

УДК 616.33/.36:616.72-007.24]-085-092

ЧИМПОЙ К.А.¹, ПАШКОВСЬКА Н.В.², ПАВЛЮКОВИЧ Н.Д.³, КОРОТАШ І.Ф.⁴, РИБАК О.Я.⁴, МІСЕЧКО А.І.⁴

¹Кафедра внутрішньої медицини, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

²Кафедра клінічної імунології, алергології та ендокринології, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

³Кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

⁴ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

ВПЛИВ ДИСТРИБУЦІЇ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ДЕЙОДИНАЗИ 1-го ТИПУ НА ПОКАЗНИКИ ТИРЕОЇДНОГО ГОМЕОСТАЗУ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ГЕПАТИТИ ТА ЦИРОЗ ПЕЧІНКИ НЕВІРУСНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Резюме. Вивчено особливості тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки залежно від А/С поліморфізму гена DIO1. Встановлено залежність показників тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки від дистрибуції А/С поліморфізму гена DIO1, а також відсутність зв'язку титру антитіл до тканини щитоподібної залози з даним поліморфізмом.

Ключові слова: хронічні дифузні захворювання печінки, поліморфізм, тиреоїдний гомеостаз, антитіла до тканини щитоподібної залози.

Вступ

Генетичний поліморфізм є основою фенотипової різниці особистостей і, зокрема, може зумовлювати спадкову схильність до різних захворювань [5, 9]. При вивченні цього питання особлива увага приділяється генам, що кодують фактори, залучені до виникнення різної патології [4, 6].

Особливе значення останнім часом приділяється поліморфізмам генів селеновмісних протеїнів, з якими пов'язують схильність до розвитку патологічних станів внаслідок порушення активності тих чи інших ферментних систем [6, 9].

Важливу роль у забезпеченні нормального функціонування щитоподібної залози відіграють селеновмісні ензими, у першу чергу дейодинази [7, 8]. Загальновідомо, що позатиреоїдне монодейодування тироксину є основним джерелом трийодтироніну в організмі й каталізується тироксин-5'-дейодиназою. Цей процес забезпечує майже 80 % утворення біологічно більш активного (у 8 разів порівняно з тироксином) трийодтироніну, що утворюється за добу [1, 2].

Мета дослідження — дослідити особливості показників тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки (ХДЗП) залежно від А/С поліморфізму гена DIO1.

Матеріали та методи

Обстежено 50 хворих на ХДЗП (хронічні гепатити та цирози печінки) віком від 34 до 72 років. Діагноз ХДЗП встановлювали на підставі анамнезу, загальноприйнятого комплексу клінічно-лабораторних та інструментальних методів дослідження, УЗД органів черевної порожнини. Хворі на хронічний гепатит та цироз вірусної етіології, хворобу Вільсона — Коновалова, природжену недостатність α 1-антитрипсину (α 1-інгібітору протеїназ), ідіопатичний (генетичний) гемохроматоз, автоімунний гепатит у дослідження не включалися.

Алелі поліморфних ділянок А/С у гені DIO1 вивчали шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферичної крові з подальшою ампліфікацією полі-

Адреса для листування з авторами:

Чимпой Кристина Андріївна

E-mail: chimpoik@mail.ru

Пашковська Наталія Вікторівна

E-mail: natpash@mail.ru

Павлюкович Наталія Дмитрівна

E-mail: natasha.pavlyukovich@gmail.com.

© Чимпой К.А., Пашковська Н.В., Павлюкович Н.Д., Короташ І.Ф., Рибак О.Я., Місечко А.І., 2016

© «Міжнародний ендокринологічний журнал», 2016

© Заславський О.Ю., 2016

Таблиця 1. Послідовність олігонуклеотидів у праймерах, використаних для полімеразної ланцюгової реакції при ідентифікації поліморфізму А/С гена DIO1

Назва гена	Локалізація гена на хромосомі	Праймер	Послідовність олігонуклеотидів у праймерах
DIO1	1 p33-p32	Прямий	5'-GAACTTGATGTGAAGGCTGGA-3'
		Зворотний	5'-TAACTCAGCTGGGAGTTGTTT-3'

морфної ділянки за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на програмованому ампліфікаторі Amply-4L (Bioson, Росія) з індивідуальною температурною програмою для праймерів гена.

Послідовність олігонуклеотидів у праймерах та їх розрахункові позиції на хромосомах наведені в табл. 1.

