis depending on endothelial no-synthase (T-786C) genes polymorphism. *Archives of the Balkan Medical Union*, 52, (1), 32-38.
5. Sydorчук, L.P., Iftoda, O.M., & Kushnir, O.V. (2017). Polimorfizm heniv konneksinu 26 (GJB2) ta interleykinu 4 (S-590T) u ditei – zhyteliv Bukovyny iz vtratoi slukhu [Genes polymorphism of connexin 26 (GJB2) and interleukin 4 (C-590T) in children of Bukovyna with hearing loss]. *Lik. Sprava – Treatment Case*, 5-6 (1139) [in Ukrainian].
6. Sydorчук, L.P. & Amosova, K.M. (2011). Influence of pharmacogenetically determined treatment on parameters of peripheral hemodynamics in patients with arterial hypertension.

The New Armenian Medical J., 5, (2), 35-43.

7. Lee, Y.H, Choi, S.J., Ji J.D., & Song, G.G. (2012). CTLA-4 and TNF- α promoter-308 A/G polymorphisms and ANCA-associated vasculitis susceptibility: a meta-analysis. *Mol. Biol. Rep.* 39 (1), 319-326.
8. Leithäuser, F, Dhein, J., Mechtersheimer, G. (1993). Constitutive and induced expression of APO-1, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor superfamily, in normal and neoplastic cells. *Lab. Invest.*, 69, 415-429.
9. Man-Man Lu, Qian-Ling, Ye, & Chen-Chen, Feng (2012). Association of FAS gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A case-control study and meta-analysis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 4, 497-502.
10. Byktagyrova, E.M., Sattarova, L.Y., Vagapova, H.R., & Kravtsova O.A. (2011). Assotsyatsyya polimorfizmov genov IL-1B, IL-4 Y IL-6 s formirovaniem geneticheskoy predispozitsionnosti k autoimmunomu tyreoiditu [Association of polymorphisms genes IL-1B, IL-4 and IL-6 with formation genetic predisposition for autoimmune thyroiditis]. *Meditsinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 13 (6), 603-608 [in Russian].
11. Dong, Y.H., & Fu, D.G. (2014). Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 18 (23), 3611-3618.
12. Tomer, Y., & Davies, T.F. (2003). Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function. *Endocr. Rev.*, 24 (5), 694-717. doi: 10.1210/er.2002-0030.
13. Nikitin, Yu.P., Ryamar, O.D., Maksimov, V.N. (2008). Polimorfizm A49G gena tsytotoksicheskogo T-limfotsytsyevyazanogo immunoglobulina 4 (CTLA4), svyaz z autoimmunymi zabelevaniyami shchitovidnoy zhelezy v populyatsii Novosibirsk [Association of the T-cell regulatory gene CTLA-4 with susceptibility to autoimmune thyroid disease in population of Novosibirsk]. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya tireoidologiya – Clinical and Experimental Thyroidology*, 4 (4), 41-45 [in Russian] doi: 10.14341/ket20084441-45.
14. Zhang, M., Ni, J., Xu, W.D. (2014). Association of CTLA-4 variants with susceptibility to inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Hum. Immunol.*, 75 (3), 227-233.
15. Qiu, H., Tang, W., Yin, P., Cheng, F., & Wang, L. (2014). Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 polymorphism and Hashimoto's thyroiditis susceptibility: a meta-analysis. *Endocrine*, 45 (2), 198-205.
16. Biktagirova, E.M., Kravtsova, O.A., Sattarova, L.I., & Vagapova, G.R. (2010). Vliyaniye polimorfizmov genov CTLA-4 i PTPN-22 na risk razvitiya autoimmunogo tireoidita sredi naseleniya respubliki Tatarstan [Influence of polymorphisms of CTLA-4 and PTPN-22 genes on developmental risk autoimmune thyroiditis among the population of the Republic of Tatarstan]. *Meditsinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 12 (1-2), 103-114 [in Russian].
17. Pastuszek-Lewandoska, D., Sewerynek, E., Domańska, D. (2012). CTLA-4 gene polymorphisms and their influence on predisposition to autoimmune thyroid diseases (Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis). *Arch. Med. Sci.*, 4, 8 (3), 415-421.
18. Brix, T.H., & Hegedus, L. Twin studies as a model for exploring the aetiology of autoimmune thyroid disease. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 76 (4), 457-464. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04318.
19. Kochetova, O.V., Gaynullina, M.K., & Viktorova, T.V. (2014). DIO2, TPO, CYP1A1 AND CYP1A2 gene polymorphism in women with thyroid disease. *Gig. Sanit.*, (3), 52-56.
20. Gözü, H.I., Özçelik, S. Aloğlu, M., Şahin, A., Temiz, S., Dayan, A. ... Cengiz, H. (2016). Is the TSHR D727E polymorphism a genetic predisposition for multinodular goiter in the Turkish population? *Genet. Mol. Res.*, 15 (3), 385-390.
21. Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation) / dbSNP Short Genetic Variation // NCBI. – 2017. – URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=ad hoc_search&type=rs&rs=rs17759659
22. Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation) / dbSNP Short Genetic Variation // NCBI. – 2017. – URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=ad hoc_search&type=rs&rs=231775
23. Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation) / dbSNP Short Genetic Variation // NCBI. – 2017. – URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=ad hoc_search&type=rs&rs=2234767

