

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**КАМИШНА ІРИНА ІВАНІВНА**

УДК 616.891-06-092:616.442]-037-085(043.3)

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ**  
**УСКЛАДНЕНЬ У ПАЦІЄНТІВ З ЗАХВОРЮВАННЯМИ**  
**ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ: ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ**  
**І ПОШУК ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ І. І. Камишна

Тернопіль – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Камишина І. І.* Молекулярні механізми розвитку психоневрологічних ускладнень у пацієнтів з захворюваннями щитоподібної залози: прогнозування виникнення і пошук патогенетичної терапії. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук у за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» (22 «Охорона здоров'я»). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2023.

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2023.

Дисертація присвячена клінічно-патогенетичним особливостям психоневрологічних порушень за патології щитоподібної залози (ЩЗ), ключовим молекулярним механізмам їх розвитку з позиції генетичних, нейротрофічних, імунологічно-опосередкованих чинників, а також прогнозуванню ускладнень і патогенетичним шляхам корекції виявлених змін.

Мета дослідження: встановити основні молекулярно-генетичні механізми і закономірності формування психоневрологічних порушень за тиреоїдної патології з урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу; прогнозування психоневрологічних змін та їх патогенетична корекція.

У дослідженні взяли участь 480 осіб, серед них 355 пацієнтів із патологією ЩЗ та 125 осіб контрольної групи. Етап скринінгу пройшли 335 хворих на патологію ЩЗ із наступним підписанням інформованої згоди на участь у дослідженні. За видом патології ЩЗ сформували наступні групи дослідження: 1-а група (n=94) – пацієнтки з післяопераційним гіпотиреозом

(ПОГ), 2-а група (n=135) – особи з гіпотиреозом, зумовленим автоімунним тиреоїдитом (АІТ з Г), 3-я група (n=106) – хворі на автоімунний тиреоїдит без гіпотиреозу (АІТ). Контрольну групу склали 125 практично здорових осіб, зіставних за статтю і віком з основною групою.

У подальшому для лікування відібрано 56 хворих на гіпотиреоз, спричинений АІТ, яких розподілили на дві групи: особи 1-ї групи (n=28) отримували холекальциферол у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) та L-тироксин у дозі 75-100 мкг/добу; пацієнтки 2-ї групи (n=28) – тільки L-тироксин (75-100 мкг/добу). Обстеження виконали до та після 12-тижневого курсу лікування.

Встановлено, що у хворих на тиреоїдну патологію мутації генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у гомозиготному стані зустрічаються із частотою 6,54 %, 19,61 % і 21,57 % відповідно, що не відрізняється статистично значимо від групи контролю. Комбінація мінорних алелей аналізованих генів у гетеро- і/чи гомозиготному вигляді (*CT/GG/CT*, чи *CT/AG/CT*, чи *CT/AG/TT*) підвищує ризик появи когнітивних порушень у понад 5-10 разів, особливо за гомозиготної мутації гена *NMDA* (OR=5,19-10,12; p=0,021-0,028), зменшує ймовірність розвитку клінічно значимої тривожності (помірний/тяжкий ступінь) (OR=0,12; p=0,034), без впливу на появу депресивних станів. Натомість поєднання диких алелей у гомо- і/чи гетерозиготному стані, особливо генів *BDNF* і *NMDA* (*CC/AG/CC*) робить ризик розвитку когнітивних порушень найнижчим у популяції (OR=0,14; p=0,042).

Виявлено, що рівень *BDNF* у сироватці крові має чітку залежність від поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) як у хворих на патологію ЩЗ, так і практично здорових, знижуючись вірогідно у носіїв мутаційного *T*-алеля, особливо *TT*-генотипу: в пацієнтів – у 2,15-3,24 раза (p≤0,037-0,001), у групі контролю – у 1,38-2,07 раза (p≤0,044-0,001) відповідно. Наявність *T*-алеля гена *BDNF* у генотипі хворих на патологію ЩЗ підвищує ризик низької продукції *BDNF* (<500 пг/мл) майже в 10 разів (OR=9,98; p<0,05). Вміст

BDNF крові прямо корелює з рівнями Т4, АТТГ і 25(OH)D ( $r=0,32-0,68$ ;  $p\leq 0,016-0,001$ ), зворотно з ТТГ ( $r=-0,69$ ;  $p<0,001$ ); концентрація вітаміну 25(OH)D прямо впливає на вміст GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ ( $r=0,25-0,63$ ;  $p\leq 0,016-0,001$ ). Досліджувані захворювання ЩЗ супроводжуються гіповітамінозом холекальциферолу (25(OH)D), що вірогідно посилюється за гіпотиреозу, особливо у носіїв основного А-алеля гена *VDR* (rs2228570) у 1,82-2,0 рази ( $p<0,001$ ). Концентрація GRIN2B в крові вірогідно знижується за ПОГ у власників усіх генотипів гена *NMDA* (rs4880213) у 3,22-3,65 рази ( $p<0,001$ ), зростає за АІТ з Г – у 1,52-1,66 рази ( $p<0,001$ ).

Установлено низку диференційно-експресованих генів, асоційованих із нейротрофінами та їх рецепторами, передачею нервових імпульсів, нейрогенезом, нейропептидами, процесами апоптозу і імунної відповіді – у клітинах крові всіх хворих спостерігали транскрипційну репресію генів *NGF*, *NGFR*, *GFRA2*, *NRG1*, *NTF3*. Пацієнти з ПОГ і АІТ з Г демонстрували знижену експресію генів *BDNF*, *CBLN1*, *GFRA1*, *FGF2*, *GMFB*, *STAT1*, *IL6*, *VGF* і підвищену – *NTRK1-2*, *NPY1R*, *BCL2*, *BAX*.

Показано, що у половини пацієнтів із патологією ЩЗ (47,37 %) носіїв Т-алеля гена *BDNF* (rs6265) діагностовано тривогу, що було в 3,59 рази частіше, а її рівень за бальною шкалою Гамільтона на 32,75 % і 37,29 % вище, ніж в осіб із СС-генотипом ( $p<0,001$ ), особливо за гіпотиреозу спричиненого АІТ – на 42,83 % і 51,27 % відповідно ( $p<0,001$ ). Рівень тривоги зворотно корелює з концентрацією BDNF крові, вільного Т4 і 25(OH)D ( $r=-0,407-/-0,783$ ;  $p<0,001$ ) і прямо залежить від сироваткового рівня GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ ( $r=0,201-0,582$ ;  $p\leq 0,01-0,001$ ). ROC-аналіз підтвердив високу чутливість і специфічність показника тривожності залежно від вмісту BDNF, GRIN2B, ТТГ, вільного Т4, АТПО, АТТГ і 25(OH)D ( $p\leq 0,045-0,001$ ). Розроблена модель багатофакторного множинного лінійного регресійного аналізу, в якій додатково підтверджено прогностичний вплив сироваткових концентрацій BDNF, GRIN2B, вільного Т4, АТТГ і 25(OH)D на рівень «тривоги» із коефіцієнтами детермінації



$R^2=84,7\%$ , кореляції  $r_{xy}=0,9$  ( $p<0,001$ ). Шанси тривоги зростають у понад 23 рази за АІТ [95 % ДІ: 8,914-63,175;  $p<0,001$ ].

Встановлено, що депресивні розлади вірогідно частіше розвиваються у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) на 28,22 % ( $\chi^2=14,31$ ;  $p<0,001$ ), особливо середньо-тяжкі форми – на 49,10 % ( $\chi^2=37,93$ ;  $p<0,001$ ). Поява депресії не асоціює з алельним станом генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213). Рівень депресії вірогідно вище у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) незалежно від групи спостереження: у контролі – на 57,31 % і 76,89 % ( $p\leq 0,013-0,001$ ), у дослідній групі – на 51,17 % і 61,79 % ( $p<0,001$ ) відповідно. Наявність патології ЩЗ посилює депресію в 1,62-3,77 рази ( $p\leq 0,009$ ) із найвищими балами за АІТ. ROC-аналіз підтвердив як прогностичні предиктори появи депресивних порушень такі серологічні маркери, як *BDNF*, ТТГ, вільний Т4, АТПО та 25(ОН)D ( $p<0,001$ ). Встановлено, що рівень депресії зворотно помірно корелює з концентрацією в крові *BDNF*, вільного Т4 та 25(ОН)D ( $r=-0,612/-0,376$ ;  $p<0,001$ ), прямо слабо залежить від концентрації *GRIN2B*, АТПО, АТТГ ( $r=0,156-0,284$ ;  $p\leq 0,043-0,001$ ) і, дещо сильніше, від вмісту ТТГ ( $r=0,434$ ;  $p<0,001$ ). Шанси депресії зростають за гіпотиреозу в 31,3 рази, за АІТ – у 4,63 рази ( $p<0,001$ ).

Отримані дані засвідчують, що когнітивні порушення у хворих на патологію ЩЗ асоціюють із SNP поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265): у носіїв *T*-алеля когнітивна функція порушується частіше загалом на 51,69 % і глибше за даними MMSE тесту (помірні переддементні зміни трапляються частіше на 38,28 %, деменція легкого ступеня – на 13,44 %), ніж у таких із *CC*-генотипом ( $\chi^2=49,51$ ;  $p<0,001$ ). Частота і ступінь когнітивних девіацій не залежать від алельного стану генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213). Клінічний перебіг патології ЩЗ за гіпотиреозу (післяопераційного чи автоімунного) супроводжується гіршими / нижчими показниками когнітивної функції, ніж у хворих із АІТ без гіпотиреозу, особливо у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), на 5,60-19,23 % ( $p<0,05$ ). Ризик когнітивних порушень за

гіпотиреозу зростає в 7,26 рази ( $p < 0,001$ ). Прогностичними предикторами появи когнітивної дисфункції за даними ROC-аналізу є вміст у крові BDNF, ТТГ, вільного Т4 та 25(OH)D ( $p \leq 0,01-0,001$ ). Тяжкість когнітивних порушень у хворих на патологію ЩЗ зворотно помірно корелює з концентрацією в крові GRIN2B, ТТГ і, дещо слабше, з АТПО та АТТГ ( $r = -0,455$  /  $-0,166$ ;  $p \leq 0,035-0,001$ ), прямо сильно залежить від рівнів BDNF, дещо слабше – від вмісту вільного Т4 та 25(OH)D ( $r = 0,275-0,714$ ;  $p < 0,001$ ), відповідно. Багатофакторний регресійний аналіз підтвердив збільшення шансів на когнітивні розлади в обстежених за зростання вмісту GRIN2B у крові та наявності у хворих *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) – у 6,32 рази ( $p = 0,006$ ), 24,9 і 21,73 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно.

*Наукова новизна одержаних результатів.* Вперше досліджено алельний стан генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у структурі чинників ризику захворювань ЩЗ.

Вперше оцінено зв'язок окремих гуморальних маркерів нейротрансмісії та гормональної активності ЩЗ з урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).

Уперше проаналізовано експресію генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в крові пацієнтів із тиреоїдною патологією.

Вперше досліджено роль генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у розвитку психоневрологічних порушень при захворюваннях ЩЗ.

Вперше побудовано прогностичні моделі ймовірного розвитку когнітивних порушень, депресії і тривожних розладів залежно від індивідуального генотипу генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), клінічно-лабораторних показників.

Вперше проаналізовано вплив комплексного лікування пацієнтів із гіпотиреозом та АІТ на гормональну активність ЩЗ, нейропсихічний статус,

транскрипційну активність генів-регуляторів нейротрансмісії, нейрогенезу та апоптозу, окремі клінічно-лабораторні показники.

Вперше схематично узагальнено механізми розвитку психоневрологічних порушень за тиреоїдної патології з урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) та на підставі отриманих індикаторів змін транскриптому досліджуваних генетичних маркерів, метаболічно-гормональних змін.

*Практичне значення отриманих результатів.* Уперше розроблено та обґрунтовано нові способи прогнозування психоневрологічних порушень за тиреоїдної патології та діагностики їх тяжкості залежно від молекулярно-генетичних предикторів, виконано патогенетично обґрунтовану терапевтичну корекцію виявлених змін. Терапевтичний курс поєднання холекальциферолу і L-тироксину сприяв покращенню когнітивних функцій та зниженню рівня депресії і тривоги: зменшилась відносна кількість хворих із помірними (переддементними) когнітивними порушеннями на 28,6 %, у кожного третього (78,6 %) когнітивні функції нормалізувались за даними MMSE тесту, знизився рівень депресії за шкалою Гамільтона на 40 %, а рівень тривожності на 48,27 % ( $p < 0,001$ ), збільшилась кількість осіб зі зниженими проявами депресії – на 50 % і тривожних розладів / тривоги – на 14,2 %, чи їх повною відсутністю (у 21,4 % і 42,9 % випадків, відповідно), що було вірогідно краще, ніж за ізольованого прийому L-тироксину.

Комплексне лікування хворих на АІТ з Г сприяло елевації *BDNF* – у 7,4 і 2,1 раза ( $p \leq 0,045-0,001$ ), вагоміше на тлі прийому поєднання холекальциферолу та L-тироксину, а також зменшенню вмісту АТПО і АТТГ – на 31,25 % і 18,84 % відповідно ( $p < 0,05$ ). Під впливом терапії збільшилась концентрація 25(OH)D у крові хворих у 2,22 раза ( $p < 0,001$ ), але тільки за вище означеної комбінації препаратів.

Додаткове призначення до лікування хворих на АІТ з Г вітаміну D призвело до зростання експресії окремих генів-регуляторів нейротрансмісії та нейрогенезу: *BDNF*, *FAS*, *FGF2*, *HSPB1*, *IL10*, *NGF*, *NGFR*, *NRG1*, *NTF3*,

*NTF4*, *TGFB1* і *TP53* – у 3,93-37,96 разів ( $p \leq 0,039-0,001$ ), а також зменшення транскрипційної активності генів *BAX*, *GDNF*, *CD40*, *FOS*, *GDNF*, *GFRA1*, *IL1B* і *STAT3* – у 4,43-35,85 разів ( $p \leq 0,021-0,001$ ) відповідно.

У прогнозуванні психоневрологічних порушень (тривожності, депресії) за тиреоїдної патології до груп високого ризику слід відносити осіб зі зниженням вмісту BDNF крові, гіпохOLEКАЛЬЦИФЕРОЛЕМІЇ, зростанням рівня GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ особливо у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) та *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570); ризик появи когнітивних порушень зростає у понад 5-10 разів у хворих із комбінацією мінорних алелей аналізованих генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) у гетеро- і/чи гомозиготному вигляді (*CT/GG/CT*, чи *CT/AG/CT*, чи *CT/AG/TT*), особливо за гомозиготної мутації гена *NMDA* [OR=5,19-10,12;  $p < 0,05$ ], що вірогідно посилюється за гіпотиреозу.

*Ключові слова:* гіпотиреоз, тиреоїдит, гени *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213), депресія, тривога, когніція, експресія, прогнозування, ризику.

## ANNOTATION

*Kamyshna I. I.* Molecular mechanisms in the development of psychoneurological complications in patients with thyroid diseases: predicting onset and search for pathogenetic therapy. – Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Medical Science (M.D.) in specialty 14.03.04 «Pathological Physiology» (22 «Health Care»). – Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2023.

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2023.

The doctoral dissertation is devoted to the clinical and pathogenetic features of neuropsychiatric disorders in thyroid gland (TG) pathology, vital molecular mechanisms in their development in terms of genetic, neurotrophic, and immunologically mediated factors, as well as the prediction of complications and pathogenetic ways of correcting the detected changes.

Research aim: to establish/investigate the main molecular and genetic mechanisms and regularities on the formation of neuropsychiatric disorders in thyroid pathology considering the polymorphism of *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), and *NMDA* (rs4880213) genes, the expression of neurotrophins and their receptors, neuropeptides, transcription factors, cytokines, and apoptosis regulatory genes; predicting neuropsychiatric changes and their pathogenetic correction.

The study involved 480 people, including 355 patients with thyroid pathology and 125 control subjects. 335 patients with thyroid pathology underwent the screening stage and signed informed consent to participate in the study. The following study groups were formed according to the type of thyroid pathology: group 1 (n=94) – patients with postoperative hypothyroidism (PoH), group 2 (n=135) – patients with hypothyroidism caused by autoimmune thyroiditis (AIT with H), group 3 (n=106) – patients with autoimmune thyroiditis without hypothyroidism (AIT). The control group consisted of 125 practically healthy individuals comparable in gender and age to the experimental group.

Subsequently, 56 patients with hypothyroidism caused by AIT were selected for treatment divided into two groups: patients in group 1 (n=28) received cholecalciferol at a dose of 4000 IU/day (28,000 IU/week) and L-thyroxine at a dose of 75-100 µg/day; patients in group 2 (n=28) received only L-thyroxine (75-100 µg/day). The examination was performed before and after a 12-week treatment course.

It has been found that in patients with thyroid pathology, mutations of the genes *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) in the homozygous state occur with a frequency of 6.54 %, 19.61 % and 21.57 %, respectively.

respectively, which does not differ statistically from the control group. The combination of minor alleles of the analyzed genes in hetero- and/or homozygous form (*CT/GG/CT*, or *CT/AG/CT*, or *CT/AG/TT*) increases the risk of cognitive impairment by more than 5-10 times, especially with a homozygous mutation of the *NMDA* gene (OR=5.19-10.12;  $p=0.021-0.028$ ), reduces the likelihood of developing clinically significant anxiety (moderate/severe) (OR=0.12;  $p=0.034$ ), without affecting the onset of depression. Instead, the combination of wild-type alleles in the homo- and/or heterozygous state, especially the *BDNF* and *NMDA* genes (*CC/AG/CC*), decreases the risk of developing cognitive impairment to the lowest in the population (OR=0.14;  $p=0.042$ ).

It has been found that the level of BDNF in the blood serum has a clear dependence on polymorphic variants of the *BDNF* (rs6265) gene in both patients with thyroid pathology and practically healthy individuals, decreasing apparently in carriers of the mutational *T*-allele, especially the *TT* genotype: in patients – by 2.15-3.24 times ( $p\leq 0.037-0.001$ ) and in the control group – by 1.38-2.07 times ( $p\leq 0.044-0.001$ ), respectively. The presence of the *T*-allele of the BDNF gene in the genotype of patients with thyroid pathology increases the risk of low BDNF production (<500 pg/mL) by almost 10 times (OR=9.98;  $p<0.05$ ). The blood BDNF content directly correlates with the levels of T4, TSH and 25(OH)D ( $r=0.32-0.68$ ;  $p\leq 0.016-0.001$ ), and inversely with TSH ( $r=-0.69$ ;  $p<0.001$ ); vitamin 25(OH)D concentration directly affects the content of GRIN2B, TSH, anti-TPO and anti-TG ( $r=0.25-0.63$ ;  $p\leq 0.016-0.001$ ). The studied thyroid diseases are accompanied by cholecalciferol (25(OH)D) hypovitaminosis, which is, apparently, increased in hypothyroidism, especially in carriers of the major *A*-allele of the *VDR* (rs2228570) gene by 1.82-2.0 times ( $p<0.001$ ). The concentration of the GRIN2B in the blood presumably decreases in PoH individuals with all genotypes of the *NMDA* (rs4880213) gene by 3.22-3.6 times ( $p<0.001$ ), and increases in AIT with H by 1.52-1.66 times ( $p<0.001$ ).

A number of differentially expressed genes associated with neurotrophins and their receptors, nerve impulse transmission, neurogenesis, neuropeptides,

apoptosis and immune response processes have been identified – transcriptional repression of *NGF*, *NGFR*, *GFRA2*, *NRG1*, *NTF3* genes has been observed in blood cells of all patients. Patients with PoH and AIT with H demonstrated reduced expression of *BDNF*, *CBLN1*, *GFRA1*, *FGF2*, *GMFB*, *STAT1*, *IL6*, *VGF* genes and an increase in expression of *NTRK1-2*, *NPY1R*, *BCL2*, and *BAX* genes.

It had been found, half of the patients with thyroid pathology (47,37 %) carrying the *T*-allele of *BDNF* gene (rs6265) were diagnosed to have the highest anxiety level, which was 3,59 times more frequent, and its level on Hamilton Rating Scale was 32,75 % and 37,29 % higher than in *CC*-genotype patients ( $p < 0,001$ ), especially in AIT-induced hypothyroidism – by 42,83 % and 51,27 %, respectively ( $p < 0,001$ ). The level of anxiety is inversely correlated with the blood *BDNF* concentration, *fT4*, and 25(OH)D ( $r = -0.407$  /  $-0.783$ ;  $p < 0.001$ ) and directly depends on the serum levels of *GRIN2B*, *TSH*, anti-TPO and anti-TG ( $r = 0.201$  -  $0.582$ ;  $p \leq 0.01$  -  $0.001$ ). ROC analysis confirmed the high sensitivity and specificity of the anxiety score depending on the content of *BDNF*, *GRIN2B*, *TSH*, *fT4*, anti-TPO, anti-TG, and 25(OH)D ( $p \leq 0.045$  -  $0.001$ ). We have developed the model of multivariate multiple linear regression analysis, which additionally confirmed the prognostic effect of serum concentrations of *BDNF*, *GRIN2*, *fT4*, *TSH*, and 25(OH)D on the level of «anxiety» with determination coefficients  $R^2 = 84.7$  %, correlation  $r_{xy} = 0.9$  ( $p < 0.001$ ). The odds of anxiety increase more than 23 times in AIT [95 %CI: 8.914-63.175;  $p < 0.001$ ].

We have found that depressive disorders are significantly more apparently to develop in carriers of the *T*-allele of the *BDNF* gene (rs6265) by 28.22 % ( $\chi^2 = 14.31$ ;  $p < 0.001$ ), especially moderate-severe types – by 49.10 % ( $\chi^2 = 37.93$ ;  $p < 0.001$ ). The onset of depression is not associated with the allelic state of the *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) genes. The level of depression is evidently higher in carriers of the *T*-allele of the *BDNF* gene (rs6265) regardless of the observation group: in the control group – by 57.31 % and 76.89 % ( $p \leq 0.013$  -  $0.001$ ), in the experimental group – by 51.17 % and 61.79 % ( $p < 0.001$ ),

respectively. The presence of thyroid pathology increases depression by 1.62-3.77 times ( $P \leq 0.009$ ), with the highest scores in AIT. ROC analysis has confirmed serological markers such as BDNF, TSH, fT4, anti-TPO, and 25(OH)D to be prognostic predictors of depressive disorders ( $p < 0.001$ ). It has been established that the level of depression inversely moderately correlates with the concentration of the BDNF, fT4 and 25(OH)D ( $r = -0.612$  to  $-0.376$ ;  $p < 0.001$ ), directly weakly depends on the concentration of GRIN2B, anti-TPO, anti-TG ( $r = 0.156$  to  $0.284$ ;  $p \leq 0.043$  to  $0.001$ ) and somewhat stronger on the TSH content ( $r = 0.434$ ;  $p < 0.001$ ). The odds of depression increase in hypothyroidism by 31.3 times and in AIT – by 4.63 times ( $p < 0.001$ ).

The data obtained show that cognitive impairment in patients with thyroid pathology is associated with SNP polymorphism of the *BDNF* (rs6265) gene: T-allele carriers might have more frequent cognitive impairment in general by 51.69 % and they are more serious according to the MMSE test (moderate pre-dementia changes are more frequent by 38.28 %, mild dementia – by 13.44 %) than those with the CC genotype ( $\chi^2 = 49.51$ ;  $p < 0.001$ ). The frequency and degree of cognitive deviations do not depend on the allelic state of the *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) genes. The clinical course of thyroid pathology in hypothyroidism (postoperative or autoimmune) is accompanied by worse/lower cognitive function scores than in AIT patients without hypothyroidism, especially in carriers of the T-allele of the *BDNF* gene (rs6265), by 5.60-19.23 % ( $p < 0.05$ ). The risk of cognitive impairment in hypothyroidism increases by 7.26 times ( $p < 0.001$ ). Prognostic predictors of cognitive dysfunction, according to ROC analysis, are BDNF, TSH, fT4 and 25(OH)D content in the blood ( $p \leq 0.01$  to  $0.001$ ). The severity of cognitive impairment in patients with thyroid pathology is inversely moderately correlated with the blood concentration of GRIN2B, TSH and, somewhat weaker, with anti-TPO and anti-TG ( $r = -0.455$  to  $-0.166$ ;  $p \leq 0.035$  to  $0.001$ ), directly strongly depends on BDNF levels, slightly weaker – on the content of fT4 and 25(OH)D ( $r = 0.275$  to  $0.714$ ;  $p < 0.001$ ), respectively. The multivariate



regression analysis has confirmed an increased risk of cognitive impairment in individuals with an increase in the content of GRIN2B in the blood and the presence of the *T*-allele of the *BDNF* (rs6265) gene in patients – by 6.32 times ( $p=0.006$ ), 24.9 and 21.73 times ( $p<0.05$ ), respectively.

*Scientific novelty of the obtained results.* For the first time, the allelic state of the *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) genes in the structure of risk factors for thyroid pathology has been studied.

For the first time, the relationship between certain humoral markers of neurotransmission and thyroid hormonal activity has been evaluated, considering the polymorphism of the *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) genes.

For the first time, the expression of neurotrophin genes and their receptors, neuropeptides, transcription factors, cytokines, and apoptosis regulatory genes in the blood of patients with thyroid pathology has been analyzed.

For the first time, the role of the genes *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) in the development of neuropsychiatric disorders in thyroid pathology has been investigated.

For the first time, prognostic models of the probable development of cognitive impairment, depression, and anxiety disorders have been built depending on the individual genotype of the *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), and *NMDA* (rs4880213) genes, as well as clinical and laboratory parameters.

For the first time, the effect of complex treatment of patients with hypothyroidism and AIT on thyroid hormone activity, neuropsychological status, transcriptional activity of genes regulating neurotransmission, neurogenesis and apoptosis, and specific clinical and laboratory parameters have been analyzed.

For the first time, the mechanisms of development of neuropsychiatric disorders in thyroid pathology are schematically summarized, considering the polymorphism of the genes *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) and based on the obtained indicators of changes in the transcriptome of the studied genetic markers, metabolic and hormonal changes.

*Practical significance of the obtained results.* For the first time, new methods for predicting psychoneurological abnormalities in thyroid pathology and diagnosing their severity depending on molecular genetic predictors have been developed and substantiated, and pathogenetically grounded therapeutic correction of the detected changes has been performed. The therapeutic course of cholecalciferol and L-thyroxine combination has contributed to the improvement of cognitive functions and reduction of depression and anxiety: the relative number of patients with moderate (pre-dementia) cognitive impairment decreased by 28.6 %, every third patient (78.6 %) has normalized cognitive functions according to the MMSE test, the level of depression on the Hamilton Rating Scale decreased by 40 %, and the level of anxiety by 48, 27 % ( $p < 0.001$ ), the number of people with reduced manifestations of depression increased by 50 % and anxiety disorders/anxiety by 14.2 %, or with complete absence (by 21.4 % and 42.9 % of cases, respectively), which was significantly better than with only L-thyroxine administration.

Comprehensive treatment of AIT patients with H contributed to BDNF elevation – by 7.4 and 2,1 times ( $p \leq 0.045-0.001$ ), more significant against the background of taking a combination of cholecalciferol and L-thyroxine, as well as a decrease in the content of anti-TPO and anti-TG – by 31.25 % and 18.84 %, respectively ( $p < 0.05$ ). Under the influence of therapy, the concentration of 25(OH)D in the blood of patients increased by 2.22 times ( $p < 0.001$ ), but only with the above combination of drugs.

Additional administration of vitamin D to the treatment of AIT patients with H resulted in increased expression of some neurotransmission and neurogenesis regulator genes: *BDNF*, *FAS*, *FGF2*, *HSPB1*, *IL10*, *NGF*, *NGFR*, *NRG1*, *NTF3*, *NTF4*, *TGFB1*, and *TP53* by 3.93-37.96 times ( $p \leq 0.039-0.001$ ), and also decrease in transcriptional activity of the *BAX*, *GDNF*, *CD40*, *FOS*, *GDNF*, *GFRA1*, *IL1B*, and *STAT3* genes – by 4.43-35.85 times ( $p \leq 0.021-0.001$ ), respectively.

In predicting neuropsychiatric disorders (anxiety, depression) in thyroid pathology, high-risk groups should include individuals with decreased blood

BDNF levels, hypocholecalciferolemia, increased levels of GRIN2B, TSH, anti-TPO and anti-TG, especially in carriers of the *T*-allele of the *BDNF* (rs6265) gene and the *A*-allele of the *VDR* (rs2228570) gene; the risk of cognitive impairment increases by more than 5-10 times in patients with a combination of minor alleles of the analyzed *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), and *NMDA* (rs4880213) genes in hetero- and/or homozygous form (*CT/GG/CT*, or *CT/AG/CT*, or *CT/AG/TT*), especially with a homozygous mutation of the *NMDA* gene (OR=5.19-10.12;  $p < 0.05$ ), which significantly increases in hypothyroidism.