Екстракцію ДНК проводили за допомогою реактивів «ДНК-сорб-В» варіант 100 (ФГУН ЦНИИЭ, Росія) згідно з інструкцією. Очищену ДНК зберігали при температурі $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Проби для ПЛР готували за допомогою набору «АмплиСенс-200-1» (ФГУН ЦНИИЭ, Росія).

Для дискримінації алелей гена DIO1 використовували ендонуклеазу рестрикції *Vcl* I фірми «СибЭнзим» (Росія).

Залежно від дистрибуції А/С поліморфізму гена DIO1 пацієнтів розподілено на три групи: носії АА-генотипу — 17 пацієнтів, АС-генотипу — 24 обстежені та СС-генотипу — 9 хворих.

Особливості тиреоїдного гомеостазу вивчали за визначенням вмісту в сироватці крові вільного тироксину (vT_4), вільного трийодтироніну (vT_3) та тиротропного гормону (ТТГ) із використанням реактивів «ИммуноФА-ТТГ», «ИФА-СвТ₃» та «ИФА-СвТ₄-1» (ЗАО «НВО Иммунотех», Росія), а також обчисленням коефіцієнта периферичної конверсії вільних тиреоїдних гормонів (vT_3/vT_4).

Для оцінки функціонального стану системи «гіпофіз — щитоподібна залоза» визначали коефіцієнти: вільний T_3 /вільний T_4 , вільний T_4 /вільний T_3 , ТТГ/вільний T_3 , ТТГ/вільний T_4 , тиреоїдний індекс (ТІ) [3]:

$$TI = \frac{\text{вільний } T_3 + \text{вільний } T_4}{ТТГ} \quad (1)$$

Також визначали сумарний тиреоїдний індекс (СТІ), який відображає периферичну активність тиреоїдних гормонів [3]:

$$CTI = \frac{\text{вільний } T_3}{2,38} \cdot 100 + \frac{\text{вільний } T_4}{90} \cdot 100 \quad (2)$$

Антитіла до тиреоглобуліну (АТ-ТГ) та тиреоїдної пероксидази (АТ-ТПО) визначали імуноферментним методом за допомогою наборів реагентів «ИФА-АТ-ТГ-1» та «ИммуноФА-Ат-ТПО» (ЗАО «НВО Иммунотех», Росія) на аналізаторі імуноферментних реакцій «Уніплан».

Отримані результати оброблені за допомогою програми Biostat із використанням парного критерію Стьюдента.

Результати

Характеристика показників тиреоїдного гомеостазу у хворих на ХДЗП залежно від поліморфізму А/С гена DIO1 наведена в табл. 2.

Як видно з наведених даних, рівень ТТГ у сироватці крові хворих на ХДЗП не зазнавав вірогідних змін залежно від дистрибуції поліморфізму гена DIO1.

Вірогідно вищий рівень vT_3 встановлено в носіїв СС-генотипу на 46,6 % ($p < 0,001$) та 31,6 % ($p < 0,01$), ніж у пацієнтів із АА- та АС-генотипом відповідно.

Вміст у сироватці крові vT_4 у хворих із гомозиготним носійством А-алелі гена DIO1 на 31,3 % ($p < 0,05$) вірогідно перевищував відповідний показник у пацієнтів із СС-генотипом.

Показник vT_3/vT_4 також статистично значуще змінювався залежно від поліморфізму гена DIO1. У групі хворих із СС-генотипом він у 1,5 раза перевищував його значення ($p < 0,05$) у пацієнтів із АА-генотипом та у 1,3 ($p < 0,05$) раза — носіїв АС-генотипу. Залежно від поліморфізму гена DIO1 також змінювався показник vT_4/vT_3 . Його значення у хворих із АА-генотипом перевищувало відповідний показник у гомозигот за С-алеллю у 1,6 раза ($p < 0,05$) та АС-гетерозигот — у 1,2 раза ($p > 0,05$).

Аналогічні закономірності встановлені й щодо показника ТТГ/ vT_3 .

Визначалося вірогідно вище у 2,0 і 1,3 раза відповідно значення показників ТІ та СТІ в групі хворих із СС-генотипом щодо групи носіїв АА-генотипу.

Дослідженням титру АТ-ТГ встановлено вірогідне зростання показника у хворих усіх груп порівняно з контрольним значенням: у хворих із СС-генотипом — на 19,0 % ($p < 0,001$), АС-генотипом та АА-генотипом — відповідно на 22,1 та 18,4 % ($p < 0,001$) без наявності вірогідної міжгрупової різниці (табл. 2).