Отримано 21.04.2017

M. I. SHEREMET¹, L. P. SYDORCHUK¹, V. O. SHIDLOVSKYI², A. D. BEDENIUK², G. S. KUROCHKIN³, A. V. LEVITSKY³

Bukovynian State Medical University, Chernivtsi¹

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University²,

State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu" Chisinau, Moldova³

APO-1/FAS, CTLA-4 AND BCL-2 GENES POLYMORPHISM IN PATIENTS, OPERATED ON NODULAR THYROID PATHOLOGY

The aim of the work: to analyze the frequency of polymorphic variants of genes *BCL-2* (rs17759659), *CTLA-4* (rs231775), *APO-1/Fas* (rs2234767) in patients, operated on nodular thyroid pathology with regard to its form (NGAIT, TA- thyroid adenoma).

Materials and Methods. An analysis of the frequency of polymorphic variants of genes *BCL-2* (rs17759659), *CTLA-4* (rs231775), *APO-1/Fas* (rs2234767) in 125 patients, operated on nodular thyroid pathology with regard to its form (NGAIT, TA) was conducted. Also, we examined 25 healthy donors. The study of polymorphism of genes was carried out by the method of polymerase chain reaction in real time.

Results and Discussion. Mutation of *BCL-2* gene (rs17759659) and *CTLA-4* (rs231775) in the homozygous state among patients, operated on nodular thyroid pathology occurs with a frequency 3.2–4.0 % no reliable difference between patients with thyroid pathology and healthy. Mutation of the gene *APO-1/Fas* (rs2234767) in the homozygous state among surveyed patients was not met at all.

Key words: nodular goiter on the background of autoimmune thyroiditis; thyroid adenoma; polymorphisms *APO-1/Fas*, *CTLA-4* and *BCL-2* genes.

М. И. ШЕРЕМЕТ¹, Л. П. СИДОРЧУК¹, В. А. ШИДЛОВСКИЙ², А. Д. БЕДЕНЮК², Г. С. КУРОЧКИН³, А. В. ЛЕВИЦКИЙ³

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы¹

ГБУЗ "Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского"²

Государственный университет медицины и фармации имени Н. Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова³

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *APO-1/FAS*, *CTLA-4* И *BCL-2* У ПАЦИЕНТОВ, ОПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ УЗЛОВОЙ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цель работы: провести анализ частоты полиморфных вариантов генов *BCL-2* (*rs17759659*), *CTLA-4* (*rs231775*), *APO-1/Fas* (*rs2234767*) у пациентов, оперированных по поводу узловой патологии щитовидной железы (ЩЖ) с учетом ее вида (узловой зоб на фоне аутоиммунного тиреоидита, аденома щитовидной железы).

Материалы и методы. Проведен анализ частоты полиморфных вариантов генов *BCL-2* (*rs17759659*), *CTLA-4* (*rs231775*), *APO-1/Fas* (*rs2234767*) у 125 пациентов, оперированных по поводу узловой патологии щитовидной железы с учетом ее вида (узловой зоб на фоне аутоиммунного тиреоидита, аденома щитовидной железы). Также обследовано 25 практически здоровых доноров. Исследование полиморфизма генов проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты исследований и их обсуждение. Мутация генов *BCL-2* (*rs17759659*) и *CTLA-4* (*rs231775*) в гомозиготном состоянии среди пациентов, оперированных по поводу узловой патологии щитовидной железы, встречается с частотой 3,2–4,0 % без достоверной разницы между больными на патологию щитовидной железы и здоровыми. Мутация гена *APO-1/Fas* (*rs2234767*) в гомозиготном состоянии среди обследованных не встречалась вообще.

Ключевые слова: узловой зоб на фоне аутоиммунного тиреоидита; аденома щитовидной железы; полиморфизмы *APO-1/FAS*, *CTLA-4* и *BCL-2* генов.