*Key words:* hypothyroidism, thyroiditis, *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) genes, depression, anxiety, cognition, expression, prediction, risks.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці, у яких опубліковані основні результати дослідження:*

1. Bilous II, Pavlovych LB, Chornenka ZhA. Current situation with thyroid gland disease incidence in Chernivtsi region. The scientific heritage. 2017;11(11):53-56.
2. Bilous II. Features of the peripheral nervous system affection in patients with primary hypothyroidism. Клінічна та експериментальна патологія. 2018;1(63):13-16. DOI: 10.24061/1727-4338.XVII.1.63.2018.3
3. Bilous II, Pavlovych LB. Symptoms of organic brain damage in primary hypothyroidism. Sciences of Europe. 2018;1(25):24-26.
4. Bilous II, Korda MM, Krynytska IY, Kamyshnyi AM. Nerve impulse transmission pathway-focused genes expression analysis in patients with primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Endocrine Regulations. 2020 Apr 1;54(2):109-118. DOI: 10.2478/enr-2020-0013. (**SCOPUS, Q3**)
5. Bilous I, Pavlovych L, Krynytska I, Marushchak M, Kamyshnyi A. Apoptosis and Cell Cycle Pathway-Focused Genes Expression Analysis in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. Open Access Macedonian Journal of

Medical Sciences. 2020 May 20;8(B):784-792. DOI: 10.3889/oamjms.2020.4760  
**(SCOPUS, Q3)**

6. Bilous II, Pavlovyh LL, Kamyshnyi AM. Primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis alter the transcriptional activity of genes regulating neurogenesis in the blood of patients. *Endocrine Regulations*. 2021 Jan 29;55(1):5-15. DOI: 10.2478/enr-2021-0002. **(SCOPUS, Q3)**

7. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Transcriptional Activity of Neurotrophins Genes and Their Receptors in the Peripheral Blood in Patients with Thyroid Diseases in Bukovinian Population of Ukraine. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2021 May 2;9(A):208-216. DOI: 10.3889/oamjms.2021.6037  
**(SCOPUS, Q3)**

8. Kamyshna I, Pavlovyh L, Kamyshnyi A. Association between Serum Brain-derived Neurotrophic Factor and 25-OH Vitamin D Levels with Vitamin D Receptors Gene Polymorphism (rs2228570) in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2021 Aug 31;9(A):659-664. DOI: 10.3889/oamjms.2021.6631  
**(SCOPUS, Q3)**

9. Kamyshna II, Pavlovyh LB, Malyk IV, Kamyshnyi AM. 25-OH Vitamin D blood serum linkage with VDR gene polymorphism (rs2228570) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population. *Journal of Medicine and Life*. 2021 Jul-Aug;14(4):549-556. DOI: 10.25122/jml-2021-0101.  
**(SCOPUS, Q3)**

10. Kamyshna II, Pavlovyh LB, Maslyanko VA, Kamyshnyi AM. Analysis of the transcriptional activity of genes of neuropeptides and their receptors in the blood of patients with thyroid pathology. *Journal of Medicine and Life*. 2021 Mar-Apr;14(2):243-249. DOI: 10.25122/jml-2020-0183.  
**(SCOPUS, Q3)**

11. Kamyshna II, Pavlovyh LB, Sydoruk LP, Malyk IV, Kamyshnyi AM. BDNF blood serum linkage with BDNF gene polymorphism (rs6265) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population. *Endocrine*

Regulations. 2021 Dec 7;55(4):193-203. DOI: 10.2478/enr-2021-0021. **(SCOPUS, Q3)**

12. Kamyshna I, Pavlovych L, Maslyanko V, Chornenka Z. Epidemiological assessment of dynamics of the prevalence and incidence of the thyroid gland diseases in Ukraine and Chernivtsi region. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(3):75-81. DOI: 10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.11

13. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Transcription Factors and Regulators Pathway-focused Genes Expression Analysis in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. Current Pharmaceutical Biotechnology. 2022;23(11):1396-1404. DOI: 10.2174/1389201023666220217123454. **(SCOPUS, Q2)**

14. Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Association between NMDA gene polymorphism (rs4880213) and GRIN2B blood serum levels in thyroid pathology patients. Journal of Medicine and Life. 2022 Jan;15(1):109-116. DOI: 10.25122/jml-2021-0372. **(SCOPUS, Q3)**

15. Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Endocrine Regulations. 2022 Jul 13;56(3):178-189. DOI: 10.2478/enr-2022-0019. **(SCOPUS, Q3)**

16. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Expression of cytokines and cytokine receptors-genes in patients with different forms of thyroid pathology in ukrainian population. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research. 2022;23(4)6:299-308. DOI: 10.2478/sjecr-2021-0038 **(SCOPUS, Q4)**

17. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi AM. Prediction of the Development of Depression in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Jan. 31;10(B):137-145. DOI: 10.3889/oamjms.2022.7896 **(SCOPUS, Q3)**

18. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Vitamin D alters the transcriptional profile of blood cells in patients with primary hypothyroidism.

Фізіологічний журнал. 2022;68(5):16-24. DOI: 10.15407/fz68.05.016  
**(SCOPUS, Q4)**

19. Kamyshna I. Effect of vitamin D on serum BDNF level in patients with hypothyroidism caused by autoimmune thyroiditis. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022;18(5):297-301. DOI: 10.22141/2224-0721.18.5.2022.1189. **(SCOPUS, Q4)**

20. Kamyshna I. The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022;18(7):208-212. DOI: 10.22141/2224-0721.18.4.2022.1173 **(SCOPUS, Q4)**

21. Kamyshna I. Vitamin D in the treatment of anxiety in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism in the West-Ukrainian population. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2022;3(79):20-24. DOI: 10.30978/CEES-2022-3-20

22. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv V, Pankiv I, Kamyshnyi A. Anxiety disorders and prediction of their development in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Feb 05;10(B):1-10. DOI: 10.3889/oamjms.2022.9746 **(SCOPUS, Q3)**

23. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Bytsko N, Kamyshnyi A The complex influence of the combination of BDNF (rs6265), VDR (rs2228570) and NMDA (rs4880213) genotypes on the development of cognitive disorders in patients with thyroid pathology. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(1):9-15. DOI: 10.22141/2224-0721.19.1.2023.1235 **(SCOPUS, Q4)**

24. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Kamyshnyi A. Evaluation of the influence of single-nucleotide polymorphisms of BDNF (rs6265), VDR (rs2228570) and NMDA (rs4880213) genes on gene expression in different tissues. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(2):83-88. DOI: 10.22141/2224-0721.19.2.2023.1250 **(SCOPUS, Q4)**

25. Kamyshna I. The impact of cholecalciferol on cognitive performance in individuals diagnosed with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2023;1(81):32-38. DOI: 10.30978/CEES-2023-1-32

26. Білоус П, Павлович ЛБ. Особливості ураження нервової системи при первинному гіпотиреозі. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018;14(2):168-172. DOI: 10.22141/2224-0721.14.2.2018.130563

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

27. Білоус П. Клінічні особливості полінейропатії у хворих на первинний гіпотиреоз. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018;14(4):409-410.

28. Bilous P. Neurological disorders of patients with endocrine pathology. В: *Матеріали 99 підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»*; 2018 лют. 12, 14, 19; Чернівці. Чернівці; 2018, с. 197-198.

29. Bilous P, Kamyshnyi A, Pavlovych L. Changes the Transcriptional Activity of Genes Regulating Neurogenesis in the Blood of Patients with Thyroid Endocrine Pathology. *Neurology*. 2021;96(15 Suppl):4375.

30. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Neurogenesis pathway-focused gene expression analysis in patients with primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. *Endocrine Abstracts*. 2021;73:AEP658. DOI: 10.1530/endoabs.73.AEP658

31. Kamyshna P. Differential expression of mRNA Neurogenesis Pathway-focused Genes in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. В: *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги*; 2021 верес. 23–24; Тернопіль. Тернопіль; 2021, с. 86-87.

32. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis affect the expression of mRNA nerve impulse transmission genes in the blood of patients. In: Proceedings of the 3<sup>rd</sup> Edition of World Congress Endocrinology, Diabetes and Metabolism; 2022 October 04-05; London. London; 2022, p 29.

33. Kamyshna I. The Transcriptional Activity of Genes Regulating Neurogenesis in the Blood of Patients with Primary Hypothyroidism and Autoimmune. In: Proceedings of the 6th European Congress on Neurology and Brain Disorders; 2022 November 17-18; Rome. Rome; 2022, p 56.

34. Kamyshna II. Cognitive impairment in patients with thyroid pathology. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги; 2022 верес. 29-30; Тернопіль. Тернопіль; 2022, p. 125-126.

35. Kamyshna II. Anxiety disorders in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. In: Proceedings of the XI International Scientific and Practical Conference Problems of the Development of Science and the View of Society; 2023 March 21-24; Graz. Graz; 2023, p. 160-162.

36. Kamyshna II. Depression disorders in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. In: Proceedings of the XIII International Scientific and Practical Conference Theoretical and Applied Aspects of the Development of Science; 2023 May 09-12; Bilbao. Bilbao; 2023, p. 205-206.

37. Kamyshna II. Cognitive disorders in patients with thyroid pathology. In: Proceedings of the XIV International Scientific and Practical Conference Development, Education, Culture: Integration Trends in the Modern World; 2023 April 11-14; Oslo. Oslo; 2023, p. 211-213.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	25
ВСТУП	26
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ АСПЕКТИ І МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	40
1.1 Сучасні уявлення про головні регуляторно-метаболічні ефекти тиреоїдних гормонів	40
1.2 Молекулярні механізми впливу нейротрофічних факторів на розвиток психоневрологічних ускладнень у пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози	45
1.3 Генетичні предиктори розвитку психоневрологічних порушень при тиреоїдній патології	53
1.4 Роль дефіциту вітаміну D у виникненні та розвитку аутоімунних захворювань щитоподібної залози та супутніх психоневрологічних розладів	61
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	71
2.1 Матеріали дослідження: клінічна характеристика обстежених	71
2.2 Методи досліджень	74
2.2.1 Клініко-неврологічне обстеження та опитувальники психоневрологічного стану	74
2.2.2 Імуноферментний аналіз	76
2.2.3 Визначення рівня мРНК у крові	78
2.2.4 Визначення одонуклетидного поліморфізму генів	88
2.2.5 Статистичні та аналітичні методи досліджень	91

РОЗДІЛ 3 ГОРМОНАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ, МЕТАБОЛІЧНО-НЕЙРОТРОФІЧНІ МАРКЕРИ ТА КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ТИРЕОЇДНОЇ ПАТОЛОГІЇ З УРАХУВАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ <i>BDNF</i> (rs6265), <i>VDR</i> (rs2228570) ТА <i>NMDA</i> (rs4880213)	95
3.1 Гормональний профіль, метаболічно-нейротрофічні маркери, психоневрологічні порушення у хворих на патологію щитоподібної залози до лікування, епідеміологічні дані	96
3.2 Аналіз поліморфних варіантів гена <i>BDNF</i> (rs6265) у хворих на патологію щитоподібної залози у популяції Північної Буковини	104
3.3 Аналіз поліморфних варіантів гена <i>VDR</i> (rs2228570) у хворих на патологію щитоподібної залози у популяції Північної Буковини	111
3.4 Аналіз поліморфних варіантів гена <i>NMDA</i> (rs4880213) у хворих із патологією щитоподібної залози у популяції Північної Буковини	117
3.5 Комплексний вплив комбінації генотипів аналізованих генів в пацієнтів із тиреоїдною патологією	123
3.6 Оцінка впливу одонуклеотидних поліморфізмів генів <i>BDNF</i> (rs6265), <i>VDR</i> (rs2228570) та <i>NMDA</i> (rs4880213) на експресію генів у різних тканинах	132
РОЗДІЛ 4 ОКРЕМІ ГУМОРАЛЬНІ МАРКЕРИ НЕЙРОТРАНСМІСІЇ ТА ГОРМОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ <i>BDNF</i> (rs6265), <i>VDR</i> (rs2228570) ТА <i>NMDA</i> (rs4880213)	143

4.1 Зв'язок вмісту BDNF у сироватці крові з поліморфізмом гена <i>BDNF</i> (rs6265) у пацієнтів з патологією щитоподібної залози	143
4.2 Зв'язок 25(OH)D у сироватці крові з поліморфізмом гена <i>VDR</i> (rs2228570) у хворих з патологією щитоподібної залози	148
4.3 Зв'язок BDNF у сироватці крові з поліморфізмом гена <i>VDR</i> (rs2228570) у хворих з патологією щитоподібної залози	150
4.4 Зв'язок <i>GRIN2B</i> у сироватці крові з поліморфізмом гена <i>NMDA</i> (rs4880213) у хворих з патологією щитоподібної залози	153
<b>РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ НЕЙРОТРОФІНІВ ТА ЇХ РЕЦЕПТОРІВ, НЕЙРОПЕПТИДІВ, ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ, ЦИТОКІНІВ ТА ГЕНІВ-РЕГУЛЯТОРІВ АПОПТОЗУ В КРОВІ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ТИРЕОЇДНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ</b>	158
5.1 Аналіз експресії генів-регуляторів передачі нервових імпульсів	159
5.2 Аналіз експресії генів-регуляторів нейрогенезу	163
5.3 Аналіз експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів	169
5.4 Аналіз експресії генів нейропептидів та їх рецепторів	172
5.5 Аналіз експресії генів-регуляторів апоптозу і клітинного циклу	175
5.6 Аналіз експресії генів, які кодують транскрипційні фактори	181
5.7 Аналіз експресії генів цитокінів	184
<b>РОЗДІЛ 6 ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ТРИВОЖНИХ РОЗЛАДІВ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ</b>	191
<b>РОЗДІЛ 7 ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ДЕПРЕСІЇ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ</b>	215

РОЗДІЛ 8 ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ КОГНІТИВНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ	235
РОЗДІЛ 9 РОЛЬ ВІТАМІНУ D У ЛІКУВАННІ ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА АВТОІМУННИЙ ТИРЕОЇДИТ І ГІПОТИРЕОЗ	258
9.1 Вплив холекальциферолу на гормональну активність щитоподібної залози у хворих на автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом	259
9.2 Вплив холекальциферолу на експресію генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в крові хворих на гіпотиреоз з автоімунним тиреоїдитом	262
9.3 Вплив холекальциферолу на когнітивні функції, депресію та тривожність хворих на автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом	267
РОЗДІЛ 10 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	273
ВИСНОВКИ	309
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	315
ДОДАТКИ	383

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АІЗЩЗ	– автоімунне захворювання щитоподібної залози
АІТ	– автоімунний тиреоїдит
АІТ з Г	– автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом
АТПО	– антитіла до тиреопероксидази
АТТГ	– антитіла до тиреоглобуліну
вТ4	– Тироксин
ГАМК	– $\gamma$ -аміномасляна кислота
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
ПОГ	– післяопераційний гіпотиреоз
Т3	– 3,3,5-трийодтиронін
ТГ	– тиреоїдні гормони
ТТГ	– тиреотропний гормон
ТХ	– тиреоїдит Хашимото
цАМФ	– циклічний аденозинмонофосфат
ЦНС	– центральна нервова система
ЩЗ	– щитоподібна залоза
BDNF	– мозковий нейротрофічний фактор
GRIN2B	– глутаматний рецептор, іонотропний, N-метил-D-Аспартат 2B
IL	– Інтерлейкін
LTP	– довгострокова потенціація
NGF	– фактор росту нервів
NMDAR	– N-метил-D-аспартатний рецептор
NTF	– Нейротрофіни
SNP	– однонуклеотидний поліморфізм
TNF- $\alpha$	– фактор некрозу пухлини-альфа
Trk	– рецептори тирозинкінази
VDR	– рецептори вітаміну D

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** На захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) страждає приблизно 6,6 % населення земної кулі. Гіпотиреоз – стан, що характеризується зниженою функцією ЩЗ, діагностується у діапазоні від 0,2 % до 5,3 % європейського і від 0,3 % до 3,7 % американського населення [486]. Масштабні обсерваційні дослідження та мета-аналізи показали, що приблизно 4-7 % населення США та Європи страждають від недиагностованого гіпотиреозу [199]. Ще одним поширеним захворюванням ЩЗ є хронічний автоімунний тиреоїдит (АІТ), який вражає 3-5 % осіб у всьому світі, і найчастіше призводить до гіпотиреозу [85, 317]. При цьому, лікування та профілактики АІТ має важливу соціальну значущість у зв'язку з екологічним забрудненням навколишнього середовища, незбалансованою йодною профілактикою, використанням певних медичних препаратів як факторів, що сприяють пошкодженню імунної системи, а також реалізують ефект на рівні цільових органів, зокрема ЩЗ [296, 401]. З огляду на актуальність тематики, проблема вивчення етіології, патогенезу, епідеміології, діагностики та лікування АІТ набуває важливого медичного та соціального значення [214, 393].

Окрім того, захворювання ЩЗ майже у 5-35 % випадків супроводжуються нейропсихічними клінічними змінами, оскільки тиреоїдні гормони (ТГ) регулюють експресію генів при мієлінізації, диференціюванні нейрональних і гліальних клітин, а також життєздатність і функцію нейронів [43, 451]. Найпоширенішими психоневрологічними проявами тиреоїдних розладів є депресія, тривога та когнітивні порушення [236], що підтверджується низкою досліджень [385, 420, 534] у пацієнтів із гіпотиреозом. З іншого боку, АІТ також пов'язаний із розвитком депресії та тривожних розладів [464].

Незважаючи на те, що ТГ, безсумнівно, впливають на функціонування центральної та периферичної нервової системи, механізми їх дії на мозок

дорослої людини остаточно не встановлено. Існує думка, що психоневрологічні ускладнення на тлі захворювань ЩЗ зумовлені змінами експресії генів, однак механізми їх впливу на розвиток нейропсихічних ускладнень за тиреоїдної патології до кінця не з'ясовано.

Установлено, що нейрогенез - це процес утворення, розвитку та диференціації нових нейронів у нервовій системі, який відбувається як на ранніх стадіях розвитку організму, так і в дорослому мозку та має важливе значення для підтримки та регулювання функціонування нервної системи [382]. Нейрогенез регулюється ендогенними сигнальними молекулами, включаючи гормони і фактори росту [16, 111, 314]. Багато регуляторних генів нейрогенезу не тільки транскрибуються, але і транлюються в клітинах крові [<https://www.proteinatlas.org>]. Аналіз транскрипційної активності генів, що регулюють нейрогенез, у клітинах периферичної крові у пацієнтів із захворюваннями ЩЗ, можуть бути неінвазивним біомаркером нейрогенезу в дорослих. Дослідження експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в хворих дозволяє краще зрозуміти вплив патології ЩЗ на розвиток психоневрологічних ускладнень.

Значущим у цьому аспекті є мозковий нейротрофічний фактор (BDNF), який відіграє важливу роль у процесах навчання та пам'яті [439]. Регуляція BDNF безпосередньо залежить від гормонів ЩЗ і він має важливе значення у розвитку мозку плода [222]. BDNF експресується в різних клітинах, включаючи нервові, і може проходити через гематоенцефалічний бар'єр [419]. Попередні дослідження продемонстрували взаємозв'язок між рівнями BDNF, функцією центральної і периферичної нервової системи [319, 526]. Крім того, BDNF, що експресується в мозку, бере участь у розвитку психічних розладів, і деякі дослідження вказують, що периферичний рівень BDNF потенційно може використовуватися як маркер цих захворювань у людей [194, 409, 505, 509]. Зважаючи на цю важливу роль BDNF, кілька досліджень вивчали зв'язок між ТГ та експресією цього нейротрофіну в

мозку, що розвивається [346, 357]. Оскільки аномалії рівнів BDNF призводять до виникнення різноманітних патологічних станів, які підсилюють розвиток або прогресування депресії, когнітивних розладів, змінюють нейропластичність та нейрогенез, розглядається його роль як біомаркера для лікування нейропсихічних порушень [405, 425].

Виникнення психоневрологічних ускладнень, прогнозування їх розвитку та перебіг у хворих з тиреоїдною патологією, значною мірою детермінується генетичними чинниками. Білок BDNF кодується геном *BDNF*, серед однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) якого одним з найбільш вивчених є поліморфізм rs6265 [348]. Важливим є дослідження патогенетичного зв'язку поліморфізму гена *BDNF* (rs6265), із виникненням когнітивних, депресивних та тривожних розладів при захворюваннях ЩЗ.

Вітамін D, крім загально визнаної ролі в метаболізмі кальцію, також впливає на імунну регуляцію [287]. В окремих дослідженнях встановлено зниження рівня вітаміну D у сироватці крові в осіб із тиреоїдитом Хашимото (ТХ) порівняно з контрольною групою [193]. Активна форма вітаміну D – 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, є важливим імуномодулятором, оскільки він запускає вроджені та адаптивні імунні реакції через зв'язування з рецепторами вітаміну D (VDR) [328]. Серед понад шістдесяти SNP, ідентифікованих у гені *VDR*, деякі, включаючи rs731236, rs1544410, rs2228570 і rs7975232, були пов'язані з ризиком розвитку аутоімунних захворювань ЩЗ (АЗЩЗ) [193, 333]. Ряд досліджень свідчить про позитивний захисний вплив вітаміну D при АЗЩЗ, але механізм його дії до кінця не з'ясований [433]. Клінічні дослідження демонструють сильний взаємозв'язок між рівнями вітаміну D у сироватці крові та когнітивними порушеннями у пацієнтів із АЗЩЗ [527]. Однак до тепер не встановлено зв'язку між поліморфізмами гена *VDR* і рівнями вітаміну D, нез'ясовані механізми та ефекти їх взаємодії у пацієнтів із АЗЩЗ, що потребує подальших деталізованих досліджень.

Вважається, що нейрональний N-метил-D-аспартатний рецептор (NMDAR) відіграє значну роль у патофізіології депресії, а також у



неврологічних і психічних захворюваннях відповідно [512]. Сучасні дані свідчать про те, що глутамат-опосередкована нейротрансмісія може бути важливою мішенню для гормонів ЩЗ [489]. Однак взаємозв'язок між *NMDA* поліморфізмами та рівнями *GRIN2B* у сироватці крові хворих на патологію ЩЗ до цих пір не вивчався.

Відсутні дані щодо основних генетичних факторів ризику розвитку психоневрологічних ускладнень при захворюваннях ЩЗ, не встановлена їх патогенетична роль у виникненні тривоги, депресії та когнітивних порушень залежно від тиреоїдної патології. Не досліджено алельний стан генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у структурі інших чинників ризику, що супроводжуються розвитком психоневрологічних порушень патології ЩЗ. Відсутні дослідження патогенетичного зв'язку окремих гуморальних маркерів нейротрансмісії та гормональної активності ЩЗ з поліморфізмом генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів з патологією ЩЗ у західноукраїнській популяції. Також недостатньо вивчена роль *BDNF* у розвитку психоневрологічних порушень при захворюваннях ЩЗ. Відсутні дослідження патогенетичного зв'язку поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) із виникненням когнітивних, депресивних та тривожних розладів при тиреоїдній патології. Відсутні дані щодо зміни експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу при захворюваннях ЩЗ. Не досліджено прогнозування розвитку тривоги, депресії та когнітивних порушень при захворюваннях ЩЗ. Недостатньо досліджено вплив холекальциферолу на когнітивні порушення, депресію та тривогу при лікуванні хворих на аутоімунний тиреоїдит і гіпотиреоз з метою попередження прогресування психоневрологічних ускладнень при тиреоїдній патології. Все вище означене і зумовило актуальність виконання даного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**  
Дисертаційна робота є фрагментом планової міжкафедральної комплексної

науково-дослідної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України на тему: «Оцінка клінічного перебігу, метаболічних та імунних порушень, змін функції органів та систем при внутрішніх захворюваннях за умови коморбідних станів» (номер державної реєстрації 0118U000361) та кафедри нервових хвороб, психіатрії та медичної психології ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» на тему: «Удосконалення ранньої діагностики та диференційованого лікування пацієнтів з неспсихотичними психічними розладами з урахуванням стану нервової системи» (номер державної реєстрації 0115U002764), співвиконавцем яких була здобувач.

**Мета дослідження:** встановити основні молекулярно-генетичні механізми і закономірності формування психоневрологічних порушень за тиреоїдної патології з урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу; прогнозування психоневрологічних змін та їх патогенетична корекція.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити алейний стан генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у структурі чинників ризику захворювань ЩЗ.
2. Проаналізувати комплексний вплив комбінації генотипів аналізованих генів у пацієнтів із тиреоїдною патологією.
3. Оцінити зв'язок окремих гуморальних маркерів нейротрансмісії та гормональної активності ЩЗ з урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).
4. Вивчити експресію генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в крові пацієнтів із тиреоїдною патологією;
5. Дослідити роль генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у розвитку психоневрологічних порушень при захворюваннях

ЩЗ: встановити патогенетичний зв'язок поліморфізму аналізованих генів з когнітивними порушеннями, депресією та тривогою у пацієнтів залежно від тиреоїдної патології.

6. Побудувати прогностичні моделі ймовірного розвитку когнітивних порушень, депресії і тривожних розладів залежно від індивідуального генотипу генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), клінічно-лабораторних показників, оцінити чутливість і специфічність отриманих результатів; виокремити групи ризику.

7. Установити асоціації гіповітамінозу 25(OH)D із розвитком психоневрологічних порушень у хворих на АІТ і гіпотиреоз.

8. Проаналізувати вплив комплексного лікування пацієнтів із гіпотиреозом та АІТ на гормональну активність ЩЗ, нейропсихічний статус, транскрипційну активність генів-регуляторів нейротрансмісії, нейрогенезу та апоптозу, окремі клінічно-лабораторні показники.

9. Схематично узагальнити механізми розвитку психоневрологічних порушень за тиреоїдної патології з урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) та на підставі отриманих індикаторів змін транскриптому досліджуваних генетичних маркерів, метаболічно-гормональних змін і супутніх чинників ризику.

*Об'єкт дослідження:* АІТ, АІТ з Г, післяопераційний гіпотиреоз (ПОГ), депресія, тривога, когнітивні розлади, методи прогнозування, лікування.

*Предмет дослідження:* молекулярно-генетичні механізми розвитку психоневрологічних порушень (депресії, тривоги, когнітивних розладів) за патології ЩЗ із урахуванням поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213); патогенез порушень нейро-ендокринного статусу з позицій мутації генів і змін транскриптому; діагностично-прогностичні предиктори появи тривожних розладів, когнітивних порушень та депресії при захворюваннях ЩЗ; методи лікування АІТ, АІТ з Г, ПОГ.

*Методи дослідження:* клінічні (неврологічне обстеження та психоневрологічні шкали та опитувальники), імуноферментні (вТ4, ТТГ, АТПО, АТТГ, BDNF, GRIN2B, 25(OH)D); молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція для визначення алельного поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) і транскриптому 84 генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу); статистично-аналітичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше встановлено основні механізми формування психоневрологічних порушень залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів із тиреоїдною патологією.

Уперше виявлено, що у хворих на тиреоїдну патологію мутації генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у гомозиготному стані зустрічаються із частотою 6,54 %, 19,61 % і 21,57 % відповідно, що не відрізняється статистично значимо від групи контролю. Відносна частота поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) між здоровими та хворими з урахуванням виду досліджуваної патології ЩЗ (ПОГ, АІТ з Г та АІТ) вірогідно не відрізняється. Комбінація мінорних алелей аналізованих генів у гетеро- і/чи гомозиготному вигляді (*CT/GG/CT*, чи *CT/AG/CT*, чи *CT/AG/TT*) підвищує ризик появи когнітивних порушень у понад 5-10 разів, особливо за гомозиготної мутації гена *NMDA* (OR=5,19-10,12; p=0,021-0,028), зменшує ймовірність розвитку клінічно значимої тривожності (помірний/тяжкий ступінь) (OR=0,12; p=0,034), без впливу на появу депресивних станів. Натомість поєднання диких алелей у гомо- і /чи гетерозиготному стані, особливо генів *BDNF* і *NMDA* (*CC/AG/CC*) робить ризик розвитку когнітивних порушень найнижчим у популяції (OR=0,14; p=0,042).

Уперше з'ясовано, що рівень нейротрофічного фактора BDNF у сироватці крові має чітку залежність від поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) як у хворих на патологію ЩЗ, так і практично здорових, знижуючись

вірогідно у носіїв мутаційного *T*-алеля, особливо *TT*-генотипу: в пацієнтів – у 2,15-3,24 рази ( $p \leq 0,037-0,001$ ), у групі контролю – в 1,38-2,07 рази ( $p \leq 0,044-0,001$ ) відповідно. Концентрація BDNF крові коливається в межах референтних значень у практично здорових і хворих на АІТ, із помірним та вагомим його зниженням за гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г) у 1,25-3,54 рази за кожним генотипом аналізованих генів окремо ( $p \leq 0,01-0,001$ ): сильніше у носіїв *TT*-варіанту гена *BDNF* (rs6265) – у 3,14-3,35 рази ( $p \leq 0,006-0,001$ ), вірогідно у власників *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) – у 2,61-3,92 рази ( $p < 0,001$ ). Наявність *T*-алеля гена BDNF у генотипі хворих на патологію ЦЗ підвищує ризик низької продукції BDNF ( $< 500$  пг/мл) майже в 10 разів (OR=9,98;  $p < 0,05$ ). Вміст BDNF крові прямо корелює з рівнями Т4, АТТГ і 25(OH)D ( $r=0,32-0,68$ ;  $p \leq 0,016-0,001$ ), зворотно з ТТГ ( $r=-0,69$ ;  $p < 0,001$ ); концентрація вітаміну 25(OH)D прямо впливає на вміст GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ ( $r=0,25-0,63$ ;  $p \leq 0,016-0,001$ ). Досліджувані захворювання ЦЗ супроводжуються гіповітамінозом холекальциферолу (25(OH)D), що вірогідно посилюється за гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г), особливо у носіїв основного *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) у 1,82-2,0 рази ( $p < 0,001$ ). Концентрація медіатора нейротропної активності NR2B-субодиниці глутаматного N-метилD-аспартату рецептора в крові вірогідно знижується за ПОГ у власників усіх генотипів гена *NMDA* (rs4880213) у 3,22-3,65 рази ( $p < 0,001$ ), зростає за АІТ з Г – у 1,52-1,66 рази ( $p < 0,001$ ), підвищуючи клінічну ймовірність розвитку судом, психотичної нестабільності, втрату пам'яті і когнітивних розладів.