Обговорення

За носійства АА-генотипу спостерігалось вірогідне зростання рівня АТ-ТПО у 2,9 раза ($p < 0,001$) порівняно з показником контрольної групи, у АС-гетерозигот — у 2,8 раза ($p < 0,001$) та у СС-гомозигот — у 2,5 раза ($p < 0,001$).

Отже, можна зробити висновок, що дистрибуція поліморфізму гена DIO1 у хворих на ХДЗП впливає на тиреоїдний гомеостаз організму.

Проведені дослідження вказують на зв'язок дистрибуції поліморфізму гена DIO1 з рівнем вільних тиреоїдних гормонів, а також коефіцієнтами їх співвідношення у хворих на ХДЗП. Гомозиготне носійство С-алелі асоціюється зі зростанням показника vT_3/vT_4 та рівня vT_3 , а також зниженням vT_4 , у той час як носійство АА-

генотипу пов'язано зі зменшенням значення vT_3/vT_4 , рівня vT_3 та зростанням вмісту vT_4 .

Висновки

1. Носійство AA-генотипу гена DIO1 у хворих на ХДЗП асоціюється зі зменшенням рівня вільного трийодтироніну в сироватці крові, показника відношення вільного трийодтироніну до вільного тироксину та зростанням вмісту вільного тироксину.

2. А/С поліморфізм гена DIO1 не впливає на ти-

три антитіл до тканини щитоподібної залози у хворих на ХДЗП.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати вказують на необхідність створення диференційованого підходу щодо діагностики та лікування порушень тиреоїдного гомеостазу за хронічних дифузних захворювань печінки залежно від експресії А/С поліморфізму гена DIO1.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Таблиця 2. Показники тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки залежно від поліморфізму А/С гена DIO1 ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група, n = 20	Генотипи гена DIO1, n = 50		
		AA, n = 17	AC, n = 24	CC, n = 9
Тиреотропний гормон, мМО/л	1,780 ± 0,162	2,730 ± 0,177 $p_1 < 0,001$	2,570 ± 0,292 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	2,310 ± 0,102 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Вільний T_4 , пмоль/л	15,880 ± 0,894	20,210 ± 1,389 $p_1 < 0,05$	19,260 ± 1,247 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	15,390 ± 1,546 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
Вільний T_3 , пмоль/л	5,470 ± 0,326	4,460 ± 0,364 $p_1 < 0,05$	4,970 ± 0,280 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	6,540 ± 0,144 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$
Вільний T_3 /вільний T_4	0,370 ± 0,029	0,250 ± 0,021 $p_1 < 0,01$	0,290 ± 0,022 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,380 ± 0,027 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Вільний T_4 /вільний T_3	3,190 ± 0,337	5,140 ± 0,467 $p_1 < 0,05$	4,220 ± 0,365 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,001$	3,210 ± 0,101 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
Тиреотропний гормон/вільний T_3	0,35 ± 0,04	0,720 ± 0,098 $p_1 < 0,001$	0,590 ± 0,083 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,420 ± 0,049 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
Тиреотропний гормон/вільний T_4	0,120 ± 0,011	0,150 ± 0,02 $p_1 > 0,05$	0,140 ± 0,018 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,120 ± 0,021 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Тиреоїдний індекс	13,780 ± 1,301	9,820 ± 0,954 $p_1 < 0,05$	13,210 ± 2,810 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	19,440 ± 2,233 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 > 0,05$
Сумарний тиреоїдний індекс	247,60 ± 13,61	209,80 ± 12,19 $p_1 < 0,05$	230,10 ± 11,59 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	262,7 ± 17,64 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
Антитіла до тиреоглобуліну, МО/мл	26,290 ± 2,446	57,080 ± 6,184 $p_1 < 0,001$	53,010 ± 5,509 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	50,160 ± 6,186 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Антитіла до тиреоїдної пероксидази, МО/мл	11,940 ± 1,067	35,170 ± 2,831 $p_1 < 0,001$	33,950 ± 4,586 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	29,640 ± 3,764 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$

Примітки: n — кількість спостережень; p_1 — вірогідність змін щодо контролю; p_2 — вірогідність змін щодо групи хворих із AA-генотипом; p_3 — вірогідність змін щодо групи хворих із AC-генотипом.