Уперше проаналізовано експресію генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в крові пацієнтів із тиреоїдною патологією. Встановлено низку диференційно-експресованих генів, асоційованих із нейротрофінами та їх рецепторами, передачею нервових імпульсів, нейрогенезом, нейропептидами, процесами апоптозу і імунної відповіді – у клітинах крові всіх хворих спостерігали транскрипційну репресію генів *NGF*,

*NGFR, GFRA2, NRG1, NTF3*. Пацієнти з ПОГ і гіпотиреозом у результаті АІТ демонстрували знижену експресію генів *BDNF, CBLN1, GFRA1, FGF2, GMFB, STAT1, IL6, VGF* і підвищену – *NTRK1-2, NPY1R, BCL2, BAX*.

Уперше діагностовано у половини пацієнтів із патологією ЩЗ (47,37 %) носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) найвищий рівень тривожності – «тривогу», що було в 3,59 рази частіше, а її рівень за бальною шкалою Гамільтона на 32,75 % і 37,29 % вище, ніж в осіб із *CC*-генотипом ( $p < 0,001$ ), особливо за гіпотиреозу спричиненого АІТ – на 42,83 % і 51,27 % відповідно ( $p < 0,001$ ). Рівень тривоги зворотно корелює з концентрацією *BDNF* крові, вільного *T4* і холекальциферолу 25(OH)D ( $r = -0,407$  /  $-0,783$ ;  $p < 0,001$ ) і прямо залежить від сироваткового рівня *GRIN2B*, ТТГ, АТПО і АТТГ ( $r = 0,201$  -  $0,582$ ;  $p \leq 0,01$  -  $0,001$ ). ROC-аналіз підтвердив високу чутливість і специфічність показника тривожності залежно від вмісту *BDNF*, *GRIN2B*, ТТГ, вільного *T4*, АТПО, АТТГ і 25(OH)D ( $p \leq 0,045$  -  $0,001$ ). Не має аналогів модель багатофакторного множинного лінійного регресійного аналізу, в якій додатково підтверджено прогностичний вплив сироваткових концентрацій *BDNF*, *GRIN2*, вільного *T4*, АТТГ і 25(OH)D на рівень «тривоги» із коефіцієнтами детермінації  $R^2 = 84,7$  %, кореляції  $r_{xy} = 0,9$  ( $p < 0,001$ ).

Доповнено наукові дані, що гіповітаміноз 25(OH)D на рівні «недостатність» і «дефіцит», а також знижений рівень *BDNF* супроводжуються розвитком тривожності в 90,6-98,7 % ( $p \leq 0,004$  -  $0,001$ ) пацієнтів із патологією ЩЗ. Тривожність з'являється незалежно від концентрації *GRIN2B* крові: за зниженого рівня – в 93,8 % хворих, за підвищеного – в 100 % обстежених. Шанси тривоги зростають у понад 23 рази за АІТ [95 % ДІ: 8,914-63,175;  $p < 0,001$ ].

Вперше встановлено, що депресивні розлади вірогідно частіше розвиваються у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) на 28,22 % ( $\chi^2 = 14,31$ ;  $p < 0,001$ ), особливо середньо-тяжкі форми – на 49,10 % ( $\chi^2 = 37,93$ ;  $p < 0,001$ ). Поява депресії не асоціює з алельним станом генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA*

(rs4880213). Рівень депресії вірогідно вище у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) незалежно від групи спостереження: у контролі – на 57,31 % і 76,89 % ( $p \leq 0,013-0,001$ ), у дослідній групі – на 51,17 % і 61,79 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наявність патології ЩЗ посилює депресію в 1,62-3,77 рази ( $p \leq 0,009$ ) із найвищими балами за АІТ. ROC-аналіз підтвердив у якості прогностичних предикторів появи депресивних порушень такі серологічні маркери, як *BDNF*, ТТГ, вільний Т4, АТПО та 25(ОН)D ( $p < 0,001$ ). Доповнено наукові дані, що рівень депресії зворотно помірно корелює з концентрацією в крові *BDNF*, вільного Т4 та 25(ОН)D ( $r = -0,612$ –/ $-0,376$ ;  $p < 0,001$ ), прямо слабко залежить від концентрації *GRIN2B*, АТПО, АТТГ ( $r = 0,156-0,284$ ;  $p \leq 0,043-0,001$ ) і, дещо сильніше, від вмісту ТТГ ( $r = 0,434$ ;  $p < 0,001$ ). Шанси депресії зростають за гіпотиреозу в 31,3 рази, за АІТ – у 4,63 рази ( $p < 0,001$ ). У хворих на патологію ЩЗ на тлі зниження сироваткової концентрації *BDNF* ризик депресії збільшується у 3,29 рази ( $p = 0,025$ ).

Уперше доведено, що когнітивні порушення у хворих на патологію ЩЗ асоціюють із SNP поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265): у носіїв *T*-алеля когнітивна функція порушується частіше загалом на 51,69 % і глибше за даними MMSE тесту (помірні переддементні зміни трапляються частіше на 38,28 %, деменція легкого ступеня – на 13,44 %), ніж у таких із *CC*-генотипом ( $\chi^2 = 49,51$ ;  $p < 0,001$ ). Частота і ступінь когнітивних девіацій не залежать від алельного стану генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213). Клінічний перебіг патології ЩЗ за гіпотиреозу (післяопераційного, чи автоімунного) супроводжується гіршими / нижчими показниками когнітивної функції, ніж у хворих із АІТ без гіпотиреозу, особливо у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), на 5,60-19,23 % ( $p < 0,05$ ). Ризик когнітивних порушень за гіпотиреозу зростає в 7,26 рази ( $p < 0,001$ ). Прогностичними предикторами появи когнітивної дисфункції за даними ROC-аналізу є вміст у крові *BDNF*, ТТГ, вільного Т4 та 25(ОН)D ( $p \leq 0,01-0,001$ ). Тяжкість когнітивних порушень у хворих на патологію ЩЗ зворотно помірно корелює з концентрацією в

крові GRIN2B, ТТГ і, дещо слабше, з АТПО та АТТГ ( $r=-0,455$ –/ $-0,166$ ;/  $p\leq 0,035$ – $0,001$ ), прямо сильно залежить від рівнів BDNF, дещо слабше – від вмісту вільного Т4 та 25(OH)D ( $r=0,275$ – $0,714$ ;  $p<0,001$ ), відповідно. Багатофакторний регресійний аналіз підтвердив збільшення шансів на когнітивні розлади у обстежених за зростання вмісту GRIN2B у крові та наявності у хворих *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) – у 6,32 раза ( $p=0,006$ ), 24,9 і 21,73 раза ( $p<0,05$ ) відповідно.

**Практичне значення одержаних результатів.** Уперше розроблено і обґрунтовано нові способи прогнозування психоневрологічних порушень за тиреоїдної патології та діагностики їх тяжкості залежно від молекулярно-генетичних предикторів, виконано патогенетично обґрунтовану терапевтичну корекцію виявлених змін. Терапевтичний курс поєднання холекальциферолу і L-тироксину сприяв покращенню когнітивних функцій та зниженню рівня депресії і тривоги: зменшилась відносна кількість хворих із помірними (переддементними) когнітивними порушеннями на 28,6 %, у кожного третього (78,6 %) когнітивні функції нормалізувались за даними MMSE тесту, знизився рівень депресії за шкалою Гамільтона на 40 %, а рівень тривожності на 48,27 % ( $p<0,001$ ), збільшилась кількість осіб зі зниженими проявами депресії – на 50 % і тривожних розладів / тривоги – на 14,2 %, чи їх повною відсутністю (у 21,4 % і 42,9 % випадків, відповідно), що було вірогідно краще, ніж за ізольованого прийому L-тироксину.

Комплексне лікування хворих на АІТ з Г сприяло зниженню ТТГ у 1,78 і 1,82 раза ( $p<0,05$ ), зростанню та нормалізації рівня вільного Т4 ( $p<0,05$ ) і елевачії BDNF – у 7,4 і 2,1 раза ( $p\leq 0,045$ – $0,001$ ), вагоміше на тлі прийому поєднання холекальциферолу та L-тироксину, а також зменшенню вмісту АТПО і АТТГ – на 31,25 % і 18,84 % відповідно ( $p<0,05$ ). Під впливом терапії збільшилась концентрація 25(OH)D у крові хворих у 2,22 раза ( $p<0,001$ ), але тільки за вище означеної комбінації препаратів. Додаткове призначення до лікування хворих на АІТ з Г вітаміну D призвело до зростання експресії окремих генів-регуляторів нейротрансмісії та нейрогенезу: BDNF, FAS,



FGF2, HSPB1, IL10, NGF, NGFR, NRG1, NTF3, NTF4, TGFB1 і TP53 – у 3,93-37,96 разів ( $p \leq 0,039-0,001$ ), а також зменшення транскрипційної активності генів BAX, GDNF, CD40, FOS, GDNF, GFRA1, IL1B і STAT3 – у 4,43-35,85 разів ( $p \leq 0,021-0,001$ ) відповідно.

У прогнозуванні психоневрологічних порушень (тривожності, депресії) за тиреоїдної патології до груп високого ризику слід відносити осіб зі зниженням вмісту BDNF крові, гіпохолекальциферолемії, зростанням рівня GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ особливо у носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) та *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570); ризик появи когнітивних порушень зростає у понад 5-10 разів у хворих із комбінацією мінорних алелей аналізованих генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) у гетеро- і/чи гомозиготному вигляді (*CT/GG/CT*, чи *CT/AG/CT*, чи *CT/AG/TT*), особливо за гомозиготної мутації гена *NMDA* (OR=5,19-10,12;  $p < 0,05$ ), що вірогідно посилюється за гіпотиреозу.

Теоретичні положення дисертації впроваджені в практику наукових досліджень та навчальний процес кафедр патологічної фізіології та медичної реабілітації Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри ендокринології Івано-Франківського державного медичного університету, кафедри сімейної медицини Буковинського державного медичного університету, Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин, лікувально-профілактичних установ первинного та вторинного рівнів надання медичної допомоги: Чернівецькому обласному ендокринологічному центрі, КНП «Міська поліклініка №3» Чернівецької міської ради, Збараській центральній лікарні Тернопільської області, КНП «Білогірській багатoproфільній лікарні», КНП «Білогірський ЦПМСД» Білогірської селищної ради Шепетівського району Хмельницької області, «Волочиській багатoproфільній лікарні Хмельницької області, терапевтичному відділенні ДУ «ТМО МВС України по Закарпатській області», що засвідчують відповідні акти впровадження.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням здобувачки, яка особисто провела патентно-інформаційний пошук, проаналізувала літературні джерела, розробила методологію і дизайн дослідження, виконала більшість діагностично-лабораторних методик. Самостійно підбрала когорту хворих, провела скринінг, розподіл на групи, збір клінічного і лабораторного матеріалу, статистично опрацювала результати. Дисертантка самостійно проаналізувала та узагальнила отримані дані, сформулювала основні наукові положення і висновки, оформила дисертаційну роботу, підготувала до друку статті та тези.

Результати дослідження повністю висвітлені у наукових працях, опублікованих самостійно та у співавторстві. У публікаціях за співавторства авторці належать фактичний матеріал і основний творчий доробок. У дисертації не використано ідеї та розробки, що належать співавторам наукових публікацій.

**Апробація результатів дослідження.** Основні положення дисертаційної роботи оприлюднено на наукових форумах різних рівнів:

– *міжнародних*: World Congress «Endocrinology, Diabetes and Metabolism» (London, October 04-05, 2022); American Academy of Neurology 75 years, Autoimmune Neurology (April 13, 2021); 6th European Congress on Neurology and Brain Disorders (Rome, November 17-18, 2022); 23rd European Congress of Endocrinology (Online, 22-26 May, 2021); XI International Scientific and Practical Conference «Problems of the Development of Science and the View of Society» (Graz, March 21-24, 2023); XIII International Scientific and Practical Conference «Theoretical and Applied Aspects of the Development of Science» (Bilbao, May 09-12, 2023); XIV International Scientific and Practical Conference «Development, Education, Culture: Integration Trends in the Modern World» (Oslo, April 11-14, 2023).

– *загальнодержавному (національному)*: Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ендокринні та неврологічні

захворювання: проблеми коморбідності» (м. Чернівці, 13-4 вересня 2018 р.); 99 підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці; 12, 14, 19 лютого, 2018 р.); IV Національному конгресі з клінічної імунології, алергології та імунореабілітації (м. Чернівці, 19-21 травня 2021 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги» (м. Тернопіль, 23-24 вересня 2021 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання ендокринології та ендокринної хірургії» (м. Київ, 29-30 вересня 2022 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги» (м. Тернопіль, 29-30 вересня 2022 р.); науково-практичній конференції «Коморбідний ендокринологічний пацієнт – 2023. Сесія 2» (онлайн-формат, 24 квітня 2023 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 37 наукових робіт, у тому числі 26 статей, з них 10 статей у фахових виданнях України (5 – одноосібно, 4 – у виданні, що індексується у Scopus), 16 – в іноземних періодичних виданнях (14 – у виданнях, що індексуються у Scopus, з них 1 – в Q2), 11 тез доповідей у матеріалах з'їздів, конгресів і конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 404 сторінках, складається з вступу, 10 розділів, висновків, списку використаних джерел літератури, який включає 547 найменувань (4 – кирилицею та 543 латиницею), та додатків. Робота містить 87 таблиць та 80 рисунків. Список використаних джерел і додатки викладено на 90 сторінках.

**РОЗДІЛ 1**  
**СУЧАСНІ АСПЕКТИ І МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ**  
**ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ**  
**ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ**  
**(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)**

1.1 Сучасні уявлення про головні регуляторно-метаболичні ефекти тиреоїдних гормонів

Гормони щитоподібної залози тироксин (вТ4) та 3,3,5-трийодтиронін (Т3) мають вирішальне значення для розвитку мозку і його правильного функціонування [161, 476]. ТГ мають важливе значення для багатьох функцій організму, від розвитку на пренатальних стадіях, таких як ріст і диференціювання нервової системи, до функцій дорослого віку, таких як концентрація і пам'ять, підтримка швидкості метаболізму, термогенезу, серцево-судинної функції та харчування [107, 399, 471]. Крім того, ТГ залучені до складніших процесів, таких як регуляція експресії багатьох генів та у процеси пам'яті й навчання [17].

Нещодавні досягнення в медицині та молекулярній галузі допомогли глибше вивчити важливу роль і механізми дії ТГ. Було показано, що вони впливають на нейрогенез, диференціювання нейронів і гліальних клітин, мієлінізацію та синаптогенез [43]. Недостатність ТГ може призвести до проблем з пізнанням, моторикою, мовою та пам'яттю [236, 534]. ТГ також беруть участь у виникненні нервово-психічних розладів, таких як шизофренія, біполярний розлад, тривога й депресія [109, 227, 332, 385, 464]. Однак молекулярні механізми ТГ-опосередкованої регуляції нейрональних клітин при цих розладах здебільшого невідомі. Крім того, рівень тиреотропного гормону (ТТГ) асоціює з підвищеним ризиком деменції та хвороби Альцгеймера [140, 514]. Це свідчить про те, що з'ясування

механізмів дії ТГ у мозку допоможе зрозуміти патогенез психоневрологічних розладів при тиреоїдній патології.

Важливу роль у регуляції рівня ТГ всередині тканин відіграють ферменти тканинної дейодинази. Виділяють три різні типи ферментів йодтироніндейодинази, які беруть участь у регуляції ТГ. Дейодиназа типу 2 перетворює тетраїодтиронін або Т4 у біологічно активну форму – Т3, тоді як дейодиназа типу 3 каталізує інактивацію Т3 і Т4. Дейодиназа типу 1 може як активувати, так і інактивувати ТГ [286].

Поглинання ТГ клітинами здійснюється через специфічні транспортери, які експресуються в різних типах клітин. Основними транспортерами в мозку є монокарбоксилатний транспортер (МСТ), поліпептиди-транспортери органічних аніонів (ОАТР) і транспортери амінокислот L-типу (SLC7), які можуть диференційовано експресуватися в олігодендроцитах, астроцитах, нейронах, мікроглії та ендотелії [41].

Потрапляючи всередину клітини, ТГ генерують свої фізіологічні дії через взаємодію Т3 з рецепторами тиреоїдних гормонів, які є у чотирьох ізоформах:  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  і  $\beta 3$ . Ці рецептори діють як фактори транскрипції, які активуються при зв'язуванні Т3, і як репресори транскрипції за відсутності цього гормону [389]. Рецептори тиреоїдних гормонів також експресуються в різних органах. Так, рецептор тиреоїдних гормонів  $\alpha 1$  переважно експресуються в мозку, серці та скелетних м'язах,  $\beta 2$  – в мозку, сітківці та внутрішньому вусі, а  $\beta 3$  – у нирках, печінці та легенях [100].

У мозку спостерігається диференційована експресія дейодиназ. Зокрема, дейодиназа типу 1 в основному експресується у мозочку мишей. Дейодиназа типу 2 переважно експресується в астроцитах, а дейодиназа типу 3 – у нейронах [43].

Відомо, що Т3 має вирішальне значення для розвитку мікроглії, а також може індукувати мікрогліальну міграцію та фагоцитоз. Показано, що знижений рівень ТГ знижує мікрогліальні процеси у постнатальних щурів [321].

Недостатня передача сигналів ТГ може призвести до затримки міграції нейронів, розростання нейронних відростків, мієлінізації та синаптогенезу [501].

Є різні гени-мішені для ТГ; багато з них мають важливе значення для функцій мозку, а понад 1100 важливі для розвитку мозку, а понад 1100 важливі для розвитку мозку [42]. Гормони ЩЗ також мають негеномні механізми впливу, такі як активація  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-ази,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, мітоген-активованих протеїнкіназ, інтегрину  $\alpha\text{v}\beta3$ , підтримку актинового цитоскелету, проліферацію клітин у кістках та гладком'язових клітин дихальних шляхів [125].

Відомо, що ТГ у мозку регулюють кілька шляхів, які сприяють структурним аспектам під час розвитку, таким як нейрогенез, клітинна міграція, мієлінізація та диференціювання нейронів-глії [162]. ТГ впливають на нейрогенез у дорослих [162], який в основному відбувається в двох ділянках мозку, а саме в субвентрикулярній зоні бічних шлуночків і в зубчастій звивині гіпокампу, і, як правило, пов'язаний з когнітивним дефіцитом, психічними захворюваннями та депресією [429]. Уведення ТГ стимулює нейрогенез у цих ділянках мозку, тоді як гіпотиреоз його пригнічує [198].

Добре відомо, що захворювання ЩЗ здатні викликати когнітивну дисфункцію і психологічний дефіцит, включаючи тривогу і депресію [42, 236, 534]. Зв'язок між дефіцитом гормонів ЩЗ та тривогою і депресією був висвітлений у різних дослідженнях [32, 109, 227, 464].

Повідомляється про зниження когнітивної діяльності при гіпотиреозі через зниження синаптичної пластичності гіпокампа [443]. Зокрема, дослідження виявляють ключову роль рецепторів тиреоїдних гормонів  $\alpha1$  у регуляції виживання дорослих гіпокампальних прогеніторів. Це підкреслює важливість рецептора тиреоїдних гормонів  $\alpha1$  у регуляції процесів дозрівання нейрональних попередників [270].

Дослідження підтверджують, що пацієнти, які страждають від гіпотиреозу, мають більшу частоту виявлення депресивних симптомів і гірші

показники за шкалою депресії [464]. Інше дослідження засвідчує, що гіпотиреоз частіше виявляється у пацієнтів із серйозними депресивними розладами [173]. Такий симптом як тривога також спостерігався у 63–65 % пацієнтів з гіпотиреозом [464]. У вибірці з 1503 пацієнтів дослідники виявили, що низькі рівні ТТГ (0,3–1,0 мМО/л) були пов'язані з більшою кількістю депресивних симптомів і більшою частотою такого діагнозу як депресія, ніж високі рівні ТТГ (1,6–4,0 мМО/л) [353]. У дослідженні Б. Ромеро-Гомеса та ін. жінки з гіпотиреозом у 3,13 раза частіше страждали від депресії і в 2,37 раза – від тривожності, ніж жінки без гіпотиреозу [434]. Водночас мета-аналіз, здійснений Loh та ін., не показав поліпшення симптомів депресії після терапії L-тироксином в осіб із супутнім субклінічним гіпотиреозом [332]. Інше дослідження також показало підвищену частоту та зростання ступеня тяжкості депресії у пацієнтів із хронічним автоімунним тиреоїдитом (АІТ) та нормальною функцією ЩЗ [281].

С. Фішер та У. Елерт повідомили про значний зв'язок між тривожними розладами та захворюваннями ЩЗ [168]. Цей факт доведено рутинним скринінгом, показаним для виявлення захворювань ЩЗ під час лікування пацієнтів з тривожними розладами [25].

Відповідно до наукових досліджень, у пацієнтів з гіпотиреозом спостерігається висока поширеність когнітивної дисфункції. Зокрема, збільшення віку, тривалості захворювання та високі рівні ТТГ статистично пов'язані з когнітивним дефіцитом [443]. Попереднє дослідження продемонструвало різні прояви хвороби Альцгеймера у дорослих щурів з гіпотиреозом, а саме гіперфосфорилування тау-білка гіпокампа та порушення експресії сигнальних молекул, пов'язаних із синаптичною пластичністю та пам'яттю, а також підвищений рівень прозапальних цитокінів. Згідно з останніми дослідженнями, рівні загального і вільного Т3 у сироватці крові та загального Т3 у спинномозковій рідині значно нижчі в пацієнтів із хворобою Альцгеймера, порівняно з контрольною групою [140]. Гіпотиреоз також може впливати на роботу холінергічних нейронів

гіпокампа. Експериментальні дослідження на щурах встановили, що при гіпотиреозі відбувається зниження активності холін-ацетилтрансферази та зменшення рівня цього ферменту, який бере участь у синтезі ацетилхоліну [506]. Ацетилхолін є важливим нейромедіатором, який грає ключову роль у регуляції пам'яті, когнітивних функцій і здатності до навчання. Порушення синтезу ацетилхоліну через зниження активності холін-ацетилтрансферази може призвести до дисфункції пам'яті і когнітивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом. Ці дослідження вказують на комплексний вплив гіпотиреозу на нейротрансмітерні системи і структури мозку, особливо в контексті гіпокампа, що може пояснити зв'язок між гіпотиреозом і когнітивними дефіцитами.

Шляхом модифікації активності факторів росту, нейромодуляторів і нейротрансмітерів у мозку дорослих щурів, дисфункція ЩЗ опосередковано впливає на активність ЦНС, включаючи ділянки, залучені в когнітивні та емоційні функції [445]. Зниження ТГ змінює експресію ферментів у гіпокампі, які беруть участь у регуляції систем катехоламінів, ГАМК і серотоніну [289, 490]. Також при гіпотиреозі знижуються рівні серотоніну та триптофану (5-НТР) у мозку [34]. Гіпокампальна активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази та рівні глутамату також знижуються при гіпотиреозі [62]. Крім того, тривалий гіпотиреоз від ембріонального періоду до дорослого віку запускає інтерлейкін-1-залежний механізм автофагії, який сприяє апоптозу нейронів гіпокампа та когнітивним порушенням у щурів [363].

Таким чином, дисфункція гормонів ЩЗ є одним з найпоширеніших ендокринних розладів, пов'язаних як з когнітивними, так і з нейропсихічними симптомами, що підкреслює важливість досліджень, які допомагають у вивченні дії гормонів ЩЗ та їх ролі у розвитку психоневрологічних порушень. Розуміння механізмів, що лежать в основі регуляції нейрогенезу дорослих, має вирішальне значення для розробки методів лікування когнітивних, депресивних та тривожних розладів.



## 1.2 Молекулярні механізми впливу нейротрофічних факторів на розвиток психоневрологічних ускладнень у пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози

Нейротрофічні фактори включають широкий спектр поліпептидів, які необхідні для розвитку та виживання нейронів у центральній і периферичній нервовій системі. [148, 326, 376, 494].

Класичними нейротрофічними факторами (NTF) є BDNF, фактор росту нервів (NGF), нейротрофін-3 (NTF3) і нейротрофін-4 (NTF4) [65]. NTF виконують функції виживання та диференціювання нейронів, синаптогенезу та регулюють пластичність залежно від активності [78, 396, 463, 474]. Кожен NTF з високою спорідненістю зв'язується з певним членом родини рецепторів тирозинкінази (Trk). При цьому NGF зв'язується з TrkA, NTF4 і BDNF зв'язується з TrkB, а NTF3 – з TrkC [219]. NTF3 також зв'язується з іншими рецепторами Trk, і всі NTF зв'язуються і активують загальний рецептор p75, який може посилювати або послаблювати передачу сигналів Trk. На додаток до зрілих, які вибірково зв'язуються з рецепторами Trk для сприяння трофічній сигналізації, є пронеуротрофіни, які діють через p75, значною мірою сприяючи апоптозу [354, 472].

У нервовій системі дорослої людини рецептори Trk регулюють синаптичну пластичність. Цитоплазматичні домени рецепторів Trk містять кілька сайтів фосфорилування тирозину, які рекрутують проміжні сполуки у внутрішньоклітинні сигнальні каскади. Як наслідок, передача сигналів рецептора Trk активує кілька невеликих білків G, включаючи Ras, Rap-1 і родину Cdc-42-Rac-Rho, а також шляхи, що регулюються MAP-кіназою, PI-3-кіназою та фосфоліпазою-C-гамма (PLC-gamma) [219]. Ці рецептори можуть або посилювати, або пригнічувати дії один одного, опосередковуючи нейротрофічний ефект. NGF, NTF3 і NTF4 експресуються нейронами, клітинами мікроглії і астроцитами, а також активованими лімфоцитами [28]. Було показано, що рівні NTF4 корелюють із психосоціальним

функціонуванням у пацієнтів з біполярним розладом на стадії ремісії [504]. Недавній мета-аналіз, здійснений Ценгом та ін., виявив підвищення рівнів NTF3 і NTF4 у пацієнтів з біполярним розладом [504].

Різні запальні та аутоімунні захворювання призводять до зміни експресії NGF. Підвищені рівні антитіл проти NGF були виявлені в пацієнтів з ревматоїдним артритом, системним червоним вовчаком і тиреоїдитом. Вони, як вважають, сприяють імунній дисфункції і пошкодженню нервів, що спостерігаються при цих захворюваннях [133]. NGF відіграє важливу роль у процесах виживання нейронів, стійкості мозку до ішемії та бере участь у механізмі, за допомогою якого нейрони можуть бути захищені від загибелі клітин [225]. Кілька досліджень також показали, що гормони ЩЗ регулюють експресію NGF [367]. Т4, що вводився дорослим щурам і мишам, підвищував рівень NGF у корі головного мозку, гіпокампі і мозочку [192]. І навпаки, гіпотиреоз у дорослих щурів знижував рівні мРНК NGF у корі головного мозку, гіпокампі та мозочку [13]. У дослідженнях автори повідомили про дефіцит просторового навчання та пам'яті в дорослих щурів із дефіцитом ТГ [21], що призвело до порушення LTP (довготривалого потенціонування) та експресії нейротрофічних факторів у гіпокампі [223].

NTF3 є ключовим медіатором розвитку нейронів, який сприяє виживанню під час диференціювання нейронів [324]. Експресія NTF3 регулюється гормонами ЩЗ [325]. Т3 індукує експресію мРНК NTF3 і розвиток нейронів у мозочку новонароджених [325]. Т4, який вводили дорослим щурам і мишам, підвищував рівні NTF3 у корі головного мозку, гіпокампі й мозочку [192]. Рівні мРНК NTF 3 у мозочку знижуються при гіпотиреозі в новонароджених [325].

FGF2 (фактор росту фібробластів) також необхідний для підтримки та розвитку нервової системи [368]. За даними Хашимото і співавт., пацієнти з шизофренією під час медикаментозного лікування мали вищі рівні білка FGF2 у сироватці крові [211]. В осіб, які страждають серйозним депресивним розладом, порушена регуляція транскриптів FGF, яка відновлювалась за

допомогою інгібіторів зворотного захоплення серотоніну [155]. Дисфункція гормонів ЩЗ пов'язана з афективними розладами, а також з підвищеною схильністю до депресії у пацієнтів з гіпотиреозом і підвищеною тривожністю, про яку повідомлялося у хворих на гіпертиреоз [126].

NTF і FGF сприяють постнатальному зубчастому нейрогенезу, передаючи сигнали через свої специфічні підтипи рецепторів, рецептор FGF 1 (FGFR1) і рецептор нейротрофічної тирозинкінази 2-го типу (NTRK2) [320].

Гліальний фактор дозрівання бета (GMFB) бере участь в імунорегуляції, нейропластичності та апоптозі, процесах, що відіграють центральну роль у пошкодженні нервової системи і відновленні після ішемії головного мозку. Відомо, що GMFB експресується в багатьох органах, у тому числі в тканині головного мозку [454]. Рівні GMFB у плазмі крові можуть бути зручним неінвазивним доповненням до нейровізуалізації для діагностики та прогнозування інсульту [536].

Фактор стимуляції міоцитів 2 (MEF2) також сприяє виживанню нейронів і регулює морфогенез дендритів, диференціювання постсинаптичних структур і кількість збуджувальних синапсів [458]. Знижені рівні експресії мРНК MEF2C у лейкоцитах були запропоновані як діагностичні маркери хвороби Альцгеймера [448].

Іншим білком, який бере участь у формуванні синапсів у ЦНС, є попередник Cerebellin 1 (CBLN1) [215]. Повідомляють про значне зниження концентрації пептиду, пов'язаного з CBLN1, при деяких неврологічних розладах [365], що вказує на його важливу роль і потенційну діагностичну значущість у виявленні цілісності синапсів при різних фізіологічних і патологічних станах мозку дорослої людини.

NGF експресується не тільки в нейрональних, а й в інших клітинах (епітеліальних, ендотеліальних і скелетних, м'язових клітинах, фіброблестах, адипоцитах і клітинах кісткового мозку); він може модифікувати місцеві імунні відповіді, сприяючи домінуванню Т-хелперів 2 з вивільненням різних цитокінів, хемокінів і похідних простагландинів [204]. NGF бере участь як у

функціонуванні нейрональних клітин, так і в активності запально-імуних клітин, сприяючи розвитку і підтримці хронічного запалення [360].

Нейрегуліни (NRGs) – це міжклітинні сигнальні білки, які є лігандами для рецепторів тирозинкінази родини ErbB. Родина генів нейрегуліну складається з чотирьох членів: NRG1, NRG2, NRG3 і NRG4 [159]. NRG та їх рецептори широко експресуються в нервовій системі [40].

Нейротензин також регулює широкий спектр фізіологічних процесів і пов'язаний з патогенезом різних станів, включаючи ожиріння, гіпотензію, гіпотермію, знеболення, наркоманію, хворобу Паркінсона, ріст ракових клітин і шизофренію [67]. Більшість біологічних ефектів нейротензину опосередковується через рецептор нейротензину 1 (NTSR1) [522]. NTSR1 є одним з найбільш вивчених серед рецепторів нейротензину та експресується в ЦНС, включаючи нейрони та гліальні клітини [150]. Про участь нейротензину в регуляції активності ТГ було описано раніше [477]. Крім того, була вивчена роль нейротензину у виникненні психічних та інших захворювань ЦНС [517].

Артемін (ARTN) є членом родини лігандів нейротрофічних факторів, отриманих з гліальних клітинних ліній. Рівні ARTN у плазмі крові знижуються у пацієнтів з тяжким депресивним розладом [391]. У клітинах периферичної крові пацієнтів зі значним депресивним розладом методом ПЛІР у реальному часі виявлено знижені рівні експресії гліального нейротрофічного фактора (GDNF), ARTN і NTF3. Зміни в рівнях експресії мРНК GDNF, ARTN і NTF3 були інтерпретовані як залежні від стану і пов'язані з патофізіологією депресії [390].

Циліарний нейротрофічний фактор (CNTF) виробляється астроцитами в головному мозку в субвентрикулярній зоні та стимулює процеси нейрогенезу [530].

Індукований фактор росту нервів VGF (VGF) уперше був ідентифікований як нейропептид, експресія якого індукується NGF [315]. Експресія VGF також індукується низкою інших факторів росту, таких як

BDNF та NTF3 [60]. VGF синтезується в нейрональних і нейроендокринних клітинах, а також у центральній нервовій системі (ЦНС), особливо в корі головного мозку, гіпокампі та гіпоталамусі [473]. Дослідження показують, що пептиди, отримані з VGF, беруть участь у ряді функцій ЦНС та периферичних тканин. Наприклад, у пацієнтів з тяжким депресивним розладом, які не приймали ліки протягом принаймні 2 тижнів, рівні мРНК VGF у лейкоцитах були значно знижені, приблизно на 50 %, порівняно зі здоровими суб'єктами [82].

Кортикотропін-релізінг-фактор-зв'язувальний білок (CRHBP), високоафінний зв'язувальний білок, який модулює CRH-опосередковану активацію рецепторів CRH у головному мозку і периферії та є основним медіатором нейроендокринної і поведінкової реакцій ссавців на стрес [152]. Виявлено, що рівні CRHBP у плазмі крові були підвищені при запальних станах, таких як ревматоїдний артрит і септицемія [274].

GDNF належить до родини лігандів GDNF [108], яка складається з чотирьох членів: GDNF, нейтурин, персефін і артемін. Виявлено, що GDNF покращує виживання та диференціювання дофамінергічних нейронів у первинних культурах шляхом сприяння поглинанню дофаміну [323]. GDNF також сприяє синаптогенезу [309]. Зниження рівнів експресії мРНК GDNF, ARTN і NTF3 у клітинах периферичної крові було виявлено у пацієнтів зі значним депресивним розладом [390].

BDNF є фундаментальним нейротрофіном для функції ЦНС, який відіграє ключову роль у розвитку нервової системи, впливаючи на диференціювання клітин, апоптоз, нейрогенез та синаптогенез [10, 293, 474]. Він бере участь у регуляції різних функцій нейронів як під час розвитку, так і в мозку дорослої людини, включаючи довгострокову потенціацію, синаптичну пластичність, навчання та пам'ять [293]. Відомо, що цей фактор є важливим регулятором сприйняття болю, причому більшість доказів указує на проноцицептивні ефекти. Однак останні дані свідчать про те, що BDNF може чинити протизапальну дію, зменшуючи таким чином передачу болю.

Попередні дослідження показали, що ТГ відіграють важливу роль у експресії BDNF [456]. Експресія BDNF, безпосередньо регульована ТГ, відіграє важливу роль, особливо в критичний період розвитку мозку плода [446]. Недостатність ТГ під час розвитку призводить до зниження рівня BDNF, когнітивних порушень і затримки нервового розвитку як у людей, так і в експериментальних тварин [457]. Попередні дослідження на моделі щурів показали, що дисфункція ЦЗ матері впливає на експресію BDNF. Це призводить до неврологічних дефектів, які можуть бути виявлені у дорослих тварин [128]. Клінічні дослідження у пацієнтів з тяжким депресивним розладом показали, що ТТГ має зворотний зв'язок з рівнем BDNF у сироватці крові і викликає його порівняно незначне підвищення протягом всієї терапії антидепресантами [24].

Експресія BDNF також була виявлена в олігодендроцитах, астроцитах і мікрогліальних клітинах [37]. Ці клітини можуть реагувати на стимуляцію BDNF, а також сприяти його виробленню, впливаючи таким чином на різні процеси, зокрема розвиток аксонів, нейротрансмісію, олігодендрогенез та диференціювання [428]. Як правило, у мозку дорослих мишей високі рівні мРНК BDNF виявляються в корі головного мозку, нюховій ділянці та гіпокампі, тоді як нижчі рівні можуть бути виявлені в гіпоталамусі та таламусі [418]. Крім того, Чжан і його колеги виявили вищі рівні мРНК в астроцитах, порівняно з нейронами, хоча рівні зрілої форми BDNF залишалися відносно низькими [543]. BDNF у ЦНС розглядається як головний регулятор розвитку та функціонування нейронів. У різних дослідженнях повідомлялося про участь BDNF у регуляції росту дендритів і нейрогенезу. Було показано, що BDNF може модулювати нейрони та сприяти їх диференціюванню й виживанню [543].

У початковій фазі диференціювання різні шляхи сприяють локальному збільшенню рівня цАМФ у нейронах. Це індукує секрецію BDNF і транслокацію рецепторів TrkB до плазматичної мембрани, посилюючи таким чином автокринну дію BDNF [99]. Сигнальний шлях BDNF залишається

активованим навіть після стабілізації аксона, сприяючи його росту [99]. Різні дослідження характеризують BDNF як важливий медіатор у нейрогенезі дорослих у зубчастій звивині (DG) і субвентрикулярній зоні (SVZ) [503].

Пресинаптичні ефекти BDNF значною мірою пояснюють модуляцією ефективності вивільнення везикулярного глутамату в синапсах ссавців, у тому числі в гіпокампі [493]. Постсинаптичні функції BDNF у синаптичній пластичності полягають у тому, що BDNF модулює глутаматні рецептори. BDNF збільшує передачу та синаптичну доставку рецепторів  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолу пропіонової кислоти (AMPA) у зрізах гіпокампа [170]. Було показано, що синаптична активність регулює синаптичну структуру шляхом регуляції дендритного синтезу BDNF, що може сприяти подальшому посиленню локального ефекту нейротрофічних факторів [502].

Крім цієї опосередкованої BDNF модифікації зрілих синапсів, BDNF відіграє вирішальну роль у нейронному розвитку та нейрогенезі [209]. Інша фундаментальна роль BDNF пов'язана з LTP як у гіпокампі, що розвивається, так і в дорослому. LTP – це процес, що включає постійне посилення синапсів, що призводить до тривалого збільшення передачі сигналу між нейронами та відіграє важливу роль для підтримки синаптичної пластичності. Послідовно LTP знижується у мишей з дефіцитом BDNF, тоді як лікування BDNF відновлює нормальні процеси LTP у зрізах гіпокампа, отриманих від мишей [386]. Хоча BDNF не є важливим у всіх механізмах, що призводять до LTP, він секретується під час розвитку LTP [449]. Повідомлялося, що пригнічення ендогенної передачі сигналу BDNF/TrkB під час індукції LTP значно зменшує синаптичну потенціацію [330]. У цьому плані BDNF відіграє вирішальну роль у синаптичній передачі шляхом регулювання та потенціювання активності рецепторів NMDA [93].

Досліджено, що BDNF впливає на регуляцію як збудливої, так і інгібіторної синаптичної передачі шляхом модулювання активності іонотропних каналів [216, 427]. Отже, BDNF може індукувати постійне

посилення вивільнення глутамату в постсинаптичних глутаматергічних нейронах, хоча він значною мірою неефективний щодо ГАМК-ергічних або інших гальмівних нейронів [29]. Вивільнення BDNF з пресинаптичного нейрона може індукувати посилення саме постсинаптичної передачі глутаматергічного нейрона, тоді як постсинаптична передача в ГАМК-ергічному нейроні пригнічується. Була виявлена пряма кореляція між активністю TrkB і фосфорилуванням рецептора NMDA [142]. Оскільки LTP залежить від активності NMDA, передача сигналів BDNF/TrkB є вирішальною у цьому процесі шляхом зв'язування молекули (Fyn), яка опосередковує взаємодію між BDNF/TrkB і рецептором NMDA, сприяючи пластичності нейронів і пам'яті [129].

Іншим важливим аспектом пластичності нейронів є роль BDNF, що виробляється гліальними клітинами. Наприклад, олігодендроцити, розташовані поблизу синапсів, також можуть модулювати пластичність нейронів і активність пресинаптичних елементів через секрецію BDNF [229]. Вивільнення BDNF з олігодендроцитів призводить до активації рецептора TrkB на пресинаптичних закінченнях, індукуючи швидше вивільнення нейромедіатора. Крім того, Джанг і його колеги продемонстрували, що олігодендрогліальний BDNF необхідний для вивільнення глутаматних везикул, беручи участь у вивільненні глутамату шляхом екзоцитозу [229]. Аномалії нейропластичності можуть бути пов'язані зі змінами рівнів нейротрофічних факторів, особливо BDNF [425].

Антидепресанти сприяють експресії BDNF і передачі сигналів [280]. Вважається, що залежні від активності структурні зміни в синапсах, наприклад, збільшення кількості та об'єму дендритних шипів, сприяють змінам рівнів глутаматних рецепторів і сигнальних молекул і, зрештою, підтримують синаптичну силу [271]. BDNF відіграє вирішальну роль у цій структурній пластичності. Деякі дослідження *in vitro* підтверджують думку про те, що в гіпокампі BDNF активує розгалуження та ріст нейронів, що розвиваються, водночас регулюючи морфологію зрілих нейронів [369]. Разом



ці результати свідчать про те, що негативна стимуляція, як і ендокринні порушення, знижує синтез BDNF на рівні транскрипції та призводить до порушення структурної нейропластичності. У результаті ці порушення структурної нейропластичності можуть бути початковим фактором розвитку депресії та когнітивних порушень.

### 1.3 Генетичні предиктори розвитку психоневрологічних порушень при тиреоїдній патології

Відкриття ролі генетичних факторів у розвитку поширених багатофакторних захворювань має велике значення і зараз залишається однією з головних проблем біомедичних досліджень. Серед багатьох факторів, що сприяють виникненню і прогресуванню психоневрологічних порушень при тиреоїдній патології, генетичні чинники захворювання на сьогодні залишаються найменш вивченими.

Ген *BDNF* на хромосомі 11p14.1 у людей кодує мозковий нейротрофічний фактор, який екстенсивно експресується в мозку ссавців і є важливим для виживання та диференціації популяцій нейронів під час розвитку. Переважно він бере участь у пізнанні та пам'яті, включаючи нейропротекцію, регуляцію росту нейронів і гліальних клітин, а також модуляцію як короткочасних, так і довгострокових синаптичних зв'язків [293, 361].

Описано понад сто різних поліморфізмів гену *BDNF* [497]. Однак найбільш вивченим однонуклеотидним поліморфізмом (SNP) є поліморфізм Val66Met (rs6265) у продоміні гена *BDNF*. SNP rs6265 *BDNF*, або Val66Met, супроводжується тим, що метіонін (Met) замінює валін (Val) у кодоні 66 (196 C>T, Val66Met; rs6265), що призводить до зниження секреції BDNF [97]. На сьогоднішній день відомо, що цей поліморфізм бере участь у виникненні багатьох нейропсихіатричних захворювань, включаючи деменцію, шизофренію та розлади тривожно-депресивного спектру [31, 487].

Міnorний алель поліморфізму rs6265 у гені *BDNF* має частоту від 2 до 29 % у європеїдних популяціях [410]. Носії демонструють знижену секрецію *BDNF* порівняно з носіями Val/Val, причому гомозиготні суб'єкти демонструють значно менше вивільнення порівняно з гетерозиготами (Met/Met > Val/Met > Val/Val) [358]. Але, навіть у гетерозиготних носіїв він пригнічує внутрішньоклітинний транспорт та вивільнення *BDNF* у синаптичну щілину [348].

Велика кількість досліджень свідчить про патологічні стани, пов'язані зі зниженням секреції *BDNF*, пов'язаного з rs6265, включаючи зменшення об'єму гіпокампа та кори, аномальні синаптичні зв'язки [145, 358, 482]. Функціональні наслідки цього поліморфізму впливають на пам'ять і когнітивні здібності, тривогу та депресію, а також пов'язані з обсесивно-компульсивним розладом, синдромом дефіциту уваги та гіперактивності, шизофренією, розсіяним склерозом, блефароспазмом і мігренню [74, 130, 141, 149, 312, 356, 459, 470]. Така патологія може бути пов'язана з тим, що заміна *BDNF* Val66Met може призвести до порушення транспортування транскриптів мРНК *BDNF* до дендритів, що є критичним для синаптичної пластичності. Як наслідок, зниження транспортування *BDNF* до дендритів може призводити до виникнення психоневрологічних захворювань [102, 130].

Мета-аналіз, проведений Фукумото та ін., 2010, повідомив, що жінки, які були носіями алелі Met, були більш сприйнятливими до виникнення хвороби Альцгеймера, тоді як чоловіки-носії алелі Met не страждали [175].

Гетерозиготні та гомозиготні носії алеля Met з хворобою Альцгеймера мають відповідно вдвічі та втричі вищий ризик пов'язаних з хворобою Альцгеймера симптомів депресії [61]. Оскільки *BDNF* має важливе значення для виживання клітин і синаптичної пластичності, особливо в гіпокампі, не дивно, що експресія генетичного варіанту (rs6265) і зниження вивільнення цього нейротрофіну були пов'язані з хворобою Альцгеймера [61].

На даний момент є кілька опублікованих досліджень, які вказують на роль SNP rs6265 у патогенезі хвороби Гентінгтона. Цікаво, що особи з хворобою Гентінгтона, які мають гетерозиготний генотип Val/Met, як повідомлялося, мають більш пізній вік початку порівняно з тими, хто був гомозиготним за генотипом Val або гомозиготним за генотипом Met [9].

Деякі дослідники вказують на те, що підвищений ризик і тяжкість депресії більш характерні для осіб, які є носіями алеля rs6265 Met [337]. Крім того, повідомлялося про підвищений рівень метилювання гена BDNF у гетерозиготних (Val/Met) літніх жінок із тривогою/депресією порівняно з тими, хто був гомозиготним (Val/Val) [83, 492].

Наразі існують суперечливі докази щодо взаємозв'язку SNP rs6265 BDNF та шизофренії [524]. Мета-аналіз приблизно 39 досліджень типу «випадок-контроль» встановив, що гомозиготний генотип Met підвищує ризик шизофренії в азіатських, європейських та китайських популяціях [200, 275]. Гомозиготні носії алеля Met мали підвищений ризик шизофренії приблизно на 19 % порівняно з носіями Val/Met [275].

Було помічено, що в європеїдній (вірменській) популяції хворих на хронічну шизофренію гомозиготні носії алеля Met, незалежно від статі, мали більш ранній вік порівняно з особами, які мали генотипи Val/Val і Val/Met [537].

Наступним геном, що привертає увагу дослідників, є ген VDR [105]. Згідно з останніми дослідженнями, було продемонстровано зв'язок між низьким рівнем вітаміну D та аутоімунними захворюваннями щитоподібної залози, такими як тиреоїдит Хашимото [278]. Різні дослідження показали, що вітамін D має вирішальне значення для нормального розвитку мозку та його функціонування, тому дефіцит вітаміну D був пов'язаний з неврологічними розладами [195].

На сьогоднішній день відомо про чотири поліморфізми гена VDR (TaqI (rs731236, алелі T/t), ApaI (rs7975232, алелі A/a), FokI (rs2228570, алелі F/f) і BsmI (rs1544410, алелі B/b), які пов'язують з ризиком виникнення ТХ. Проте

дослідження, присвячені цим поліморфізмам, показали суперечливі результати. Мета-аналіз 11 досліджень типу «випадок-контроль» мав на меті встановити зв'язок між чотирма поліморфізмами та схильністю до ТХ [511]. У даному мета-аналізі було виявлено, що тільки поліморфізм *FokI* суттєво пов'язаний з ризиком виникнення ТХ (*F* vs. *f*: OR=1.44, 95 % CI=1.09–1.91,  $p=0.010$ ; *FF* vs. *Ff+ff*: OR=1.72, 95 % CI=1.09–2.70,  $p=0.019$ ). Крім того, аналіз підгруп показав значні зміни лише в азіатській популяції (*F* vs. *f*: OR=1.45, 95 % CI=1.07–1.95,  $p=0.016$ ; *FF* vs. *ff*: OR=1.64, 95 % CI=1.03–2.59,  $p=0.036$ ; *FF+Ff* vs. *ff*: OR=1.34, 95 % CI=1.00–1.80,  $p=0.047$ ; та *FF* vs. *Ff+ff*: OR=1.64, 95 % CI=1.03–2.64,  $p=0.039$ ), в той час як у європеїдній популяції змін не було. Для інших поліморфізмів, таких як *TaqI*, *ApaI* та *BsmI*, не було виявлено явних асоціацій за жодною моделлю. Ці наявні докази свідчать, що лише поліморфізм *VDR FokI* пов'язаний з ризиком ТХ і тільки в азіатській, але не в європеїдній, популяції [511].

Поліморфізм *FokI* (rs2228570), що впливає на кодон ініціації трансляції *VDR*, є єдиним відомим на часі поліморфізмом цього гена, який призводить до експресії зміненого білка [513]. Продукуються дві структурно відмінні ізоформи білка: *F-VDR* на 3 амінокислотні залишки коротші за *f-VDR*. Повідомлялося, що вкорочений варіант білка *F-VDR* більш ефективний при трансактивації, індукованої вітаміном D [110]. Наприклад, в експериментах з трансфекції показано, що вкорочений варіант *F-VDR* більш інтенсивно індукував NF- $\kappa$ B- і NFAT-опосередковану транскрипційну активність порівняно з *f-VDR*. Таким чином, генотип *FF VDR* призводить до підвищеної експресії як мРНК, так і білка IL-12 у моноцитах і дендритних клітинах людини, порівняно з клітинами з генотипом *ff VDR* [499]. Це свідчить про те, що носії генотипу *FF* можуть мати сильнішу імунну відповідь а, отже, піддаватися підвищеному ризику розвитку імуноопосередкованих розладів.

Шість з восьми попередніх досліджень, в яких порівнювали частоту поліморфізму *FokI* у пацієнтів з ТХ з контрольною групою, виявили позитивну асоціацію [202]. Мета-аналіз, проведений Вангом та ін. [511],

показує, що алель F може бути фактором ризику схильності до ТХ (OR=1,44, p=0,010), оскільки частота розвитку ТХ була значно вищою в осіб із генотипом FF порівняно з особами з генотипом Ff + ff (OR=1,72, p=0,019). Однак, аналіз підгруп, стратифікованих за етнічною приналежністю, показав, що, ризик ТХ в осіб з генотипом FF був вищим в азіатських популяціях (OR=1,64, p=0,039), та не стосувалося європеїдних популяцій. Така невідповідність свідчить про дію інших чинників, таких як різне генетичне походження, екологічні причини та спосіб життя, серед яких харчування та вплив сонячного світла.

Дослідження показали, що поліморфізми гена *VDR* (rs731236, rs1544410, rs2228570 і rs7975232) можуть змінювати експресію *VDR* [495]. Наприклад, алель f *VDR* rs2228570 був пов'язаний з більшою кількістю копій мРНК *VDR* [387]. Деякі дослідження вивчали асоціації між цими поліморфізмами та різними розладами, включаючи аутоімунні захворювання та ТХ; однак, очевидно, що результати часто відрізнялися в залежності від расової та етнічної приналежності. Наприклад, значний зв'язок між *VDR* rs2228570 і ризиком виникнення ТХ було зареєстровано в сербській популяції [137], в той час як *VDR* rs731236 і rs2228570 пов'язують із значним ризиком ТХ в турецькій популяції [533]. У той же час, інші дослідження, включно з дослідженням загальногеномних асоціацій, не змогли пов'язати ці поліморфізми зі схильністю до АЗЩЗ [193]. Мета-аналіз поліморфізму *VDR* rs2228570 і ризику АЗЩЗ продемонстрував суттєвий зв'язок у загальному аналізі (СТ vs. СС: OR=0.73, 95 % CI: 0.56–0.95,  $P_Z=0.02$ ; ТТ+СТ vs. СС: OR=0.71, 95 % CI: 0.54–0.93,  $P_Z<0.001$ ; Т vs. С: OR=0.80, 95 % CI: 0.68–0.95,  $P_Z=0.01$ ) [181]. У той час як подальший аналіз підгруп продемонстрував значний зв'язок з ТХ (Т vs. С: OR=0.69, 95 % CI: 0.50–0.97,  $P_Z=0.03$ ), зв'язку з хворобою Грейвса (ХГ) не було виявлено. Аналіз підгруп з урахуванням етнічної приналежності виявив значну асоціацію в азіатських популяціях (ТТ vs. СС: OR=0.63, 95 % CI: 0.42–0.93,  $P_Z=0.02$ ; ТТ+СТ vs. СС: OR=0.65, 95 % CI: 0.45–0.95,  $P_Z=0.02$ ; ТТ vs. СТ+СС: OR=0.72, 95 % CI: 0.58–0.91,  $P_Z=0.005$ ;

T vs. C: OR=0.72, 95 % CI: 0.56–0.92,  $P_z=0.008$ ), яка не спостерігалась в європеїдних популяціях. Ці результати свідчать про вплив інших факторів, таких як генетичне походження різних популяцій; однак їх також можна пояснити дизайном дослідження з невеликим розміром вибірки.

Автоімунні захворювання щитоподібної залози впливають на транскрипційну активність генів-регуляторів нейрогенезу і нейротрофінів і можуть призвести до депресії і неврологічних ускладнень. N-метил-D-аспартатний рецептор (NMDAR) та інші глутаматні рецептори утворюють основні молекулярні детермінанти збуджувальних синапсів у центральній нервовій системі і відіграють вирішальну роль у синаптичній передачі та пластичності [136, 395]. Функціональні рецептори NMDA складаються з субодиниці NR1 (GRIN1) та однієї з чотирьох субодиниць NR2 (GRIN2A, GRIN2B, GRIN2C і GRIN2D) [154, 188, 318]. Різні субодиниці визначають властивості зв'язування рецептора та його проникність для позаклітинних катіонів. Крім того, вони впливають на взаємодію рецептора з внутрішньоклітинними каркасними, закріплюючими та сигнальними молекулами, пов'язаними з постсинаптичною щільністю [318].

Передача сигналів через NMDA-рецептори пов'язана з різноманітною мозковою діяльністю, зокрема навчанням і пам'яттю [27, 338], і її зміна призводить до важких неврологічних і психіатричних станів, починаючи від нервового розвитку та нейродегенеративних розладів до шизофренії, розладів настрою та залежності від наркотиків [269; 344], що підтверджено дослідженнями на тваринах. В останні роки активно досліджувалась роль NMDA-рецепторів у патофізіології нейропсихіатричних станів, показуючи, що специфічні однонуклеотидні поліморфізми (SNP) субодиниць рецепторів NMDA впливають на ризик або тяжкість цих розладів. Поліморфізми GRIN1 і GRIN2B, зокрема, були виявлені як пов'язані з інфантильними спазмами [135], розладами нервового розвитку [151], хворобою Альцгеймера [89], хворобою Паркінсона [520], шизофренією [176], obsesивно-компульсивним розладом [20], синдромом дефіциту уваги/гіперактивності та біполярним

розладом [374], що підтверджує широку та важливу роль рецепторів NMDA у функції та дисфункції мозку.

Вважається, що нейрональний N-метил-D-аспартатний рецептор (NMDAR) відіграє значну роль у патофізіології депресії, а також у неврологічних та психічних захворюваннях відповідно [374]. Склад субодиниць може впливати на кілька фізіологічних і фармакологічних характеристик NMDAR [115]. Було виявлено, що специфічні однонуклеотидні поліморфізми (SNP) у генах субодиниць NMDAR можуть впливати на патогенез різних типів розладів настрою. Сучасні дані свідчать про те, що глутамат-опосередкована нейротрансмісія може бути важливою мішенню для гормонів щитоподібної залози [489]. У тварин з гіпотиреозом спостерігається зниження синтезу глутамату з подальшим зниженням вивільнення везикулярного глутамату в СА3-гіпокампі [446]. Виражене зниження вмісту глутамату було також виявлено в гіпокампі пацієнтів з гіпотиреозом [467]. У гризунів гіпотиреоз знижував експресію в гіпокампі мРНК, що кодує субодиницю NR1 рецепторного комплексу N-метил-D-аспартат (NMDA), і поліпшував експресію NR2B [14]. І навпаки, гіпертиреоз вибірково знижує експресію мРНК NR2B у дорсальному гіпокампі [311].

Рецептори N-метил-d-аспартату (NMDA) відіграють вирішальну роль в опосередкованій глутаматом синаптичній передачі та пластичності та беруть участь у різноманітних функціях мозку. Специфічні однонуклеотидні поліморфізми (SNP) у генах, що кодують субодиниці рецептора NMDA, були пов'язані з деякими нейропсихіатричними розладами, що включають змінену передачу глутамату, але як ці поліморфізми впливають на синаптичну функцію у людей, невідомо.

Тільки кілька досліджень зосередили свою увагу на GRIN1 rs4880213 і патофізіології захворювань людини, викликаних ним. Однак у двох дослідженнях повідомлялося, що пацієнти з варіацією *C/C GRIN1* rs4880213 демонстрували досить серйозну інвалідність і знижену NMDAR-опосередковану кортикальну відповідь, ніж пацієнти з варіаціями *C/T* або *T/T*

[437, 520]. Крім того, варіанти в гені субодиниці NMDAR 2B (GRIN2B) були пов'язані з шизофренією, психічними захворюваннями та пластичністю мозку [12, 539]. Деякі дослідження продемонстрували значну поширеність антитіл до N-кінцевих субодиниць глутаматного рецептора (GluR) типу N-метил-D-аспартату (NMDA) (GluN1-NT і GluN2B-NT2) серед суб'єктів, які страждають психічними розладами з антитиреоїдними антитілами [441].