Список літератури

1. Макар Р.Д. Функціональна автономія щитоподібної залози (патогенез, діагностика, лікування) / Р.Д. Макар // Міжнародний ендокринологічний журнал. — 2007. — Т. 2, № 8. — С. 27-34.
2. Олійник В.А. Хронічний лімфоцитарний тиреоїдит (тиреоїдит Хашимото): сучасний стан проблеми (огляд літератури і власні дані) / В.А. Олійник // Ендокринологія. — 2006. — Т. 11, № 1. — С. 71-79.
3. Патология щитовидной железы у больных ревматоидным артритом / Б.Т. Турмухамбетова, А.С. Аметов, Л.К. Козлова [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреологическая. — 2009. — № 3. — С. 63-68.
4. Поліморфізм гена гемахроматозу у хворих на хронічний гепатит С / Л. Мороз, В. Дудник, О. Турський [та ін.] // Сучасна гастроентерологія. — 2009. — № 2. — С. 26-28.
5. Bastaki M. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans / M. Bastaki, K. Huen, P. Manzanillo [et al.] // Pharmacogenet Genomics. — 2006 — Vol. 16. — P. 279-286.
6. Chrissobolis S. Glutathione peroxidase-1 plays a major role in protecting against angiotensin II-induced vascular dysfunction / S. Chrissobolis, S.P. Didion, D.A. Kinzenbaw [et al.] // Hypertension. — 2008. — Vol. 51. — P. 872-877.
7. Panicker V. A Common Variation in Deiodinase 1 Gene DIO1 Is Associated with the Relative Levels of Free Thyroxine and Triiodothyronine / V. Panicker, C. Cluett, B. Shields [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2008. — Vol. 93, № 8. — P. 3075-3081.
8. Panicker V. Heritability of serum TSH, free T4 and free T3 concentrations: a study of a large UK twin cohort / V. Panicker, S.G. Wilson, T.D. Spector [et al.] // Clin. Endocrinol. (Oxf). — 2008. — Vol. 68. — P. 652-659.
9. Wagner Andreas H. Upregulation of Glutathione Peroxidase Offsets Stretch-Induced Proatherogenic Gene Expression in Human Endothelial Cells Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology / H. Wagner Andreas, O. Kautz, K. Fricke [et al.] // ATVBАНА. — 2009 — Vol. 21. — P. 316-325.

Отримано 03.03.16 ■

Чимпой К.А.¹, Пашковская Н.В.², Павлюкович Н.Д.³, Коротащ І.Ф.⁴, Рыбак О.Я.⁴, Мисечко А.І.⁴

¹Кафедра внутренней медицины, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

²Кафедра клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

³Кафедра внутренней медицины, клинической фармакологии и профессиональных болезней, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

⁴ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

ВЛИЯНИЕ ДИСТРИБУЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ДЕЙОДИНАЗЫ 1-го ТИПА НА ПОКАЗАТЕЛИ ТИРЕОИДНОГО ГОМЕОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ГЕПАТИТАМИ И ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ НЕВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Резюме. Изучены особенности тиреоидного гомеостаза у больных хроническими диффузными заболеваниями печени в зависимости от А/С полиморфизма гена DIO1. Установлена зависимость показателей тиреоидного гомеостаза у больных хроническими диффузными заболеваниями печени от дистрибуции А/С полиморфизма гена DIO1, а также отсутствие связи

титра антител к ткани щитовидной железы с данным полиморфизмом.

Ключевые слова: хронические диффузные заболевания печени, полиморфизм, тиреоидный гомеостаз, антитела к ткани щитовидной железы.

Chympoi K.A.¹, Pashkovska N.V.², Pavliukovych N.D.³, Korotash I.F.⁴, Rybak O.Ya.⁴, Mischko A.I.⁴

¹Department of Internal Medicine, Higher State Educational Institution of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

²Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology, Higher State Educational Institution of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

³Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Higher State Educational Institution of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

⁴Higher State Educational Institution of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

INFLUENCE OF DISTRIBUTION OF TYPE I DEIODINASE GENE POLYMORPHISM ON INDICES OF THYROID HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS AND NONVIRAL LIVER CIRRHOSIS

Summary. The features of thyroid homeostasis in patients with chronic diffuse liver diseases, depending on the A/C polymorphism in DIO1 gene, have been studied. The dependence of indicators of thyroid homeostasis in patients with chronic diffuse liver diseases on the distribution of A/C polymorphism

in DIO1 gene, as well as the absence of correlation of titer of antibodies to thyroid tissue and this polymorphism have been established.

Key words: chronic diffuse liver diseases, polymorphism, thyroid homeostasis, antibodies to thyroid tissue.