Всі NMDAR, ймовірно, функціонують як гетеромерні частини, що включають кілька субодиниць NR1 і не менше одного типу NR2 [394]. Дослідники шляхом *in situ* гібридизації виявили, що мРНК субодиниць NMDAR розподіляються по всьому мозку, і схеми експресії таких мРНК змінюються в процесі розвитку [371]. Випадків деструктивної поведінки і депресії було помітно менше у суб'єктів, у яких був генотип *T/T* GRIN1 (SNP rs4880213), ніж у пацієнтів двох інших груп. Франческо і співавт. [171] стверджують, що генотип *T/T* SNP GRIN1 rs4880213 пов'язаний зі зниженням внутрішньокоркового гальмування, підвищенням глутаматергічного збудження і посиленням функції глутамату NMDAR.

Россі та ін [437] також виявили, що алель *C* rs4880213 пов'язаний зі зниженням NMDAR-опосередкованої кортикальної збудливості. Примітно, що в деяких даних повідомлялося про дисфункцію NMDAR, яка пов'язана з синдромом депресії [188].

Один з механізмів зв'язку між NMDA-рецепторами і неврологічними ускладненнями гіпотиреозу може бути реалізований через метаболізм кінуреніну. Метаболізм незамінних амінокислот, L-триптофану, по кінуреніновому шляху дає деякі нейроактивні сполуки, які включають нейротекторну кінуренову кислоту і нейротоксичні 3-гідрокскінуренін і хінолінову кислоту [39]. Кінуренова кислота має специфічні біологічні властивості. Це добре виражений ендogenous антагоніст глутаматергічних рецепторів зі значно високою спорідненістю до гліцинової ділянки рецепторного комплексу NMDA, антагоніст  $\alpha 7$ -нікотинових рецепторів і ліганд арильних вуглеводневих рецепторів, а також рецепторів GPR35 [496].



Фізіологічно недостатні концентрації кінуренової кислоти можуть змінювати вивільнення глутамату, що проявляється в смугастому тілі або гіпокампі щурів [423]. Синтез кінуренової кислоти відбувається на периферії і в головному мозку шляхом незворотного переамінування L-кінуреніну, що каталізується кінуренінамінотрансферазами (КАТs I-III). Приблизно 75 % кінуренової кислоти синтезується в мозку *in situ* астроцитарною КАТ II. Різні шляхи передачі сигналів, пов'язані з клітинною відповіддю на стрес, запальними процесами, пошкодженнями та деякими фармакологічними агентами, можуть модулювати утворення кінуренової кислоти [417]. Дослідження, проведені на людях і тваринах, надали неспростовні докази того, що дефіцит кінуренової кислоти може викликати втрату нейронів [538]. З іншого боку, підвищений вміст кінуренової кислоти в мозку може викликати когнітивні порушення внаслідок зниження передачі сигналів через NMDA і  $\alpha 7$ -нікотинові рецептори, які мають велике значення для навчання і пам'яті [294].

1.4 Роль дефіциту вітаміну D у виникненні та розвитку автоімунних захворювань щитоподібної залози та супутніх психоневрологічних розладів

Дефіцит вітаміну D є глобальною проблемою охорони здоров'я. Зокрема, приблизно 1 мільярд людей по всьому світу мають недостатні рівні вітаміну D в організмі [413, 416]. Дефіцит вітаміну D пов'язаний з ризиком розвитку ряду захворювань, таких як остеопороз, рак, цукровий діабет, хвороби серця, автоімунні захворювання, респіраторні захворювання та різні форми раку [66, 413]. Незважаючи на важливу функцію вітаміну D у метаболізмі кальцію та його роль у проліферації, диференціюванні та імуномодуляції, є докази й того, що вітамін D відіграє також значну роль у фізіології нервової системи [55, 212, 510]. Крім того, зростаюча кількість даних також свідчить про взаємозв'язок між дефіцитом вітаміну D і тиреоїдною патологією [23, 121, 233, 432]. Вітамін D є імуномодулятором,

який відіграє важливу роль у виникненні та прогресуванні АІЗЩЗ [479] Дані досліджень демонструють зв'язок дефіциту вітаміну D з вищою частотою автоімунного тиреоїдиту [57]. Згідно з останніми дослідженнями, було продемонстровано зв'язок між низьким рівнем вітаміну D та автоімунними захворюваннями ЩЗ, такими як тиреоїдит Хашимото [87, 106, 179, 228, 278, 352]. Регресія Кокса показала, що лікування препаратами вітаміну D було незалежним предиктором зниження титру АТПО на 25 % [88]. Сімсек та інші дослідники провели рандомізоване контрольоване дослідження, до якого увійшли 82 пацієнти з АІЗЩЗ. Автори відзначили зниження титрів АТПО та АТТГ на фоні прийому вітаміну D [466]. Інші дослідження показали, що додавання вітаміну D може знижувати титр антитіл, головним чином АТПО [302, 303]. Недавнє обсерваційне дослідження не виявило зв'язку між вітаміном D і ТХ; однак результати показали ймовірне незначне зниження рівня вітаміну D, пов'язане з явним гіпотиреозом [117]. Дослідження типу «випадок-контроль» продемонструвало зниження рівня вітаміну D у пацієнтів із ТХ [342]. Є й інший мета-аналіз, який також вказував на зв'язок дефіциту вітаміну D з автоімунним захворюванням щитоподібної залози [507].

В одному польському пілотному дослідженні, в якому досліджувався статус вітаміну D впродовж літніх місяців у 133 пацієнтів, які отримували L-тироксин, повідомлялося, що недостатній рівень вітаміну D реєстрували навіть влітку [282]. Дані досліджень свідчать, що важкий дефіцит вітаміну D часто супроводжується гіпотиреозом, а рівні 25(OH)D є незалежним показником, що впливає на підвищення рівня АТПО [462].

Дослідження Ботельо та ін. показали, що зниження рівня вТ4 є прогностичним фактором дефіциту вітаміну D у пацієнтів з ТХ. Автори припускають, що ТГ може сприяти регуляції автоімунної функції щитоподібної залози при дефіциті вітаміну D [64]. Інше дослідження виявило позитивну кореляцію між рівнями вТ4 і 25(OH)D, повідомивши, що добавки

вітаміну D або ТГ можуть посилити регуляцію балансу між рівнями вТ4 і 25(OH)D [87].

Когортне дослідження, здійснене Міросеїні та ін., з'ясувало, що значення 25(OH)D у сироватці крові вище 125 нмоль/л були пов'язані зі зниженням ризику гіпотиреозу на 30 % і зниженням ризику підвищення рівня антитіл до щитоподібної залози на 32 % [362]. Пілотне рандомізоване клінічне дослідження, здійснене в 2020 р. Пежешкі та ін., було націлено на вивчення ефективності додаткової терапії вітаміном D при субклінічному гіпотиреозі. Дослідники з'ясували, що додавання добавок з вітаміном D помітно знижує середній рівень ТТГ, що вказує на необхідність скринінгу і терапії вітаміном D в осіб із субклінічним гіпотиреозом [412].

Одне інтервенційне дослідження пацієнтів з АІТ і гіповітамінозом D, які були представниками європеїдної раси з Греції, продемонструвало, наскільки ефективна терапія вітаміном D3 при лікуванні зазначених осіб. 4-місячне лікування, доповнене холекальциферолом, привело до помітного зниження (на 20,3 %) рівня антитіл до АТПО в сироватці крові [351]. Інше дослідження додатково вивчало незалежний предиктор зниження аутоантитіл до щитоподібної залози при АІТ, які отримували вітамін D [88].

В іншому дослідженні [542] було виявлено, що концентрація вітаміну D пов'язана з рівнем ТТГ, тобто чим вищий рівень вітаміну D, тим нижчий рівень ТТГ.

Відомо, що вітамін D бере участь у регуляції декількох найважливіших фізіологічних процесів у ЦНС [189], біосинтезі нейромедіаторів і регуляції нейротрофічних факторів [345]. Різні дослідження показали, що вітамін D має вирішальне значення для нормального розвитку мозку та його функціонування, дефіцит вітаміну D пов'язаний із психоневрологічними розладами [114, 195, 304, 377, 480].

Вітамін D зв'язується з VDR [22, 469]. Взаємодія між VDR і його лігандом, а також чутливими до вітаміну D елементами, виявленими в промоторних ділянках сотень генів-мішеней, регулює експресію понад 500

генів. Ці гени беруть участь у різних фізіологічних функціях, включаючи розвиток мозку, неврологічні функції, запалення, контроль клітинного циклу, імуномодуляцію та апоптоз [469, 535].

Обґрунтування для визначення ролі вітаміну D у захворюваннях нервової системи полягає в тому, що цей гормон може впливати і змінювати різні мозкові процеси, включаючи ефективність зв'язків у деяких нейронних ланцюгах, що беруть участь у пізнанні, пам'яті та емоційній поведінці [56]. Епідеміологічні дослідження наводять все більше доказів того, що дефіцит вітаміну D у дорослому віці пов'язаний з несприятливим впливом на мозок людини [191].

Дефіцит вітаміну D, передусім у літніх людей, може призвести до порушення навчання, пам'яті та когнітивних процесів [7]. Добавка з високими дозами вітаміну D помітно покращує зорову (невербальну) пам'ять у людей з первинним дефіцитом вітаміну D [441]. Роль вітаміну D у пізнанні та пов'язаних з ним процесах і поведінці не є непередбачуваною, оскільки вітамін D діє як потужний антиоксидант, який захищає клітини від окисного пошкодження, зумовленого стресом [455], а також регулює експресію білків та нейротрофічних факторів, що беруть участь у синаптичній пластичності та виживанні нейронів [156]. Крім того, вітамін D бере участь у диференціюванні клітин [189], біосинтезі нейромедіаторів [345] та регуляції внутрішньоклітинного кальцію [169]. Специфічна роль вітаміну D у патофізіології когнітивних порушень у пацієнтів з ТХ досі не з'ясована. Ймовірним поясненням є вплив вітаміну D на запальні цитокіни. Більш ранні дослідження описали підвищену продукцію цитокінів, яка включає інтерлейкін-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інтерлейкін-6 (IL-6), моноцитарний хемоаттрактантний білок-1 (MCP-1) і фактор некрозу пухлин-альфа (TNF- $\alpha$ ), у пацієнтів з ТХ [359, 481]. Вітамін D бере участь у модуляції секреції цитокінів, включаючи TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  і MCP-1 [163]. Різні дослідження підтверджують ідею про те, що запалення, яке характеризується підвищеним

рівнем цитокінів, відіграє вирішальну роль у патогенезі когнітивних порушень [484].

За останні два десятиліття було виявлено достовірні дані про те, що гормон модулює транскрипцію сотень генів, контролюючи розвиток і роботу мозку в дорослому віці та імунну відповідь [460]. Слід зазначити, що дослідження на тваринних моделях показують, що вітамін D сприяє синаптичній пластичності, нейропротекції та фізіології дофамінергічної системи, а також зв'язності нейронних ланцюгів [408]. Крім того, низькі рівні вітаміну D у сироватці крові були виявлені у пацієнтів з нейродегенеративними, нейрозапальними та нейропсихологічними захворюваннями [339].

Ферменти, залучені у біосинтез і метаболізм вітаміну D, а також VDR, широко експресуються як в ембріональному, так і в дорослому мозку [165]. Різноманітні дані вказують на те, що вітамін D регулює експресію багатьох білків, які беруть участь у синаптичній пластичності, підтримці цитоскелету (нейрофіламент, тубулін, асоційований з мікротрубочками білок-2 (MAP2) і молекулярний транспорт клітинних органел (креатинкіназа b, кінезин, RhoA, динактин) [165].

Дослідження *in vitro* показують, що вітамін D бере участь у диференціюванні дофамінергічних нейронів, що впливає на експресію ключового ферменту шляху виробництва дофаміну, такого як тирозингідроксилаза та катехол-О-метилтрансфераза [408]. Дослідження *in vivo* підтвердили, що дефіцит вітаміну D змінює передачу сигналів дофаміну [408].

Відомо, що вітамін D сприяє нейропротекції через прямі та непрямі механізми. Він запобігає ексайтотоксичному пошкодженню, крім того, вітамін D має протизапальну дію в мозку, зменшуючи вироблення прозапальних цитокінів активованою мікроглією та пригнічуючи індукований синтез оксиду азоту.

Рецептори вітаміну D (VDR) є в головному мозку в гіпокампі, префронтальній корі, гіпоталамусі, поясній звивині, чорній субстанції та таламусі [157, 186], які є життєво важливими ділянками мозку для емоційних, а також когнітивних функцій, таких як складне планування, обробка та формування нових спогадів, емоційних функцій [307]. Вітамін D також впливає на виробництво різних нейромедіаторів, таких як ацетилхолін, дофамін і серотонін [345]. Численні дослідження підтверджують зв'язок між низькими рівнями вітаміну D у сироватці крові та когнітивними порушеннями, особливо у літніх людей [7, 339, 488].

Вітамін D регулює розвиток мозку в ранньому віці і сприяє синаптичній пластичності, нейропротекції, нейронним схемам та обороту дофамінергічної системи у дорослих [56]. У пацієнтів з нейродегенеративними (хвороба Альцгеймера та Паркінсона), нейрозапальними та нейропсихологічними захворюваннями відзначалось зниження рівня кальцидіолу в сироватці крові [119, 190, 339, 414, 415].

Вплив вітаміну D на нейрокогнітивні функції базується на кількох механізмах, включаючи індукцію нейропротекції, модуляцію окисидантного стресу, регуляцію кальцієвого гомеостазу та пригнічення запальних процесів [56].

Присутність VDR у гіпокампі, корі головного мозку та лімбічній системі посилює роль вітаміну D у регуляції навчання та пам'яті, однак VDR також локалізується в нюховій, зоровій та слуховій системах, тому він також може відігравати роль у соматосенсорних функціях, що може сприяти кращому виконанню когнітивних завдань [306].

Нейрони та гліальні клітини, зокрема у скроневої, поясній та орбітальній корі, а також у таламусі та мигдалині експресують VDR та 1 $\alpha$ -гідроксилазу [158]. Розподіл VDR і 1 $\alpha$ -гідроксилази також було досліджено в мозку дорослої людини, і воно подібне до того, що виявлено у щурів [158].

Різноманітний розподіл VDR у мозку свідчить про те, що вітамін D може брати участь у проліферації нейронів і диференціації стовбурових

клітин. Було продемонстровано, що дефіцит вітаміну D у розвитку впливає на експресію генів, що регулюють апоптоз, і клітинний цикл у ембріонів щурів [283]. У недавньому дослідженні на молодих щурах було показано нейропротекторну дію холекальциферолу [440].

На молекулярному рівні було доведено, що дефіцит вітаміну D впливає на експресію генів мозку. Виявлено змінену експресію 74 генів, які беруть участь у різних функціях нейронів [156].

Все більше досліджень пов'язують депресію з дефіцитом вітаміну D [44, 285, 442]. Оскільки існує теорія про те, що вітамін D відіграє роль у експресії генів, він регулює рівень рецепторів серотоніну (5-HT), дофаміну (DA) та норадреналіну (НА) у мозку, а низький рівень вітаміну D призводить до зниження цих нейромедіаторів, що призводить до депресії [122, 402, 404].

На обмін серотоніну також може впливати регуляція експресії генів триптофангідроксилази-2 та лептину [403]. Було виявлено, що після короточасного впливу кальцитріолу експресія триптофангідроксилази-2 зросла в культивованому серотонінергічному В14, отриманому з мозку щурів [268]. Те саме дослідження показало, що кілька людських клітинних ліній відповіли на лікування кальцитріолом подібним чином [268]. Крім того, Цзян та ін. здійснили комплексне дослідження, щоб надати прямі докази вищезазначених зв'язків між кальцитріол-допаміном і кальцитріол-серотоніном у мозку [234].

Згідно з дослідженнями, вітамін D є нейроактивним стероїдом, який відіграє важливу роль у регуляції та нейроімуномодуляції нейромедіаторів, виробляючи антиоксиданти та різноманітні нейротрофічні фактори, що демонструє зв'язок між депресією та вітаміном D [186, 201]. Численні дослідження показали, що вітамін D є потужним регулятором вироблення нейротрофічних речовин, таких як BDNF, NT-3 і NGF [186]. Різноманітні дослідження показали, що 1,25(OH)<sub>2</sub>D може посилювати вироблення BDNF, NGF і NT-3 і знижувати регуляцію NT-4 в астроцитах мозку, вказуючи на те, що вітамін D відіграє важливу роль у виживанні та диференціації нейронів

під час розвитку [47, 523]. У дорослому гіпокампі BDNF має вирішальне значення для довгострокової життєздатності, спеціалізації та продуктивності нових нейронів [186]. NT-3 і NT-4 необхідні для виживання зростаючих нейронів і для диференціації та проліферації клітин-попередників, тим самим прямо чи опосередковано впливаючи на причину депресії [186]. Вітамін D може впливати на нейротрофічні фактори, аномальна робота яких пов'язана з різними психіатричними розладами [186]. Згідно з класичною гіпотезою моноамінної нейротрансмісії, дефіцит моноамінів, таких як 5-НТ, DA і НА, може викликати депресію [186].

З іншого боку, дефіцит вітаміну D може перешкоджати синтезу 5-НТ, що призводить до аномального розвитку серотонінергічних нейронів і нейронів мозку [186]. 5-НТ також функціонує в гіпокампі, де виробництво нових нейронів і синаптична пластичність пов'язані з виникненням і лікуванням депресії [186]. VDR виявлено в дофамінергічних нейронах у чорній субстанції, префронтальній корі та гіпокампі людей і щурів, усі з яких пов'язані з депресією [230]. Дефіцит вітаміну D може спричинити затримку диференціації клітин DA через його вплив на експресію VDR у чорній субстанції, що може призвести до опосередкованого DA поведінкового дефіциту [148]. Це також свідчить про те, що дефіцит вітаміну D може вплинути на розвиток дофамінергічних нейронів і впливати на розвиток депресії [186]. Таким чином, вітамін D прямо чи опосередковано впливає на рівень моноамінів в організмі та бере участь у патогенезі депресії.

Вітамін D<sub>3</sub> регулює кілька біологічних процесів, включаючи апоптотичну загибель клітин [440]. Антиапоптотична дія вітаміну D на експериментальних моделях ішемічно-реперфузійного пошкодження була продемонстрована зниженням експресії каспази [113]. Згідно з дослідженням [440], вітамін D може мати нейропротекторні властивості. Білки з родини Bcl-2 також контролюють апоптоз. Цей клас включає проапоптотичні білки, такі як Вах, і антиапоптотичні білки [224]. Згідно з результатами дослідження, лікування вітаміном D зменшувало апоптоз у моноклеарних



клітинах периферичної крові пацієнтів із системним червоним вовчаком, збільшувало вміст ДНК у G0/G1, знижувало експресію FasL і Bax і збільшувало експресію Bcl-2 [483]. Недавні дослідження показали, що зупинка клітинного циклу G1 регулює антиапоптотичні та антипроліферативні ефекти вітаміну D. [483]. Згідно з Chen S. і співавт., вітамін D має антипроліферативну дію на розвиток В-клітин і утворення автоантитіл [95]. Численні дослідження *in vitro* показали, що вітамін D має нейропротекторні властивості в ділянці гіпокампа [238]. Вітамін D сприяє нейропротекції за допомогою декількох механізмів. Він запобігає ексайтотоксичному пошкодженню в результаті раптового збільшення рівня цитоплазматичного  $Ca^{2+}$ , посилює регуляцію синтезу парвальбуміну та кальбіндину та знижує регуляцію потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу [71]. Гормон має протизапальну дію, пригнічує індукований синтез оксиду азоту і підвищує вміст  $\gamma$ -глутамілтранспептидази в глутатіонових шляхах, зменшуючи окисне навантаження на нейрони і мікроглії [184]. Вважається, що вітамін D сприяє з'єднанню ланцюга вентральної тегментальної ділянки прилягаючого ядра префронтальної кори головного мозку та еферентного зв'язку чорної речовини зі смугастим тілом, які є дофамінергічними нейронними ланцюгами, що беруть участь у руховій поведінці [340]. Крім того, висловлено припущення про вплив вітаміну D на нейрокогнітивні функції щодо поширеності VDR та  $1\alpha$ -гідроксилази в ділянках мозку, які беруть участь у когнітивних процесах, таких як складне планування та формування нових спогадів [307].

Моніторинг рівня вітаміну D важливий, особливо у пацієнтів з АІТ і гіпотиреозом. Ураховуючи його нейропротекторні властивості, деякі автори стверджують, що препарати вітаміну D є простим, недорогим і ефективним способом профілактики та лікування когнітивних порушень [210].

Отже, на даний час залишається низка відкритих питань щодо виникнення психоневрологічних ускладнень при патології ЩЗ. Недостатньо дослідженими залишаються наближені і віддалені прогнози щодо

виникнення когнітивних порушень, депресії та тривожних розладів на фоні тиреоїдної патології та їх наслідків, що потребує подальшого вивчення.

Малодослідженою також виявилася цінність генетичних чинників (генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)) у ранній діагностиці психоневрологічних ускладнень, їх впливу на перебіг недуги, що зумовлено низкою додаткових супутніх чинників, а, тому, потребує подальших наукових розробок. В Україні вивчення вище зазначеної комбінації чотирьох генів за патології ЩЗ на момент початку даного дослідження не проводилось, що безумовно є важливим для розуміння молекулярно-генетичних механізмів і закономірностей розвитку даної патології в популяції і вимагає більш розширеного вивчення.

Також не проводився аналіз експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в крові пацієнтів із тиреоїдною патологією та вивчення ролі нейротрофічних факторів, зокрема *BDNF*, у виникненні когнітивних порушень, депресії та тривожних розладів у пацієнтів з порушенням функції ЩЗ. Недостатньо вивчений вплив вітаміну D у лікуванні психоневрологічних порушень у хворих на автоімунний тиреоїдит і гіпотиреоз з метою попередження прогресування цієї патології.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Матеріали дослідження: клінічна характеристика обстежених

Хворих для дослідження набирали на базі Чернівецького обласного ендокринологічного центру з вересня 2017 по серпень 2020 р. При виконанні роботи керувалися загальними положеннями про порядок клінічних випробовувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробовувань відповідно до статей 7 і 8 Закону України «Про лікарські засоби» з урахуванням вимог Директиви 2001/20/ЄС Європейського Парламенту та Ради ЄС, ІСН GCP, Гельсінської декларації «Рекомендації для лікарів із проведення біомедичних досліджень із залученням людини» (1975), Ванкуверської конвенції (1979, 1994) про біомедичні експерименти, Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2000), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Виконане дослідження є проспективним когортним клінічним дослідженням на кшталт «випадок-контроль».

Протокол дослідження включав наступні етапи: скринінг пацієнтів (відповідність критеріям включення і виключення); визначення клінічних, лабораторних та інструментальних показників; генетичні дослідження; статистичний аналіз отриманих даних.

У дослідженні взяли участь 480 осіб, серед них 355 пацієнтів з патологією щитоподібної залози та 125 людей контрольної групи. При діагностиці гіпотиреозу керувалися рекомендаціями Американської асоціації клінічних ендокринологів 2012 р. та діючими вітчизняними наказами МОЗ України. При верифікації АІТ враховували відповідні клінічні особливості, результати УЗД щитоподібної залози (знижена ехогенність) і виявлені

циркулюючі антитіла до тиреоїдних антигенів, АТПО і АТТГ [182]. Етап скринінгу пройшли 335 хворих з патологією щитоподібної залози із наступним підписанням інформованої згоди на участь у дослідженні. Таким чином, у дослідження увійшло 460 осіб (335 хворих з тиреоїдною патологією та 125 людей контрольної групи).

Критерії виключення: вік до 18 років, вагітність, злякисні новоутворення, ревматичні захворювання, цукровий діабет, хворі на автоімунні гепатити, вірусні гепатити, цирози печінки, неалкогольну жирову хворобу печінки, гострі порушення кровообігу (гострий коронарний синдром, мозкові інсульти), загострення ішемічної хвороби серця, бронхіальну астму, хронічні обструктивні захворювання легенів III-IV стадії, муковісцидоз, системні захворювання сполучної тканини в період загострення чи нестійкої ремісії, а також особини із захворюваннями кістково-суглобової системи із явищами деструкції, виражені когнітивні порушення та важкі психічні захворювання, карцинома та аденома ЩЗ, наявність тиреотоксикозу. Особи, які приймали препарати, що могли вплинути на функцію щитоподібної залози, також були виключені з дослідження.

Когорту хворих на тиреоїдну патологію поділили наступним чином:

- за видом: у 1-у групу (n=94) увійшли пацієнти з післяопераційним гіпотиреозом (ПОГ); в 2-у групу (n=135) – пацієнти з гіпотиреозом, зумовленим автоімунним тиреоїдитом (АІТ з Г), а 3-я група (n=106) включала пацієнтів з АІТ з підвищеними рівнями антитіл до тиреоглобуліну (АТТГ) і антитиреоїдної пероксидази (АТПО) у сироватці крові;
- за генотипами і комбінаціями генотипів аналізованих генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213).

Контрольну групу склали 125 практично здорових осіб, зіставних за статтю і віком (середній вік (46,98 ± 8,00) років, p=0,617) з основною групою, які не були в родинних стосунках із хворими та в яких були відсутні критерії

включення та виключення у дослідження. У 1-у групу з ПОГ увійшли пацієнти, оперовані з приводу вузлового нетоксичного зобу.

Аналіз соціального статусу обстежених засвідчив, що ПОГ та АІТ з ГТ частіше розвивався в соціально активних, працюючих осіб, що вказує на соціально-економічне значення цієї патології. Необхідно зауважити, що за гендерним розподілом хворих на тиреоїдну патологію та практично здорових осіб у дослідження включені були жінки.

Дизайн дослідження представлений на рисунку 2.1.

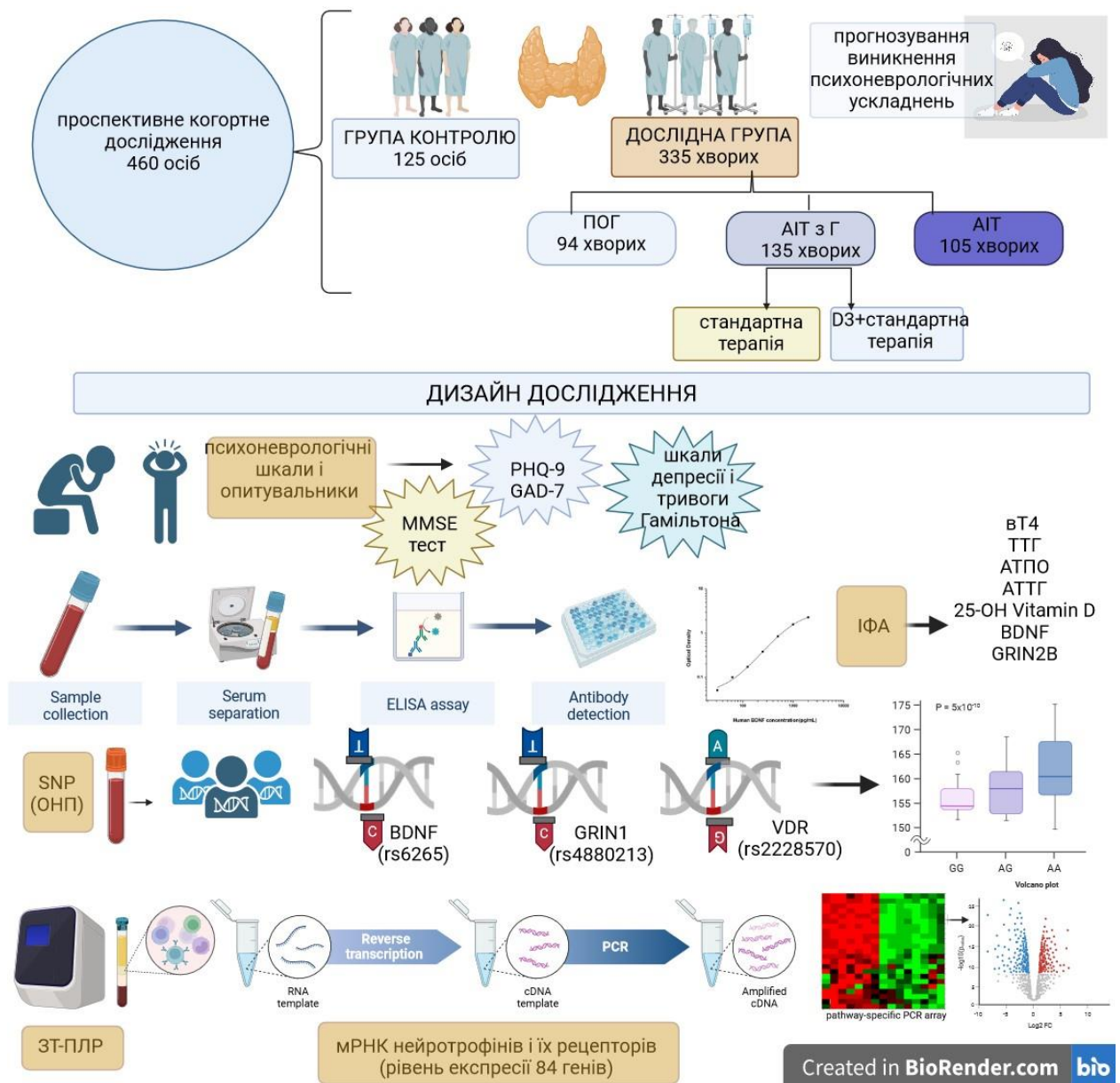


Рисунок 2.1 – Дизайн дослідження

У подальшому 56 пацієнтів з гіпотиреозом, спричиненим АІТ, були розділені на дві групи. Хворі першої групи (n=28) отримували холекальциферол у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) та L-тироксин (75-100 мкг/добу). Пацієнтам другої групи (n=28) призначали лише L-тироксин (75-100 мкг/добу). Обстеження здійснювали на початку та наприкінці 12-тижневого курсу лікування.

Комісія з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 73 від 3 квітня 2023 р.) встановила, що дослідження не суперечать загально-прийнятим біоетичним нормам, проведені з дотриманням відповідних міжнародних положень стосовно експериментальних досліджень.

## 2.2 Методи досліджень

Обстежуваним виконали комплекс досліджень: клінічні (неврологічне обстеження та психоневрологічні опитувальники та шкали), імуноферментні (вТ4, ТТГ, АТПО, АТТГ, BDNF, GRIN2B, 25(OH)D); молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція для визначення алельного поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) і транскриптому 84 генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу); статистично-аналітичні.

### 2.2.1 Клініко-неврологічне обстеження та опитувальники психоневрологічного стану

У всіх обстежених проводили дослідження неврологічного статусу. Для оцінки наявності депресії у пацієнтів використовували PHQ-2 (Patient Health Questionnaire). Після ствердних відповідей принаймні на одне запитання PHQ-2 було проведено подальше дослідження за допомогою опитувальника PHQ-9 (Опитувальник здоров'я пацієнта – PHQ-9) [300]. Скринінгова шкала

PHQ-9 складається з дев'яти запитань із чотирма варіантами відповідей: ніколи, кілька днів, більше половини та майже щодня. Кожній відповіді буде присвоєно оцінку (від 0 до 3), а значення за шкалою буде розраховано як загальний бал. Обстежені можуть бути оцінені від 0 до 27 балів: мінімальна депресія (1–4); легкий ступінь депресії (5–9); депресія помірної тяжкості (10–14); депресія середньої тяжкості (15–19); тяжка депресія (20–27).

Рівні тривожності визначали за скринінговим методом GAD-7 [299]. PHQ-9 і GAD-7 є доказовими інструментами, розробленими на основі методу скринінгу Primary Care Evaluation of Mental Disorders (PRIME-MD) [299, 300]. У перекладі з української анкета складається із семи питань із чотирма варіантами відповідей: ніколи, кілька днів, більше половини часу та майже щодня. Загальна кількість балів за чотири питання становить від 0 до 21 бала. Рівні тривожності визначали за наступними категоріями: 0–4 – мінімальний; 5–9 – помірний; 10–14 – середній; 15–21 – високий.

Виявлення зниження когнітивних функцій здійснювалось за допомогою міні-обстеження психічного стану MMSE тесту, який протягом десятиліть був найчастіше використовуваним інструментом скринінгу [33]. Крім того, ми визначали тяжкість депресії та рівень тривожності, використовуючи шкалу оцінки депресії Гамільтона (HAM-D) [206] і шкалу оцінки тривожності Гамільтона [207]. Згідно з HAM-D, показники 0–7, 8–13, 14–18, 19–23 і 23–53 бали вважаються нормальними, легкими, середніми, тяжкими і дуже тяжкими відповідно [59].

Шкала оцінки тривожності Гамільтона (HAM-A; Hamilton 1959) – одна з найширше використовуваних для оцінки ступеня тривожності в дослідницьких умовах. Згідно з HAM-A, кожен пункт оцінюється за шкалою від 0 (відсутній) до 4 (тяжкий), де 0–6 – симптомів тривоги немає, 7 до 13 – тривожні розлади, 14 до 20 – тривога, 21 до 28 – симптоматична тривога, 29 – пацієнт з вираженим тривожним станом.

### 2.2.2 Імуноферментний аналіз

Для кількісного визначення рівнів вТ4, ТТГ, АТПО, АТТГ, BDNF, GRIN2B, 25(OH)D (ергокальциферолу (D2) + холекальциферолу (D3)) у сироватці крові пацієток і здорових людей використовували імуноферментний аналіз.

Зразки крові пацієнтів і осіб контрольної групи відбирали вранці (з 8.00 до 10.00 ранку) після нічного голодування. Використовуючи аналізатор STAT FAX303/Plus (Awareness Technology Inc, США), визначали рівні тироксину (нормальний діапазон 6,0-13,0 пмоль/л для чоловіків і 7,0-13,5 пмоль/л для жінок), тиреотропного гормону (нормальний діапазон 0,3-4,0 мМО/мл), антитиреоїдної пероксидази (нормальний діапазон 0-30 МО/мл) і антитиреоглобуліну (нормальний діапазон 0-65 МО/мл) у кожної пацієнтки, яка брала участь у дослідженні.

Для кількісного визначення рівнів BDNF у сироватках крові пацієнтів і здорових людей використовували імуноферментний аналіз з використанням високочутливого набору ELISA для визначення BDNF людини (Elabscience®, США, номер за каталогом: E-EL-H0010).

Рівні GRIN2B у сироватках пацієнтів і здорових суб'єктів оцінювали за допомогою імуноферментного аналізу ELISA Kit (Elabscience®, США, номер за каталогом E-EL-H1631), який високочутливий до людського GRIN2B.

При визначенні рівня 25(OH) D (D2+D3) (у сироватці крові пацієнтів і здорових людей застосували імуноферментний аналіз з використанням загальної кількості 25-ОН вітаміну D (Vit D-Direct), тестову систему ELISA Kit (Monobind Inc.®, США, Код товару: 9425-300).

Застосовані набори ІФА використовують принцип Сендвіч-ІФА. Мікропланшетна ІФА була попередньо покрита антитілами, специфічними для людського BDNF або GRIN2B. Загальний принцип полягає в тому, що стандарти або зразки додавали до лунок мікропланшетів ELISA і поєднували із специфічним антитілом. Потім додавали біотинільоване антитіло, специфічне для людського BDNF або GRIN2B та авідину-хрону. Кон'югат



пероксидази хрому (HRP) послідовно додавали до кожного мікропланшету й інкубували. Вільні компоненти відмивали. Розчин субстрату додавали у кожен лунку. Тільки ті лунки, які містять BDNF або GRIN2B людини, виявляли біотинільоване антитіло та кон'югат Avidin-HRP і мали блакитний колір. Реакція фермент-субстрат припинялася додаванням стоп-розчину і колір ставав жовтим. Оптичну щільність (OD) вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі  $(450\pm 2)$  нм. Значення OD пропорційне концентрації BDNF або GRIN2B людини. Концентрацію BDNF або GRIN2B людини у зразках розраховували шляхом порівняння OD зразків зі стандартними кривими (рис. 2.2).

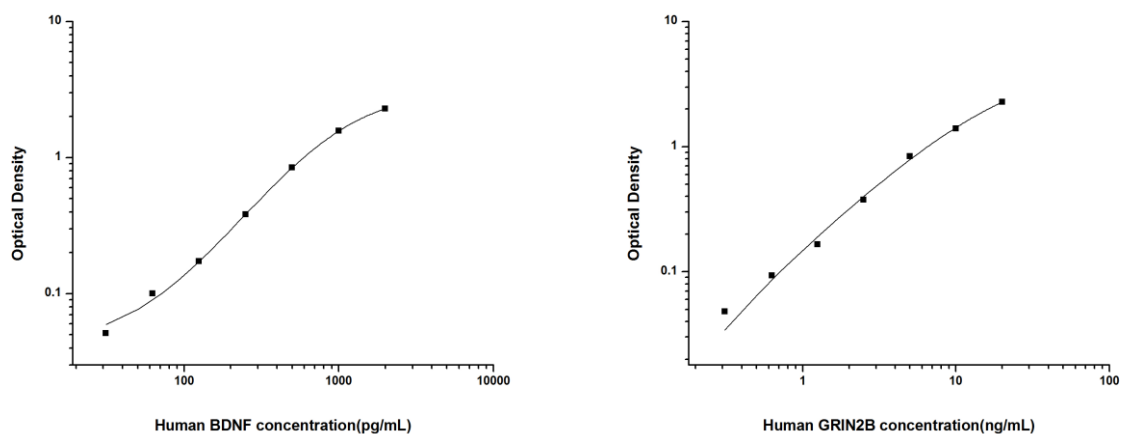


Рисунок 2.2 – Стандартні криві концентрації BDNF і GRIN2B людини

Процедура аналізу складалася з таких етапів:

1. Спочатку промивали мікролункові смужки два рази з використанням мийного буферу з ретельною аспірацією вмісту мікролунки між промиваннями. Тримали мийний буфер у лунках протягом 10–15 с до аспірації. Після останнього етапу промивання опорожнили лунки та методом постукування по мікропланшетних смужках на адсорбувальну поверхню видалили надлишок мийного буферу.

2. Наступним етапом було приготування стандартизованого розведення на планшеті з мікролунками. В усі стандартні лунки додавали по

100 мкл розчинника-зразка в двох екземплярах. Кожну концентрацію розчину додавали в дублікат, по одній лунці поряр (100 мкл на кожную лунку). Накривали плівкою та інкубували протягом 90 хв при 37 °С.

3. Видаляли рідину з кожної лунки, не промивали. Негайно додавали 100 мкл біотинільованого антитіла в кожную лунку. Накривали пластинчастим ущільнювачем. Акуратно перемішували. Інкубували протягом 1 год при 37 °С.

4. Відсмоктували або зливали розчин з кожної лунки, додавали 350 мкл промивного буфера в кожную лунку. Витримували протягом 1–2 хв, аспірували або зливали розчин з кожної лунки та просушували його до чистого абсорбувального паперу. Повторювали цей крок тричі.

5. Додавали 100 мкл робочого розчину кон'югату HRP у кожную лунку. Накривали пластинчастим ущільнювачем. Інкубували протягом 30 хв при 37 °С.

6. Відсмоктували або переливали розчин з кожної лунки, повторювали процес промивання п'ять разів, як це було зроблено на кроці 4.

7. Додавали 90 мкл субстратного реагенту в кожную лунку. Накривали новим ущільнювачем для плашок. Інкубували приблизно 15 хв при 37 °С.

8. Додавали 50 мкл стоп-розчину в кожную лунку.

9. Визначали оптичну щільність (величину OD) кожної лунки. Розраховували поглинання кожної мікролунки на спектрофотометрі, використовуючи 450 нм як основну довжину хвилі. Останнім етапом було визначення оптичної щільності зразків і стандартів та оформлення результатів дослідження.

### 2.2.3 Визначення рівня мРНК у крові

Використовували комерційні експресійні ПЛР-мікроплашки (Neurotrophins and Receptors RT2 Profiler PCR Array, QIAGEN, Німеччина) для ідентифікації експресії генів. Застосовані мікроплашки містять набір

оптимізованих праймерів для к-ЗТ-ПЛР (кількісна ЗТ-ПЛР) у 96-лунковій підложці, а саме – до 84 генів із різних сигнальних шляхів, які пов’язані з нейротрофінами та їх рецепторами, нейрогенезом, передачею нервових імпульсів та інших, 5 референс-генів, за якими здійснюють нормалізацію експресії, а також контролю.

Дослідження складалося з 3 етапів.

1. *Виділення тотальної РНК*

Тотальну РНК виділяли з моноклеарних клітин периферичної крові за допомогою NucleoZOL (Macherey-Nagel, Німеччина) згідно з інструкціями виробника. NucleoZOL призначений для виділення тотальної РНК (малої та великої РНК) у вигляді окремої фракції або окремих фракцій із різноманітних зразків матеріалів, таких як клітини, тканини та рідини людського чи тваринного походження. Одним із найважливіших факторів під час виділення РНК є запобігання деградації. Клітини і тканини лізували і гомогенізували в реактиві NucleoZOL на основі тіоціанат гуанідинію і фенолу.

Виділення тотальної РНК складалося з наступних етапів:

1) *осадження забруднювальних речовин.* Додавали 400 мкл води/мл NucleoZol до лізату. Енергійно змішували протягом 15 с та інкубували 5–15 хв при кімнатній температурі. Центрифугували протягом 15 хв при 12000 об/хв;

2) *осадження тотальної РНК.* Переносили супернатант у еппендорф. Додавали 1 мл 100 % розчину ізопропанолу/мл надосадової рідини. Інкубували протягом 10 хв при кімнатній температурі. Центрифугували протягом 10 хв при 12000 об/хв. Видаляли надосадову рідину;

3) *промивання тотальної РНК.* Додавали 500 мкл 75 % етанолу до осаду. Центрифугували протягом 1–3 хв при 4000–8000 об/хв і видаляли надосадову рідину. Знову промивання. Не просушували еппендорфи;

4) *розведення РНК*. Додавали відповідний об'єм води для відновлення загальної РНК приблизно 1 мкг/мкл. Розчиняли РНК у еппендорфах шляхом струшування на вортексі при кімнатній температурі протягом 2–5 хв.

## 2. *Зворотна транскрипція і отримання комплементарної ДНК (кДНК)*

Якість РНК визначали за допомогою спектрофотометра та здійснювали зворотну транскрипцію за допомогою набору для конверсії кДНК RT<sup>2</sup> First Strand Kit (QIAGEN, Німеччина, кат. № 330401). Процедура RT<sup>2</sup> HT First Strand Kit включала 2 етапи: усунення забруднення геномної ДНК і зворотну транскрипцію, що дозволяє швидко й легко обробляти 96 зразків РНК одночасно.

Після елімінації геномної ДНК зразок РНК був готовий до зворотної транскрипції за допомогою основної суміші RT, яка включала кожен компонент для синтезу кДНК першого ланцюга. Випадкові гексамери та оліго-dT праймують зворотну транскрипцію і захоплюють гени, які важко виявити. Зворотна транскриптаза MMLV, оптимізована концентрація магнію та інші компоненти буфера максимізували вихід продукту кДНК.

Протокол зворотної транскрипції складався з таких етапів:

1) виймали пробірки з буфером GE2 і сумішшю зворотної транскриптази BC4 зі зберіганням при температурі -20 °C і розморожували їх на льоду;

2) ненадовго відцентрифугували пробірки після розморожування. Тримали пробірки на льоду, поки вони не будуть використані;

3) переносили 750 мкл буфера GE2 в один із 5 мл резервуарів для реагентів, що входять до комплекту. Для досягнення найкращих результатів використовували піпетку, щоб перенести буфер GE2 у резервуар для реагенту. Не зливали буфер GE2 з пробірки в резервуар;

4) додавали піпеткою 6 мкл буфера GE2 з резервуара для реагентів у кожну лунку порожнього 96-лункового планшета;

5) додавали 8 мкл зразка РНК до кожної лунки за допомогою піпетки та перемішували піпеткою вгору та вниз. Повністю заклеювали пластину герметизуючою плівкою з фольги;

6) центрифугували планшет при  $1000\times g$  протягом 1 хв;

7) інкубували планшет із компресійним килимком зверху при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 5 хв у термоциклері (або при кімнатній температурі протягом 10 хв);

8) обережно знімали фольгу;

9) переносили 750 мкл розчину BC4 (RT Master Mix) в інший резервуар для реагентів на 5 мл, який входить до комплекту. Для досягнення найкращих результатів використовували піпетку, щоб перенести розчин BC4 у резервуар для реагенту. Не зливали розчин BC4 із пробірки в резервуар;

10) далі переносили 6 мкл суміші зворотної транскриптази BC4 з резервуара для реагентів у кожну лунку 96-лункового планшета та перемішували піпеткою вгору та вниз. Повністю заклеювали пластину новим шматком фольгової плівки;

11) центрифугували планшет при  $1000\times g$  протягом 1 хв;

12) виконували зворотну транскрипцію:

а) налаштували програму на  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$  15 хв,  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  5 хв,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  утримували;

б) поміщали пластину в термоциклер із багаторазовим компресійним килимком поверх пластини;

в) закривали кришку термоциклера та запускали програму.

13) зберігали чашку з готовою реакцією на льоду до готовності до використання для ПЛР у реальному часі або при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  для тривалого зберігання.

### 3. Ампліфікація

кДНК використовували в масиві RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array (QIAGEN, кат. № PAHS-031Z) у поєднанні з RT<sup>2</sup> SYBR® Green qPCR Mastermix (QIAGEN, кат. № 330504). Значення СТ були експортовані у файл Excel для створення таблиці значень СТ. Потім цю таблицю було завантажено на веб-портал

аналізу даних за адресою <http://www.qiagen.com/geneglobe>. Зразки були розділені на контрольну та дослідну групи. Значення СТ були нормалізовані на основі автоматичного вибору з повної панелі еталонних генів.

Повна процедура RT2 Profiler PCR Array [[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)] (рис.2.3).

Протокол ампліфікації включав наступні кроки:

1) коротко відцентрифугували суміш RT2 SYBR Green Mastermix (10–15 с), щоб вміст пробірки опустився на дно. Оскільки RT2 SYBR Green Mastermix містить HotStart DNA Taq Polymerase, яка активна лише після теплової активації, реакції можна готувати при кімнатній температурі (15–25 °C);

2) готували суміш компонентів для ПЛР у пробірці об'ємом 5 мл або завантажувальному резервуарі залежно від формату ПЛР-матриці RT2 Profiler;

3) розподіляли суміш компонентів ПЛР у масив ПЛР RT2 Profiler залежно від формату масиву ПЛР RT2 Profiler, як описано нижче.

– Обережно виймали ПЛР-матрицю RT2 Profiler із герметичної упаковки;

– Додавали 25 мкл суміші компонентів для ПЛР у кожен лунку RT2 Profiler PCR Array за допомогою 8-канального або 12-канального дозатора, використовуючи лише 8 наконечників.

– Далі переходили до кроку 4;

4) обережно, щільно заклеювали ПЛР-матрицю RT2 Profiler за допомогою оптичних тонкостінних смужок із 8 кришками (формати А та D) або оптичної клейкої плівки (формати С, Е, F та G);

5) центрифугували протягом 1 хв при 1000 g при кімнатній температурі (15–25 °C), щоб видалити бульбашки. Візуально оглядали планшет знизу, щоб переконатися, що в лунках немає бульбашок, оскільки їх наявність впливає на результати;

6) поміщали RT2 Profiler PCR Array на лід під час налаштування циклічної програми ПЛР. RT2 Profiler PCR Array, що містить суміш

компонентів ПЛР, можна зберігати при температурі від -15 до -30 °С, загорнувши в алюмінієву фольгу, за бажанням до одного тижня;

7) програмували термоциклер відповідно до таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Умови ампліфікації на Bio-Rad CFX-96

Cycles	Duration	Temperature	Comments
1	10 min	95 °C	HotStart DNA <i>Tag</i> Polymerase is activated by this heating step
40	15 s 1 min	95 °C 60 °C	Perform fluorescence data collection

8) поміщали ПЛР-матрицю RT2 Profiler у термоциклер реального часу;

9) обчислювали пороговий цикл (Ct) для кожної лунки за допомогою програмного забезпечення циклера в реальному часі, як описано в наступних кроках;

10) визначали базову лінію, вибравши параметр автоматичної базової лінії, якщо циклер має функцію адаптивної базової лінії;

11) вручну визначали поріг. Вибирали порогове значення вище фонового сигналу, але в межах нижньої третини, щоб знизити половину лінійної фази графіка посилення;

12) експортували значення Ct для всіх лунок у порожню електронну таблицю Excel® для використання з SABiosciences PCR Array Data Analysis Template Excel або веб-програмним забезпеченням.

Будь-яке значення Ct >35 вважалось негативним значенням. Програмне забезпечення для аналізу даних RT2 Profiler PCR Array розраховувало зміну кратності на основі повсюдно використовуюваного та узгодженого методу  $\Delta\Delta Ct$ , який вперше описано [331]. Веб-портал аналізу даних розраховував зміну/регуляцію кратності за допомогою методу  $\Delta\Delta Ct$ , в якому дельта-Ct обчислюється між геном (GOI) і середнім значенням еталонних генів (HKG), після чого виконували дельта-дельта розрахунки Ct (дельта Ct (дослідна

група)-дельта Ct (контрольна група)). Зміну кратності потім розраховували за допомогою формули 2 (-дельта-дельта Ct). Цей звіт про аналіз даних було експортовано з веб-порталу QIAGEN у GeneGlobe. Програмне забезпечення дозволяло визначити найкращі референсні гени для нормалізації з вказівками та рекомендаціями з рекомендацій, наданих у цій публікації [500].

Загальна схема дослідження представлена на рисунку 2.3.

**1. Isolate RNA from cells, tissues, FFPE and/or blood**



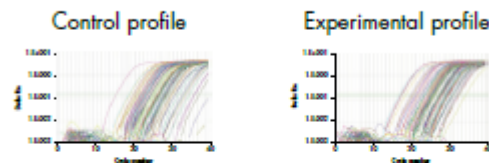
**2. Convert total RNA to cDNA**



**3. Add cDNA to RT<sup>2</sup> SYBR<sup>®</sup> Green Master Mix**  
Aliquot mixture across RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array



**4. Run in your real-time PCR instrument**



**5. Data analysis**

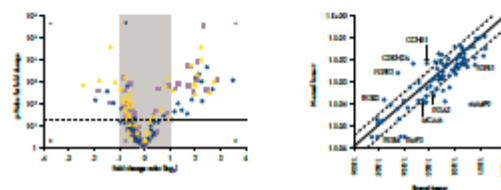


Рисунок 2.3 – Повна процедура RT2 Profiler PCR Array [www.qiagen.com]

Статистичний аналіз даних масиву ПЛР

Програмне забезпечення RT2 Profiler PCR Array Data Analysis розраховувало р-значення за допомогою t-критерію Стьюдента на основі



потрійних значень  $2^{(-\Delta\text{CT})}$  для кожного гена в експериментальній групі порівняно з контрольною. Контроль якості мікрочипів (MAQC) опублікував результати, які вказують на те, що ранжований список генів на основі зміни кратності та такий розрахунок р-значення були достатніми для демонстрації відтворюваних результатів для кількох мікрочипів і масивів ПЛР, включаючи масиви ПЛР RT2 Profiler [461].

Перелік досліджуваних генів представлений в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Перелік генів, які вивчалися

Номер в Unigene	Номер в Refseq	Символ	Назва гена
1	2	3	4
Hs.377783	NM_001118	<i>ADCYAP1R1</i>	Adenylate cyclase activating polypeptide 1 (pituitary) receptor type I
Hs.632404	NM_001136215	<i>ARTN</i>	Artemin
Hs.624291	NM_004324	<i>BAX</i>	BCL2-associated X protein
Hs.150749	NM_000633	<i>BCL2</i>	B-cell CLL/lymphoma 2
Hs.502182	NM_001709	<i>BDNF</i>	Brain-derived neurotrophic factor
Hs.458423	NM_004352	<i>CBLN1</i>	Cerebellin 1 precursor
Hs.129	NM_000730	<i>CCKAR</i>	Cholecystokinin A receptor
Hs.472860	NM_001250	<i>CD40</i>	CD40 molecule, TNF receptor superfamily member 5
Hs.524920	NM_000614	<i>CNTF</i>	Ciliary neurotrophic factor
Hs.129966	NM_001842	<i>CNTRF</i>	Ciliary neurotrophic factor receptor
Hs.75294	NM_000756	<i>CRH</i>	Corticotropin releasing hormone
Hs.115617	NM_001882	<i>CRHBP</i>	Corticotropin releasing hormone binding protein
Hs.417628	NM_004382	<i>CRHR1</i>	Corticotropin releasing hormone receptor 1
Hs.729970	NM_001883	<i>CRHR2</i>	Corticotropin releasing hormone receptor 2
Hs.78913	NM_001337	<i>CX3CR1</i>	Chemokine (C-X3-C motif) receptor 1

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
Hs.593413	NM_003467	<i>CXCR4</i>	Chemokine (C-X-C motif) receptor 4
Hs.667309	NM_000043	<i>FAS</i>	Fas (TNF receptor superfamily, member 6)
Hs.284244	NM_002006	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2 (basic)
Hs.111	NM_002010	<i>FGF9</i>	Fibroblast growth factor 9 (glia-activating factor)
Hs.264887	NM_015850	<i>FGFR1</i>	Fibroblast growth factor receptor 1
Hs.25647	NM_005252	<i>FOS</i>	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
Hs.593446	NM_006654	<i>FRS2</i>	Fibroblast growth factor receptor substrate 2
Hs.194208	NM_006653	<i>FRS3</i>	Fibroblast growth factor receptor substrate 3
Hs.46894	NM_004960	<i>FUS</i>	Fused in sarcoma
Hs.272191	NM_001480	<i>GALR1</i>	Galanin receptor 1
Hs.666366	NM_003857	<i>GALR2</i>	Galanin receptor 2
Hs.248114	NM_000514	<i>GDNF</i>	Glial cell derived neurotrophic factor
Hs.388347	NM_005264	<i>GFRA1</i>	GDNF family receptor alpha 1
Hs.441202	NM_001495	<i>GFRA2</i>	GDNF family receptor alpha 2
Hs.58042	NM_001496	<i>GFRA3</i>	GDNF family receptor alpha 3
Hs.151413	NM_004124	<i>GMFB</i>	Glia maturation factor, beta
Hs.5210	NM_004877	<i>GMFG</i>	Glia maturation factor, gamma
Hs.567282	NM_005314	<i>GRPR</i>	Gastrin-releasing peptide receptor
Hs.158348	NM_001524	<i>HCRT</i>	Hypocretin (orexin) neuropeptide precursor
Hs.520973	NM_001540	<i>HSPB1</i>	Heat shock 27kDa protein 1
Hs.193717	NM_000572	<i>IL10</i>	Interleukin 10
Hs.504035	NM_001558	<i>IL10RA</i>	Interleukin 10 receptor, alpha
Hs.126256	NM_000576	<i>IL1B</i>	Interleukin 1, beta
Hs.701982	NM_000877	<i>IL1R1</i>	Interleukin 1 receptor, type I
Hs.654458	NM_000600	<i>IL6</i>	Interleukin 6 (interferon, beta 2)
Hs.135087	NM_000565	<i>IL6R</i>	Interleukin 6 receptor
Hs.532082	NM_002184	<i>IL6ST</i>	Interleukin 6 signal transducer (gp130, oncostatin M receptor)

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
Hs.2250	NM_002309	<i>LIF</i>	Leukemia inhibitory factor (cholinergic differentiation factor)
Hs.133421	NM_002310	<i>LIFR</i>	Leukemia inhibitory factor receptor alpha
Hs.5258	NM_006986	<i>MAGED1</i>	Melanoma antigen family D, 1
Hs.248144	NM_000529	<i>MC2R</i>	Melanocortin 2 receptor (adrenocorticotrophic hormone)
Hs.649965	NM_002397	<i>MEF2C</i>	Myocyte enhancer factor 2C
Hs.73133	NM_005954	<i>MT3</i>	Metallothionein 3
Hs.202453	NM_002467	<i>MYC</i>	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)
Hs.657172	NM_006157	<i>NELL1</i>	NEL-like 1 (chicken)
Hs.113577	NM_000267	<i>NF1</i>	Neurofibromin 1
Hs.2561	NM_002506	<i>NGF</i>	Nerve growth factor (beta polypeptide)
Hs.415768	NM_002507	<i>NGFR</i>	Nerve growth factor receptor
Hs.448588	NM_014380	<i>NGFRAP1</i>	Nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1
Hs.733076	NM_003717	<i>NPFF</i>	Neuropeptide FF-amide peptide precursor
Hs.99231	NM_053036	<i>NPFFR2</i>	Neuropeptide FF receptor 2
Hs.1832	NM_000905	<i>NPY</i>	Neuropeptide Y
Hs.519057	NM_000909	<i>NPY1R</i>	Neuropeptide Y receptor Y1
Hs.37125	NM_000910	<i>NPY2R</i>	Neuropeptide Y receptor Y2
Hs.7303	NM_022002	<i>NR1I2</i>	Nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2
Hs.453951	NM_013957	<i>NRG1</i>	Neuregulin 1
Hs.408515	NM_013982	<i>NRG2</i>	Neuregulin 2
Hs.732438	NM_138573	<i>NRG4</i>	Neuregulin 4
Hs.99171	NM_002527	<i>NTF3</i>	Neurotrophin 3
Hs.266902	NM_006179	<i>NTF4</i>	Neurotrophin 4
Hs.406293	NM_002529	<i>NTRK1</i>	Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 1
Hs.494312	NM_006180	<i>NTRK2</i>	Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2
Hs.590869	NM_002531	<i>NTSR1</i>	Neurotensin receptor 1 (high affinity)

## Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
Hs.88218	NM_006228	<i>PNOC</i>	Prepronociceptin
Hs.524719	NM_005972	<i>NPY4R</i>	Pancreatic polypeptide receptor 1
Hs.248159	NM_004158	<i>PSPN</i>	Persephin
Hs.2090	NM_000956	<i>PTGER2</i>	Prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2), 53kDa
Hs.642990	NM_007315	<i>STAT1</i>	Signal transducer and activator of transcription 1, 91kDa
Hs.530595	NM_005419	<i>STAT2</i>	Signal transducer and activator of transcription 2, 113kDa
Hs.463059	NM_003150	<i>STAT3</i>	Signal transducer and activator of transcription 3 (acute-phase response factor)
Hs.80642	NM_003151	<i>STAT4</i>	Signal transducer and activator of transcription 4
Hs.633301	NM_001058	<i>TACR1</i>	Tachykinin receptor 1
Hs.518123	NM_006070	<i>TFG</i>	TRK-fused gene
Hs.170009	NM_003236	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha
Hs.645227	NM_000660	<i>TGFB1</i>	Transforming growth factor, beta 1
Hs.437460	NM_000546	<i>TP53</i>	Tumor protein p53
Hs.633653	NM_016157	<i>TRO</i>	Trophinin
Hs.534363	NM_003353	<i>UCN</i>	Urocortin
Hs.587325	NM_003378	<i>VGF</i>	VGF nerve growth factor inducible
Примітка. Номер в Unigene і номер в Refseq – ідентифікатори досліджуваних генів відповідно в базах даних транскриптомів і нуклеотидних послідовностей NCBI (National Center for Biotechnology Information); NM – мПНК в базі Refseq [ <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq</a> ].			

## 2.2.4 Визначення однонуклетидного поліморфізму генів

Для генотипування та визначення асоціацій із захворюваннями ЩЗ однонуклетидного поліморфізму генів (SNP) Brain Derived Neurotrophic Factor, *BDNF* (rs6265), Glutamate Ionotropic Receptor NMDA type subunit 1, *GRIN1* (rs4880213) та Vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D3) receptor (rs2228570) були використані зразки тотальної ДНК людини, що виділялася з цільної крові згідно з інструкцією виробника за допомогою комплекту реагентів «GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit», #K0781

(«Thermo Scientific», USA). Забір цільної периферичної крові здійснювали у вакуумні пластикові пробірки типу Vacuette об'ємом 2,0 або 4,0 мл з доданою як антикоагулянт динатрієвою сіллю етилендіамінтетраацетату (ЕДТА) в кінцевій концентрації 2,0 мг/мл.

Міні-набір GeneJET™ Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit призначений для швидкого та ефективного очищення високоякісної геномної ДНК з цільної крові та пов'язаних рідин організму. В комплекті використовували мембранну технологію на основі кремнезему у формі зручної обертової колонки, що усуває потребу в дорогих смолах, токсичній екстракції фенолом-хлороформом або трудомісткому осадженні спиртом. Стандартна процедура займала менше 20 хв після лізису клітин і давала очищену ДНК розміром понад 30 кб. Виділену ДНК використовували безпосередньо в ПЛР.

**ПРИНЦИП.** Зразки розщеплюють протеїназою К у розчині для лізису, що постачається. Потім лізат змішують з етанолом і завантажують на очисну колонку, де ДНК зв'язується з кремнеземною мембраною. Домішки ефективно видаляються шляхом промивання колонки підготовленими промивними буферами. Потім геномна ДНК елююється в умовах низької іонної сили за допомогою буфера для елюції.

Протокол виділення геномної ДНК складався з таких етапів:

1) додавали 20 мкл розчину протеїнази К до 200 мкл цільної крові, перемішували за допомогою вортексу. Додавали 400 мкл розчину для лізису, ретельно перемішували вортексом або піпеткою, щоб отримати однорідну суспензію;

2) інкубували зразок при 56 °С протягом 10 хв, час від часу перемішуючи його, або використовували струшувальну водяну баню, гойдалку або термоміксер, доки клітини не будуть повністю лізовані;

3) додавали 200 мкл етанолу (96-100 %) і перемішували піпеткою;

4) переносили підготовлену суміш у центрифужну колонку. Центрифугували 1 хв при 6000 g. Викидали збірну трубку, що містить

проточний розчин. Поміщали колонку в нову пробірку для збору на 2 мл (у комплекті);

5) додавали 500 мкл промивного буфера WB I (з додаванням етанолу). Центрифугували 1 хв при 8000 g. Видаляли проточну рідину та поміщали колонку назад у збірну трубку;

6) додавали 500 мкл промивного буфера II (з додаванням етанолу) до колонки. Центрифугували протягом 3 хв на максимальній швидкості ( $\geq 20\,000$  g). Спорожнювали збірну трубку. Поміщали колонку для очищення назад у пробірку та знову закручували колонку протягом 1 хв на максимальній швидкості ( $\geq 20\,000$  g). Викидали пробірку для збору, що містить проточний розчин, і переносили колонку в стерильну мікроцентрифужну пробірку на 1,5 мл (не входить до комплекту);

7) додавали 200 мкл буфера для елюції в центр мембрани колонки, щоб елюювати геномну ДНК. Інкубували 2 хв при кімнатній температурі та центрифугували 1 хв при 8000 g;

8) викидали очисну колонку. Використовували очищену ДНК негайно для подальших застосувань або зберігали при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Генотипування за допомогою TaqMan зондів і TaqMan Genotyping Master Mix (4371355) здійснювали на ампліфікаторі CFX96™Real-Time PCR Detection Systems («Bio-RadLaboratories, Inc.», США). ПЛР для TaqMan генотипування проводили згідно з інструкцією Applied Biosystems, США. Суміш TaqMan Genotyping Master Mix містить: ДНК-полімераза AmpliTaq Gold®, дезоксирибонуклеотид трифосфати (dNTP), референс барвник ROX™, буферні компоненти. Зонди TaqMan® є таргет-специфічними олігонуклеотидами з: репортерними барвниками на 5' кінці кожного зонда (барвник VIC® пов'язаний з 5' кінцем зонда Allele 1, барвник 6FAM™ пов'язаний з 5' кінцем зонда Allele 2), нефлуоресцентного гасія (NFQ) на 3' кінці зонда (рис. 2.4). Кореляція між сигналами флуоресценції побудована на принципі: лише флуоресценція VIC барвника – гомозиготність для алеля 1,

лише флуоресценція 6FAM барвника – гомозиготність для алеля 2, сигнали флуоресценції для обох барвників – гетерозиготність для алеля 1-алеля 2.

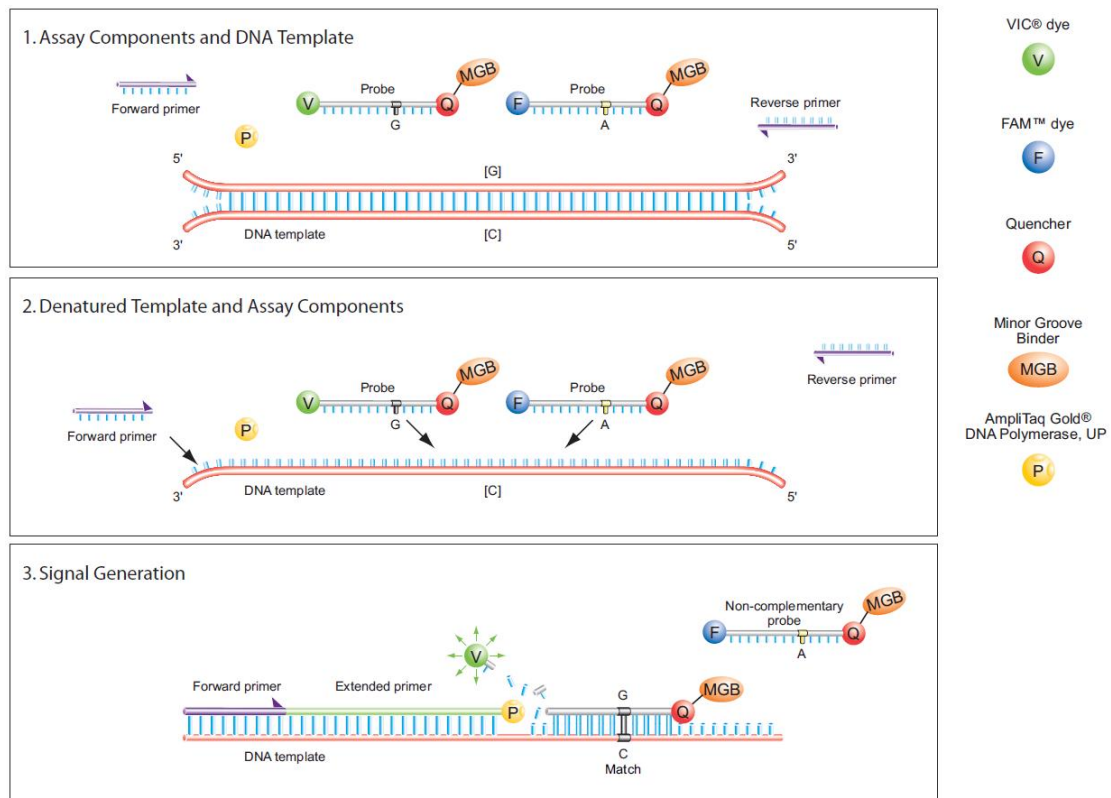


Рисунок 2.4 – Принцип роботи зондів TaqMan®

Ампліфікація геномної ДНК проводилася в реакційній суміші, об'ємом 10 мкл, що включає геномну ДНК, прямий та зворотний праймери, флюоресцентні зонди, TaqMan Genotyping Master Mix. Генотипування досліджуваних зразків здійснювалося з використанням програмного забезпечення CFX-Manager™ методом дискримінації алелів за величинами відносних одиниць флуоресценції (ВОФ), як показано на рисунку 2.5.

### 2.2.5 Статистичні та аналітичні методи досліджень

Комп'ютерний реєстр (базу даних) отриманих показників створювали за допомогою таблиць Microsoft® Excel® 2019 пакету Microsoft Office. Статистичну обробку виконували за допомогою програм для статистичного обчислення Statsoft Statistica v. 10.0 (Stat Soft Inc., USA, version 10.0.1011.0),

Jamovi (version 2.3.7) [<https://www.jamovi.org/>], GraphPad Prism (version 7) [<https://www.graphpad.com/>]. Для графічної візуалізації отриманих даних додатково використовували пакет R (version 4.1.3) [<https://www.r-project.org/>] і JMP® Pro 16.0.0 [[https://www.jmp.com/en\\_us/home.html](https://www.jmp.com/en_us/home.html)].

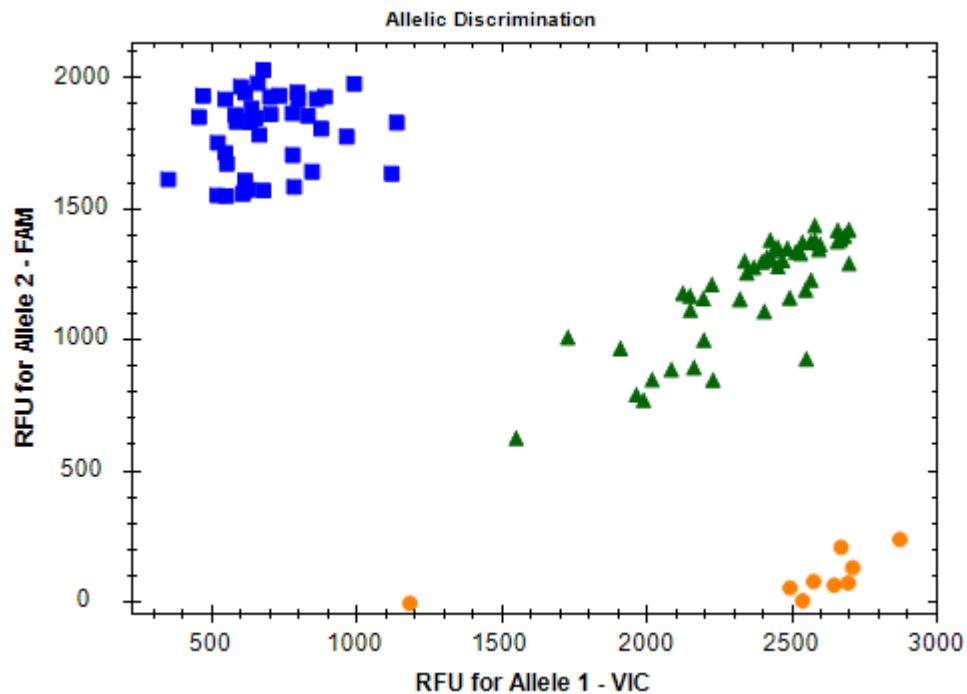


Рисунок 2.5 – Алельна дискримінація за величинами відносних одиниць флуоресценції (ВОФ)

Перевірку закону розподілу вибірок на нормальність здійснювали при кількості варіант до 50 за допомогою критерію Shapiro-Wilk, при кількості варіант більше 50 – за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Достовірність даних вираховували із застосуванням двовибіркового (для незалежних вибірок), чи парного (для залежних) t-критерію *Student* (при розподілі масиву, близького до нормального). За нерівномірного розподілу – U-критерію *Wilcoxon-Mann-Whitney* (для незалежних вибірок). Дані наведені у вигляді  $M \pm m$ .

Побудову прогностичної моделі ймовірності певного результату виконували з допомогою методу логістичної регресії. Мірою визначеності,



що вказує на ту частину дисперсії, яка може бути пояснена за допомогою логістичної регресії, був коефіцієнт  $R^2$  Найджелкерка.

Прогностичну модель, що характеризує залежність кількісної змінної від факторів, представлених кількісними показниками, розробляли за допомогою методу парної чи множинної лінійної регресії.

Для оцінки діагностичної значущості кількісних ознак при прогнозуванні певного результату застосовували метод аналізу ROC-кривих. Роздільне значення кількісної ознаки в точці cut-off визначали за найвищим значенням індексу Юдена.

Достовірність різниці за якісними показниками і відхилення від шкали рівноваги генотипів *Hardy-Weinberg* вираховували за допомогою критерію  $\chi^2$ , за частот менше 5 – точний тест *Fisher*. Характер асоціацій алелей і генотипів генів, що вивчаються, з виникненням і клінічним перебігом захворювань щитоподібної залози оцінювали за допомогою показника відношення шансів (OR). Величина відношення шансів, що перевищує 1 (OR>1), характеризувала поліморфний маркер як ризиковий фактор при формуванні захворювань ЩЗ. При значенні відношення шансів менше 1 (OR<1) генетичний маркер розцінювали як протективний фактор. Щодо шансів, що дорівнює 1 (OR=1), вважали, що генетичний поліморфізм не асоційований з розвитком захворювання.

Зв'язок показників розраховували, послуговуючись біваріантною ранговою кореляцією (r) за *Spearman*, параметричної – за *Pearson*. Різницю вважали вірогідною при  $p < 0,05$ .

Для встановлення ризику розвитку захворювання щитоподібної залози залежно від наявності в пацієнта певного генотипу за допомогою бінарної логістичної регресії розраховували відношення шансів (OR) та 95 % довірчий інтервал (CI) для чотирьох основних моделей успадкування: домінантна (референс – гомозиготи за основним алелем), рецесивна (референс – генотипи з основним алелем), наддомінанта (референс – гомозиготи за

основним та мінорним алелями) та адитивна (гетерозиготи та гомозиготи за мінорним алелем проти гомозигот за основним алелем як референсний генотип).

Релевантність моделей успадкування в кожній окремій підгрупі оцінювали за допомогою інформаційного критерію Акайке, який розраховували з використанням онлайн-ресурсу СНП'Ка [<https://thething.shinyapps.io/SNPcalc/>]. Функціональне значення SNP оцінювали за допомогою веб-інтерфейсу SNPinfo [URL: <https://snpinfo.niehs.nih.gov>]. Пошук локусів кількісних ознак експресії (quantitative trait Loci, eQTL) для SNP здійснювали, використовуючи загальнодоступну базу даних [QTLbase: <http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.html>]. Результати були представлені як номінальні значення  $p$  для кожного SNP.

**РОЗДІЛ 3**

**ГОРМОНАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ, МЕТАБОЛІЧНО-НЕЙРОТРОФІЧНІ  
МАРКЕРИ ТА КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ТИРЕОЇДНОЇ  
ПАТОЛОГІЇ З УРАХУВАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ  
*BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) ТА *NMDA* (rs4880213)**

У структурі ендокринопатій захворювання ЩЗ посідають одне з перших місць, при цьому аутоімунна тиреоїдна патологія трапляється найчастіше. Поширеність явного гіпотиреозу становить приблизно 0,3 % в США та 0,2–5,3 % в Європі [84, 103]. Підвищення інтересу до проблем тиреоїдної патології в Україні за останні роки спричинене її зростаючим поширенням серед дорослого населення [491]. У різних регіонах країни показники поширеності та захворюваності відрізняються залежно від впливу чинників зовнішнього середовища та їх комбінацій. За останні 10 років абсолютна кількість випадків захворювань щитоподібної залози зросла з 689 тис. до 1,846 млн, а показники поширеності становлять відповідно 941,6 і 4210,4 випадків на 100 тис. населення [4, 486].

Захворювання ЩЗ супроводжуються когнітивними порушеннями, розладами уваги та настрою, такими як депресія, які в багатьох випадках вказують на дисфункцію гіпокампа [370]. Як надлишок, так і дефіцит гормонів ЩЗ можуть спричинити депресивні та тривожні розлади. Депресія, у свою чергу, може супроводжуватися різними ступенями дисфункції ЩЗ. Явний гіпотиреоз трапляється в 1–4 % пацієнтів із афективними розладами, тоді як субклінічний гіпотиреоз трапляється в 4–40 % цієї популяції.

Поліморфізм генів, який пов'язують з патологією ендокринної та нервової систем, має певну етнічну та популяційну специфічність, що визначає необхідність їх вивчення в певному регіоні. Деякі питання, пов'язані з асоціацією окремих та комбінованих мутацій генів з захворюваннями щитоподібної залози та нервової системи, залишаються недостатньо вивченими. Це потребує подальшого дослідження з метою

ранньої діагностики уражень нервової системи внаслідок тиреоїдної патології, прогнозування недуги та її своєчасного лікування й профілактики. Крім того, результати досліджень поліморфізмів генів залежать від дизайну дослідження та вибору груп пацієнтів і значно відрізняються в різних популяціях та етнічних групах. Також велике значення має сукупність культурологічних, соціально-економічних та середовищних факторів, які визначаються загальним стилем життя та харчування, а також наявність коморбідних захворювань.

У зв'язку з вищезазначеним виникла необхідність дослідження поліморфізмів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у Північно-Буковинському регіоні з метою встановлення їх ролі у патогенезі психоневрологічних порушень при захворюваннях ЩЗ. Головною метою є виявлення закономірностей та механізмів формування таких порушень, а також ранньої діагностики, прогнозування та профілактики їх можливих ускладнень. На момент початку дослідження в Україні не проводилось вивчення поліморфізму цих генів при патологіях ЩЗ.

3.1 Гормональний профіль, метаболічно-нейротрофічні маркери, психоневрологічні порушення у хворих на патологію щитоподібної залози до лікування, епідеміологічні дані

У результаті нашого дослідження виявлено вірогідне зниження вТ4 у пацієнтів з ПОГ у 2,6 раза та у хворих на АІТ з гіпотиреозом в 2,2 раза (табл. 3.1). Рівень ТТГ був підвищений у 3,12 та 2,85 раза в пацієнтів із ПОГ та АІТ з гіпотиреозом відповідно ( $p < 0,001$ ).

Також нами було встановлено, що рівень АТПО був вірогідно підвищений в 13,4 та в 11,3 раза у хворих на АІТ з гіпотиреозом та АІТ відповідно. Рівень АТТГ у цих групах також був вірогідно вищим більш ніж у 2 рази, порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.1 – Гормональний профіль, метаболічно-нейротрофічні маркери в обстежених

Показники	Група			
	контроль (n=125)	ПОГ (n=94)	АІТ з Г (n=135)	АІТ (n=106)
Вік (роки)	46,74 ± 8,78	47,13 ± 7,91 (p>0,05)	47,58 ± 8,02 (p>0,05)	46,31 ± 9,57 (p>0,05)
вТ4 (пмоль/л)	9,04 ± 1,16	3,47 ± 0,31 (p<0,001)	4,12 ± 0,51 (p<0,001)	8,35 ± 0,88 (p>0,05)
ТТГ (мМО/л)	2,73 ± 0,71	8,52 ± 0,86 (p<0,001)	7,78 ± 1,16 (p<0,001)	2,44 ± 0,59 (p>0,05)
АТПО (МО/мл)	28,46 ± 3,19	29,02 ± 2,94 (p>0,05)	380,67 ± 72,41 (p<0,001)	320,38 ± 42,47 (p<0,001)
АТТГ (МО/мл)	14,80 ± 2,14	15,49 ± 1,75 (p>0,05)	33,09 ± 4,29 (p<0,05)	34,33 ± 8,75 (p<0,05)
25(ОН)D (нг/мл)	38,78 ± 6,32	20,81 ± 3,08 (p<0,001)	19,06 ± 3,07 (p<0,001)	21,65 ± 2,53 (p<0,001)
BDNF (пг/мл)	1037,80 ± 361,83	310,19 ± 112,84 (p<0,001)	329,34 ± 312,57 (p<0,001)	1031,34 ± 385 (p=0,95)
GRIN2B (нг/мл)	6,23 ± 0,73	1,79 ± 0,36 (p<0,001)	9,87 ± 0,943 (p<0,001)	6,06 ± 0,61 (p=0,45)
Примітка 1. Тут і в наступних таблицях ПОГ – післяопераційний гіпотиреоз; АІТ з Г – автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом; АІТ – автоімунний тиреоїдит; вТ4 – тироксин; ТТГ – тиреотропний гормон; АТПО – антитіла до тиреопероксидази; АТТГ – антитіла до тиреоглобуліну; 25(ОН)D – 25-гідроксिवітамін D; BDNF – мозковий нейротрофічний фактор; GRIN2B – глутаматний рецептор, іонотропний, N-метил-D-Аспартат 2B. Примітка 2. Статистична значущість відмінностей; p<0,05, p – p-значення між контрольною групою та досліджуваними групами.				

Рівень 25(ОН)D був вірогідно знижений у 1,86 раза в хворих на ПОГ, в 2,03 раза – у хворих на АІТ з гіпотиреозом та в 1,8 раза в пацієнтів з АІТ (p<0,001).

Відзначалось значне зниження рівня BDNF у сироватці крові в пацієнтів із ПОГ і в пацієнтів із АІТ з гіпотиреозом у 3,34 і 3,15 раза відповідно, ( $p < 0,001$ ), порівняно з контрольною групою. Водночас у пацієнтів з АІТ рівень BDNF вірогідно не відрізнявся від показника контрольної групи (див. табл. 3.1).

Тобто, саме при гіпотиреозі, незалежно від його етіології, спостерігалось вірогідне зниження рівня BDNF у сироватці крові. Отже, можна припустити, що рівень тиреоїдних гормонів впливає на вміст BDNF у сироватці крові.

Наші результати показали виражене зниження рівня GRIN2B у сироватці крові в пацієнтів із ПОГ у 3,45 раза, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,001$ ). Проте у хворих на АІТ з гіпотиреозом спостерігалось статистично значуще збільшення рівня GRIN2B у 1,58 раза, порівняно з контрольною групою. Крім того, в нашому дослідженні було встановлено, що у пацієнтів з АІТ рівень GRIN2B вірогідно не відрізнявся від показника контрольної групи (див. табл. 3.1).

В результаті клінічного обстеження виявлено, що більшість пацієнтів, які страждають від зниження функції ЩЗ, демонстрували низку характерних симптомів та скарг, таких як зниження працездатності, яке було відзначено у 88,6 % випадків, швидку втомлюваність (93,8 %), адинамію (82,5 %), кволість (81,2 %), сонливість (80,7 %), набряклість обличчя та кінцівок (73,8 %), періодичні болі в ділянці серця та у правому підребер'ї (63,7 %) та збільшення ваги тіла (67,8 %). Крім того, у пацієнтів із первинним гіпотиреозом (ПОГ та АІТ) було виявлено скарги на погіршення пам'яті у 64,9 % та 60,7 % випадків відповідно, а також головокружіння, яке спостерігалось у 47,9 % та 45,2 % пацієнтів. Нестійкість при ходьбі була скаргою 32,9 % пацієнтів із ПОГ та 42,9 % пацієнтів із АІТ з Г. Також пацієнти вказували на відчуття шуму у вухах та голові, що спостерігалось у 36,2 % та 38,5 % відповідно. Незначний біль та парестезії у дистальних відділах кінцівок, порушення чутливості в дистальних відділах верхніх та

нижніх кінцівок були у 78,7 % пацієнтів із ПОГ та 72,3 % пацієнтів із АІТ із Г. При неврологічному обстеженні було виявлено, що рухові розлади були представлені зниженням сухожилкових та періостальних рефлексів і лише у 9,6 % пацієнтів із ПОГ та 10,4 % пацієнтів із АІТ з гіпотиреозом спостерігалось зниження сили в руках до 4 балів. У 49 (21,4 %) хворих первинним гіпотиреозом (ПОГ та АІТ) спостерігалась наявність видимого подовження часу сухожильних рефлексів (ахілового та/або карпорадіального). У деяких випадках спостерігалось поєднання подовження часу сухожильних рефлексів з ознаками міопатії, яке було виявлено у 18,3 % хворих із гіпофункцією ЩЗ. У пацієнтів із гіпотиреозом відмічалось уповільнення тривалості всіх компонентів довільних та рефлекторних рухів, включаючи тривалість скорочення м'язів, час їх розслаблення та тривалість затримки рефлекторних скорочень, особливо колінних, ахілових та карпорадіальних рефлексів. При дослідженні неврологічного статусу важких парезів, паралічів, м'язових атрофій та гіпотрофій не спостерігалось. Порушення чутливості за поліневритичним типом були поширені у пацієнтів із гіпотиреозом (ПОГ та АІТ) та спостерігались у 75,5 % всіх випадків. Вегетативні розлади проявлялися переважно сухістю шкіри, негрубим акрогіпергідрозом та акроціанозом. Серед неврологічних синдромів псевдобульбарні порушення були виявлені у 36,2 % пацієнтів із ПОГ та 38,5 % пацієнтів із АІТ із гіпотиреозом. При неврологічному обстеженні були виявлені ознаки окорухових порушень у 67 % пацієнтів із ПОГ та 64,4 % пацієнтів із АІТ із гіпотиреозом, а вестибуломозочкові порушення спостерігались у 44,6 % пацієнтів із ПОГ та 42,9 % пацієнтів із АІТ із Г.

В подальшій нашій роботі ми оцінювали рівень депресії за шкалою PHQ-9, а тривожні розлади оцінювали за шкалою GAD-7.

Показники тяжкості депресії за шкалою PHQ-9 в обстежених групах наведені в таблиці 3.2. Так, при проведенні скринінгу депресії у пацієнтів з використанням Опитувальника здоров'я пацієнта PHQ-9 у 40,4 %

пацієнтів із ПОГ була виявлена легка депресія, а в 54,3 % – депресія помірної тяжкості. Серед хворих на АІТ з гіпотиреозом легка депресія була виявлена в 31,1 % пацієнтів, а 62,9 % пацієнтів у цій групі мали помірної тяжкості депресію за шкалою PHQ-9. В обстежених пацієнтів не було тяжкої депресії. У групі пацієнтів з АІТ у 39,6 % була виявлена легка депресія, а у 16,1 % – помірна.

Таблиця 3.2 – Тяжкість депресії за шкалою PHQ-9 в обстежених групах

Тяжкість депресії за шкалою PHQ-9	Група			
	контроль (n=125)	ПОГ (n=94)	АІТ з Г (n=135)	АІТ (n=106)
Норма	114 (91,2)	5 (5,3)	8 (5,9)	47 (44,3)
Легка депресія	11 (8,8)	38 (40,4)	42 (31,1)	42 (39,6)
Помірної тяжкості депресія	0 (0,0)	51 (54,3)	85 (62,9)	17 (16,1)
p за $\chi^2$		$p_{\text{К-ПОГ}} < 0,001$	$p_{\text{К-АІТ-Г}} < 0,001$ $p_{\text{ПОГ-АІТ з Г}} < 0,001$	$p_{\text{К-АІТ}} < 0,001$ $p_{\text{ПОГ-АІТ}} < 0,001$ $p_{\text{АІТ з Г-АІТ}} < 0,001$
Примітка. Статистична значущість відмінностей за $\chi^2$ -критерієм; $p < 0,05$ .				

Показники рівня тривожності за шкалою GAD-7 у пацієнтів обстежених груп наведені в таблиці 3.3. При проведенні скринінгу рівня тривожності у пацієнтів з використанням шкали GAD-7 у 42,6 % пацієнтів з ПОГ був виявлений помірний рівень тривожності, в 57,4 % – середній. Серед хворих на АІТ з гіпотиреозом помірний рівень тривожності був виявлений у 51,9 % обстежених, а 48,1 % пацієнтів у цій групі мали середній рівень тривожності за шкалою GAD-7. В обстежених пацієнтів усіх груп високого рівня тривожності за шкалою GAD-7 виявлено не було. У групі



пацієнтів з АІТ у 84,9 % був виявлений помірний рівень тривожності, у 3,8 % – середній. У 11,3 % хворих на АІТ був діагностований мінімальний рівень тривожності.

Таблиця 3.3 – Аналіз рівня тривожності за шкалою GAD-7 в обстежених групах

Рівень тривожності за шкалою GAD-7	Група			
	контроль (n=125)	ПОГ (n=94)	АІТ з Г (n=135)	АІТ (n=106)
Мінімальний	114 (91,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	12 (11,3)
Помірний	11 (8,8)	40 (42,6)	70 (51,9)	90 (84,9)
Середній	0 (0,0)	54 (57,4)	65 (48,1)	4 (3,8)
p за $\chi^2$		$p_{\text{К-ПОГ}} < 0,001$	$p_{\text{К-АІТ з Г}} < 0,001$ $p_{\text{ПОГ-АІТ з Г}} < 0,001$	$p_{\text{К-АІТ}} < 0,001$ $p_{\text{ПОГ-АІТ}} < 0,001$ $p_{\text{АІТ з Г-АІТ}} < 0,001$
Примітка. Статистична значущість відмінностей за $\chi^2$ -критерієм; $p < 0,05$ .				

Для оцінки когнітивних функцій був проведений MMSE тест в обстежених групах. Показники когнітивних порушень наведені в таблиці 3.4.

Згідно з результатами наших досліджень, у 48,9 % пацієнтів з ПОГ не було виявлено когнітивних порушень згідно з тестом MMSE. У 36,2 % пацієнтів у цій групі були помірні (переддементні) когнітивні порушення, а у 14,9 % – легка деменція. У 50,4 % хворих на АІТ з гіпотиреозом когнітивні порушення не були виявлені, тоді як у 34,1 % пацієнтів були помірні (переддементні) когнітивні порушення, а у 15,5 % пацієнтів у цій групі була легка деменція. Помірна і тяжка деменція у обстежених пацієнтів виявлена не була. У групі пацієнтів з АІТ тільки у 14,2 % пацієнтів спостерігалися

помірні когнітивні порушення, що передували деменції. У решти пацієнтів цієї групи за даними MMSE тесту патології виявлено не було. За результатами MMSE тесту (переддементні, чи легку деменцію) встановили майже у половини хворих на гіпотиреоз (ПОГ, АІТ з Г), що було у 3,5 раза частіше, аніж у таких із АІТ без гіпотиреозу (50,22 % проти 14,2 %,  $p < 0,001$ ), де спостерігали переважно збережену когніцію (85,8 %), чи переддеменцію (14,2 %).

Таблиця 3.4 – Наявність когнітивних порушень у пацієнтів обстежених груп за результатами MMSE тесту

Когнітивні порушення за результатами MMSE тесту	Група			
	контроль (n=125)	ПОГ (n=94)	АІТ з Г (n=135)	АІТ (n=106)
Норма	125 (100,0)	46 (48,9)	68 (50,4)	91 (85,8)
Помірні (переддементні) когнітивні порушення	0 (0,0)	34 (36,2)	46 (34,1)	15 (14,2)
Деменція легкого ступеня	0 (0,0)	14 (14,9)	21 (15,5)	0 (0,0)
p за $\chi^2$		$p_{\text{К-ПОГ}} < 0,001$	$p_{\text{К-АІТ з Г}} < 0,001$ $p_{\text{ПОГ-АІТ з Г}} < 0,001$	$p_{\text{К-АІТ}} < 0,001$ $p_{\text{ПОГ-АІТ}} < 0,001$ $p_{\text{АІТ з Г-АІТ}} < 0,001$
Примітка. Статистична значущість відмінностей за $\chi^2$ -критерієм; $p < 0,05$ .				

З метою загальної оцінки поширеності та захворюваності патології щитоподібної залози в дорослого населення Чернівецької області проведено порівняльний аналіз офіційних обліково-звітних статистичних даних показників діяльності ендокринологічної служби області за 2015-2020 рр. (річних звітів за обліковою формою № 12 «Звіт про кількість зареєстрованих захворювань у районі обслуговування лікувального закладу») [3, 53, 54, 246].

Патологія ЩЗ станом на 2020 р. становить 48 % від загальної ендокринологічної захворюваності, з урахуванням наступних захворювань ЩЗ: дифузний зоб I–III ступенів, вузловий зоб, гіпотиреоз, тиреоїдити, тиреотоксикоз та рак цієї залози (рис. 3.1).

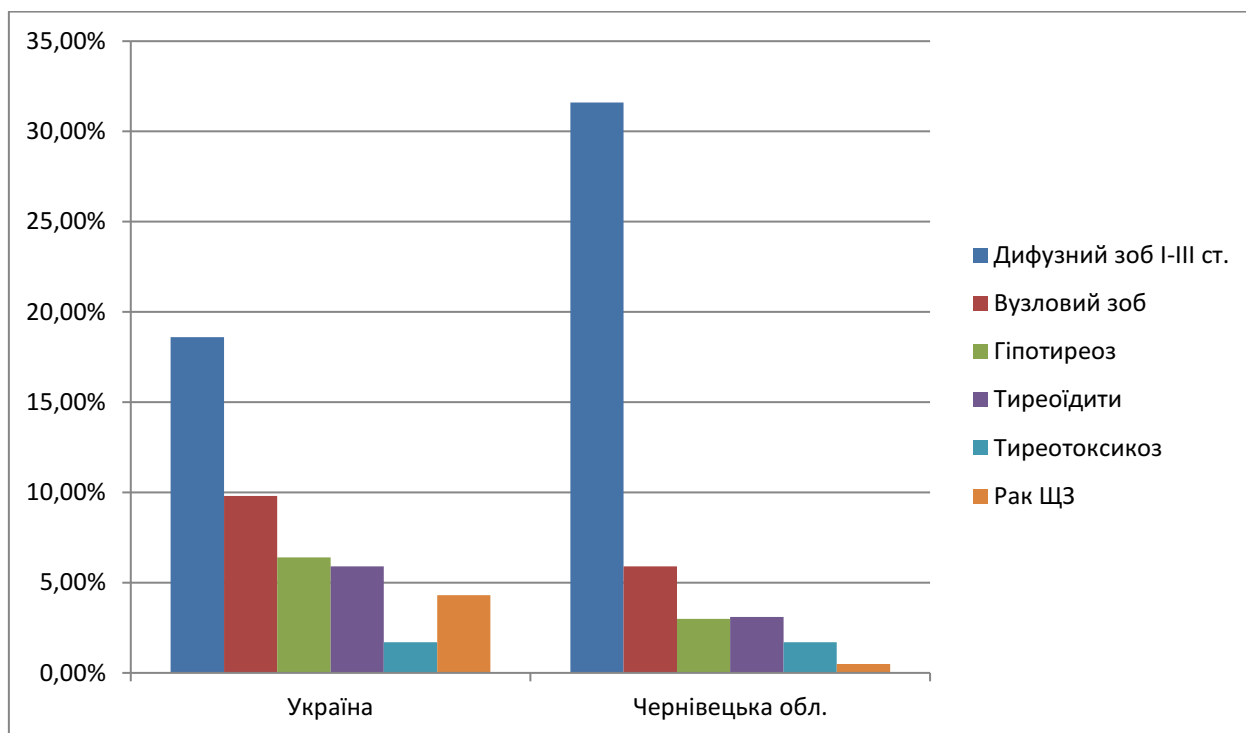


Рисунок 3.1 – Порівняльна характеристика структури хвороб щитоподібної залози в Україні та Чернівецькій області

У Чернівецькій області переважає дифузний зоб у 1,7 раза більше, ніж всеукраїнські показники, що нарочито підкреслює ендемічність регіону, однак позитивним є те, що рак ЩЗ у Чернівецькій області зустрічається у 8,6 раза менше, ніж загалом по Україні. За 5 років захворюваність на гіпотиреоз в Україні зросла на 20,3 %, а поширеність тиреоїдиту – на 16,8 % (табл. 3.5).

Стосовно поширеності хвороб ЩЗ серед населення Чернівецької області, чітко простежується незначне зростання всіх патологій ЩЗ з 2015 по 2020 рр (від +0,4 % до +27,9 %). Найрозповсюдженішою патологією ЩЗ на сьогодні залишається дифузний та вузловий зоб, дещо менше зустрічаються гіпотиреоз та тиреоїдити.

Таким чином, порівняльний епідеміологічний аналіз захворюваності та поширеності захворювань ЩЗ серед дорослого населення Чернівецької області (на 100 тис. населення) свідчить про суттєве зростання загальної кількості тиреоїдної патології в цілому, зміну її структури, що на нашу думку є результатом покращання ранньої діагностики захворювань ЩЗ. Ураховуючи таку несприятливу епідеміологічну ситуацію в області, нашу увагу було сфокусовано на гіпотиреоїдних станах, механізмах їх розвитку та можливих супутніх психоневрологічних ускладненнях.

Таблиця 3.5 – Поширеність захворювань щитоподібної залози серед дорослого населення України та Чернівецької області в 2015 та 2020 рр. (на 100 тис. населення)

Хвороби	Україна		Чернівецька область	
	2015	2020	2015	2020
Дифузний зоб I–III ст.	1731,4	1687,9	3005,7	3033,6
Вузловий зоб	766,4	891,5	563,8	569,1
Гіпотиреоз	251,6	302,8	255,9	258,3
Тиреоїдити	465,3	543,7	299,7	302,5
Тиреотоксикоз	144,9	158,1	161,2	162,7
Рак ЩЗ	106,7	132,2	47,8	48,2

3.2 Аналіз поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) у хворих на патологію щитоподібної залози в популяції Північної Буковини

Проведено аналіз частоти алелей і генотипів гена *BDNF* (rs6265) в пацієнтів із тиреоїдною патологією. Загалом в обстеженій популяції домінував сприятливий *CC* поліморфний варіант гена *BDNF* (rs6265) над *CT* та *TT* (табл. 3.6).

Проаналізувавши частоту алелів і генотипів *BDNF* (rs6265) у пацієнтів з патологією ЦЗ і контрольної групи ми виявили, що відносна частота досліджуваних поліморфних варіантів генів між групами дослідження не відрізнялась (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Поширення поліморфізму *BDNF* (rs6265) в обстеженій популяції

<i>BDNF</i> rs6265 n=178 (%)	Дослідна група, n=153 (86,96 %)	Контрольна група, n=25 (14,04 %)	ВШ [95 % ДІ]	$\chi^2$ (p)
<i>CC</i>	104 (67,97 %)	17 (68,00 %)	0,99 [0,35; 2,65]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>CT</i>	39 (25,49 %)	6 (24,00 %)	1,08 [0,38; 3,56]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>TT</i>	10 (6,54 %)	2 (8,00 %)	0,8 [0,16; 8]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
$\chi^2$ p	$\chi^2 = 22,077$ p < 0,001	$\chi^2 = 16,63$ p < 0,001		
<i>C</i> allele	247 (80,72 %)	40 (80,00 %)	1,046 [0,44; 2,23]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>T</i> allele	59 (19,28 %)	10 (20,00 %)		
Примітка. ВШ – відношення шансів; n – загальне число.				

Тест відношення шансів (ВШ) показує, що розподіл генотипів *CC*, *CT* і *TT* не відрізняється між досліджуваною і контрольною групами. В обстеженій популяції домінував сприятливий *CC* (67,9 %) поліморфний варіант гена *BDNF* (rs6265). У дослідній групі частота цього генотипу склала 67,97 %, у групі контролю – 68 %. Другим за частотою зустрічання був гетерозиготний генотип *CT* (25,49 % та 24 % відповідно). Найрідше зустрічався *TT* генотип – у дослідній групі він склав 6,54 %, а в контрольній групі – 8 %.

Алель *C* гена *BDNF* (rs6265) зустрічався в 4,18 раз частіше, порівняно з алелем *T*, у пацієнтів з тиреоїдною патологією ( $p < 0,001$ ), і в 4 рази – в контрольній групі ( $p < 0,001$ ). Частота обох алелів не відрізнялася між групами: серед пацієнтів з патологією ЩЗ 80,72 % мали алель *C* проти 80 % в контрольній групі ( $p > 0,05$ ); відповідні частоти для алеля *T* склали 19,28 % проти 20 % ( $p > 0,05$ ). Відповідність розподілу генотипів Val<sup>66</sup>Met поліморфізму гена *BDNF* (rs6265) до закону *Hardy-Weinberg* у контрольній групі була перевірена за допомогою тесту  $\chi^2$ -квадрат із 1 ступенем свободи, без використання корекції Йетса, а відмінність у розподілі генотипів у групі контролю і серед хворих – за допомогою тесту  $\chi^2$ -квадрат із 2 ступенями свободи. Розподіл генотипів загалом у когорті обстежених відповідав закону *Hardy-Weinberg* ( $\chi^2 < 1,0$ ,  $p > 0,05$ ), без вірогідної різниці між очікуваною та фактичною гетерозиготністю. У кількісному відношенні домінуючим алелем є *C* варіант ( $P_C = 0,81$  проти  $P_T = 0,19$ ), що загалом формує нормальний популяційний розподіл ( $F = 0,19$ ,  $p > 0,05$ ). Статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів у групі хворих та практично здорових людей не знайдено (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Аналіз гетерозиготності Val<sup>66</sup>Met поліморфізму гена *BDNF* (rs6265) в обстежених

Групи, n	Генотипи гена, n			P <sub>C</sub>	P <sub>T</sub>	H <sub>0</sub>	H <sub>E</sub>	F	$\chi^2$	P
	CC	CT	TT							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Хворі, n=153 (86,96 %)	104 (67,97 %)	39 (25,49 %)	10 (6,54 %)	0,8	0,2	0,25	0,31	0,18	1,29	>0,05
Контроль, n=25 (14,04 %)	17 (68,00 %)	6 (24,00 %)	2 (8,00 %)	0,8	0,2	0,24	0,32	0,25	2,29	>0,05

## Продовження таблиці 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Всього, n=178	121 (67,97 %)	45 (25,28 %)	12 (6,74 %)	0,81	0,19	0,25	0,31	0,19	1,29	>0,05
Примітка 1. $P_C$ – відносна частота <i>C</i> алеля; $P_T$ – відносна частота <i>T</i> алеля. Примітка 2. $H_0$ – фактична гетерозиготність; $H_E$ – очікувана гетерозиготність; $F$ – коефіцієнт інбридингу. Примітка 3. $\chi^2_p$ – критерій справедливості «нульової» гіпотези між фактичною і очікуваною гетерозиготністю. Примітка 4. $n$ (%) – кількість (відсоток) спостережень.										

За допомогою логістичної регресії ми проаналізували можливі моделі успадкування (домінантну, рецесивну, кодомінантну, наддомінантну та аддитивну) (табл. 3.8) з урахуванням поліморфізму гена *BDNF* (rs6265).

Таблиця 3.8 – Моделі успадкування з урахуванням поліморфізму гена *BDNF* (rs6265)

Генотип	Контроль, n (%)	Випадок, n (%)	ВШ [95 % ДІ]	P	AIC
1	2	3	4	5	6
<i>Домінантна модель</i>					
<i>CC</i>	17 (68 %)	104 (68 %)	1,00	1	14,56
<i>CT + TT</i>	8 (32 %)	49 (32 %)	1 (0,41 – 2,6)		
<i>Рецесивна модель</i>					
<i>CC + CT</i>	23 (92,0 %)	143 (93,5 %)	1,00	0,79	14,49
<i>TT</i>	2 (8,0 %)	10 (6,5 %)	0,8 (0,2 – 5,45)		
<i>Кодомінантна модель</i>					
<i>CC</i>	17 (68,0 %)	104 (68,0 %)	1,00	0,96	16,48
<i>CT</i>	6 (24,0 %)	39 (25,5 %)	1,06 (0,41 – 3,12)		
<i>Наддомінантна модель</i>					
<i>CC + TT</i>	19 (76,0 %)	114 (74,5,0 %)	1,00	0,87	14,54
<i>CT</i>	6 (24,0 %)	39 (25,5 %)	1,08 (0,42 – 3,15)		

Продовження таблиці 3.8

1	2	3	4	5	6
<i>Аддитивна модель</i>					
<i>CC</i>	–	–	1,00	0,91	14,55
<i>2 TT + CT</i>	–	–	0,96 (0,5 – 2,02)		
Примітка. ВШ – відношення шансів; ДІ – довірчий інтервал; АІС – критерій Акайке.					

Аналіз моделей успадкування із урахуванням поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs 6265) (див. табл. 3.8) виявив, що найдієвішою є рецесивна модель із інформаційним критерієм Акайке 14,49, тобто успадковується як рецесивна ознака, яка має вищі шанси проявитись за наявності *TT* генотипу в промоторному регіоні гена *BDNF*, ніж *C*-алеля [ВШ=0,8; 95 % ДІ: 0,2 – 5,45;  $p > 0,05$ ].

Дані щодо расових і популяційних відмінностей частот Val<sup>66</sup>Met поліморфізму гена *BDNF* (rs 6265) наведені в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 – Расові та популяційні відмінності частот поліморфних варіантів Val<sup>66</sup>Met гена *BDNF* (rs6265)

Раси, популяції	<i>CC</i> генотип	<i>CT</i> генотип	<i>TT</i> генотип	<i>C</i> -алель	<i>T</i> -алель
ALL	0,667	0,264	0,069	0,799	0,201
Отримані нами результати (Буковина)	0,679	0,254	0,067	0,81	0,19
AFR (African)	0,979	0,021	-	0,989	0,011
AMR (American)	0,718	0,259	0,023	0,847	0,153
EAS (East Asian)	0,270	0,484	0,246	0,512	0,488
EUR (European)	0,642	0,322	0,036	0,803	0,197
SAS (South Asian)	0,642	0,311	0,047	0,798	0,202



Згідно з даними наших досліджень, частота *C*-алеля гена *BDNF* (rs6265) серед мешканців Буковини ( $P_C=0,81$ ), а також *T*-алеля ( $P_T=0,19$ ) відповідають таким у середньому для європеїдних популяцій ( $P_C=0,803$  і  $P_T=0,197$ ;  $p>0,05$ ), засвідчуючи достатньо високу однорідність популяцій за поліморфним локусом. Однак є суттєві відмінності при порівнянні з окремими популяціями азійської раси (), в яких частота алелей має суттєві розбіжності, засвідчуючи високу гетерогенність та неоднорідність ( $P_C=0,512$  і  $P_T=0,488$ ). При цьому частота *T*-алеля в наших дослідженнях є дещо вищою за таку в популяції мешканців Африки. Так, частота *C*-алеля в мешканців Африки складає 99 %, а *T*-алеля – 1 % (рис. 3.2). Серед населення Америки частота зустрічання склала 85 % для *C*-алеля та 15 % для *T*-алеля (табл. 3.9).

### 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies

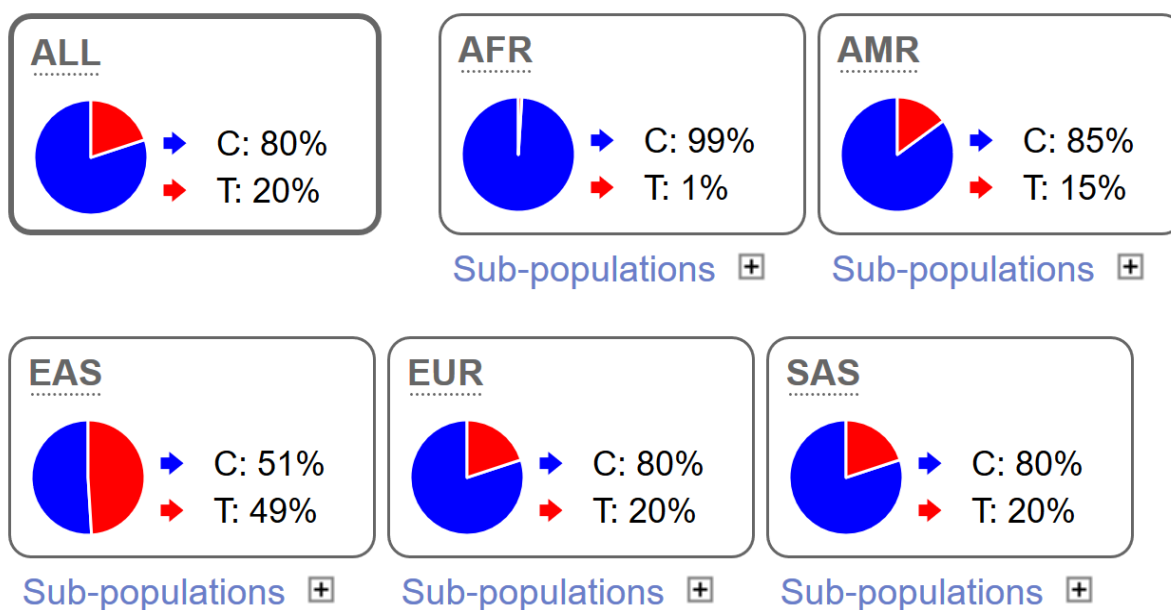


Рисунок 3.2 – Расові та популяційні відмінності частоти зустрічання алелів гена *BDNF* (rs6265) (<http://www.ensembl.org/index.html>).

При аналізі розподілу поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) у пацієнтів залежно від різної тиреоїдної патології (табл. 3.10) ми виявили, що відносна частота поліморфних варіантів гена *BDNF* між хворими на ПОГ, АІТ з гіпотиреозом та АІТ вірогідно не відрізнялась. У всіх групах спостереження сприятливі алелі домінували над мутаційними.

Таблиця 3.10 – Розподіл генотипів *BDNF* (rs6265) в основній групі залежно від типу патології ЩЗ та групі контролю

<i>BDNF</i> (rs6265)	Контрольна група, n=25 (14,04 %)	Дослідна група, n=153 (85,96 %)	Група 1, ПОГ, n=16 (10,46 %)	Група 2, АІТ з Г n=65 (42,48 %)	Група 3, АІТ, n=72 (47,06 %)	$\chi^2$ p	Всього, n=178 (%)	OR [95 % CI]
<i>CC</i>	17 (68,00 %)	104 (67,97 %)	8 (50,00 %)	46 (70,77 %)	50 (69,44 %)	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05	121 (67,97 %)	0,82 [0,28; 2,62]
<i>CT</i>	6 (24,00 %)	39 (25,49 %)	6 (37,50 %)	16 (24,61 %)	17 (23,61 %)	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05	45 (25,28 %)	0,53 [0,11; 2,58]
<i>TT</i>	2 (8,00 %)	10 (6,54 %)	2 (12,50 %)	3 (4,62 %)	5 (6,94 %)	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05	12 (6,74 %)	0,62 [0,04; 9,4]
$\chi^2$ p	$\chi^2 = 16,64$ p < 0,001	$\chi^2 = 120,92$ p < 0,001	$\chi^2 = 3,63$ p = 0,053	$\chi^2 = 57,8$ p < 0,001	$\chi^2 = 57$ p < 0,001		$\chi^2 = 140$ p < 0,001	

### 3.3 Аналіз поліморфних варіантів гена *VDR* (rs2228570) у хворих на патологію щитоподібної залози в популяції Північної Буковини

Ми проаналізували частоту, з якою виявляються алелі і генотипи *VDR* (rs2228570) у пацієнтів із патологією ЩЗ та осіб контрольної групи. Відносна частота цих варіантів генів вірогідно не відрізнялася між групами (табл. 3.11).

Таблиця 3.11 – Розподіл генотипу *VDR* (rs2228570) та частоти алелів в обстеженій популяції

<i>VDR</i> (rs2228570) n=178 (%)	Дослідна група, n=153 (86,96 %)	Контрольна група, n=25 (14,04 %)	ВШ [95 % ДІ]	$\chi^2$ (p)
<i>AA</i>	59 (38,56 %)	9 (36,00 %)	1,115 [0,43; 3,06]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>AG</i>	64 (41,83 %)	9 (36,00 %)	1,277 [0,494; 3,497]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>GG</i>	30 (19,61 %)	7 (28,00 %)	0,629 [0,224; 1,948]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
$\chi^2$	$\chi^2 = 13,216$	$\chi^2 = 0,32$		
p	p < 0,001	p = 0,8521		
<i>A</i> allele	182 (59,48 %)	27 (54 %)	1,249 [0,652; 2,38]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>G</i> allele	124 (40,52 %)	23 (46 %)		

Тест співвідношення шансів (ВШ) вказує на те, що розподіл генотипів *AA*, *AG* і *GG* не відрізняється між досліджуваною та контрольною групами. В

обстеженій популяції переважав генотип  $AG$ : 41,83 % і 36 % в основній і контрольній групах відповідно. Другим за поширеністю був гомозиготний генотип  $AA$ : 38,56 % і 36 % відповідно. Найменш поширеним виявився генотип  $GG$ : 19,61 % в основній та 28 % у контрольній групі ( $p > 0,05$ ). Частота обох алелів не відрізнялася в межах груп: серед хворих на патологію ЩЗ: 59,48 % становили носії алеля  $A$  на противагу 54 % у контрольній групі; відповідні частоти для алеля  $G$  становили 40,52 % і 46 % ( $p > 0,05$ ).

Відповідність розподілу генотипів поліморфізму гена  $VDR$  (rs2228570) до закону *Hardy-Weinberg* у контрольній групі була перевірена за допомогою тесту  $\chi^2$  з 1 ступенем свободи, без використання корекції Йетса, а відмінність у розподілі генотипів у групі контролю і серед хворих – за допомогою тесту  $\chi^2$  з 2 ступенями свободи (табл. 3.12).

Таблиця 3.12 – Аналіз гетерозиготності поліморфізму гена  $VDR$  (rs2228570) в обстежених

Групи, n	Генотипи гена, n			$P_A$	$P_G$	$H_0$	$H_E$	F	$\chi^2$	P
	$AA$	$AG$	$GG$							
Хворі, n=153 (%)	59 (38,56 %)	64 (41,83 %)	30 (19,61 %)	0,59	0,41	0,41	0,48	0,13	1,1	>0,05
Контроль, n=25 (%)	9 (36 %)	9 (36 %)	7 (28 %)	0,54	0,46	0,36	0,5	0,27	4,6	0,033
Всього, n=178 (%)	68 (38,2 %)	73 (41,0 %)	37 (20,8 %)	0,59	0,41	0,41	0,48	0,15	1,1	>0,05

Примітка 1.  $P_A$  – відносна частота  $A$  алеля;  $P_G$  – відносна частота  $G$  алеля.

Примітка 2.  $H_0$  – фактична гетерозиготність;  $H_E$  – очікувана гетерозиготність; F – коефіцієнт інбридингу.

Примітка 3.  $\chi^2_p$  – критерій справедливості нульової гіпотези між фактичною і очікуваною гетерозиготністю.

Примітка 4. n (%) – кількість (відсоток) спостережень.

Незважаючи на дефіцит гетерозиготності в контрольній групі  $F=0,27$ ,  $p=0,033$ , розподіл генотипів загалом в обстеженій популяції відповідав закону *Hardy-Weinberg* ( $\chi^2 < 1,0$ ,  $p > 0,05$ ), без вірогідної різниці між очікуваною та фактичною гетерозиготністю. У кількісному відношенні домінуючим алелем є *A* варіант ( $P_a=0,59$  проти  $P_G=0,41$ ,  $p=0,011$ ), що загалом формує нормальний популяційний розподіл ( $F=0,15$ ,  $p > 0,05$ ).

Проаналізувавши усі моделі успадкування з урахуванням поліморфізму гена *VDR* (rs2228570) (табл. 3.13), ми вибрали найкращу модель із найнижчим інформаційним критерієм Акайке. Такою моделлю виявилася рецесивна модель із інформаційним критерієм Акайке 15,46 [ВШ=0,63; 95 % ДІ: 0,25 – 1,74]; ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.13 – Моделі успадкування з урахуванням поліморфізму гена *VDR* (rs2228570)

Генотип	Контроль, n (%)	Випадок, n (%)	ВШ [95 % ДІ]	P	AIC
1	2	3	4	5	6
<i>Домінантна модель</i>					
<i>AA</i>	9 (36,0 %)	59 (38,6 %)	1,00	0,81	16,26
<i>AG + GG</i>	16 (64,0 %)	94 (61,4 %)	0,9 (0,36 – 2,12)		
<i>Рецесивна модель</i>					
<i>AA + AG</i>	18 (72,0 %)	123 (80,4 %)	1,00	0,34	15,46
<i>AG</i>	7 (28,0 %)	30 (19,6 %)	0,63 (0,25 – 1,74)		
<i>Кодомінантна модель</i>					
<i>AA</i>	9 (36,0 %)	59 (38,6 %)	1,00	0,62	17,43
<i>AG</i>	9 (36,0 %)	64 (41,8 %)	1,08 (0,4 – 2,96)		
<i>AG</i>	7 (28,0 %)	30 (19,6 %)	0,65 (0,22 – 1,99)		

Продовження таблиці 3.13

1	2	3	4	5	6
<i>Наддомінантна модель</i>					
<i>AA + GG</i>	16 (64,0 %)	89 (58,2 %)	1,00	0,58	16,02
<i>AG</i>	9 (36,0 %)	64 (41,8 %)	1,28 (0,54 – 3,19)		
<i>Аддитивна модель</i>					
<i>AA</i>	–	–	1,00	0,5	15,87
<i>2GG + AG</i>	–	–	0,82 (0,47 – 1,45)		
Примітка. ВШ – відношення шансів; ДІ – довірчий інтервал; АІС – критерій Акайке. Найкраща модель має найменший показник інформаційного критерію Акайке (АІС).					

Расові та популяційні відмінності частот поліморфізму гена *VDR* (rs2228570) у порівняльному аспекті наведено в таблиці 3.14.

Таблиця 3.14 – Расові та популяційні відмінності частот поліморфізму гена *VDR* (rs 2228570)

Раси, популяції	<i>AA</i> - генотип	<i>AG</i> - генотип	<i>GG</i> - генотип	<i>A</i> -алель	<i>G</i> -алель
ALL	0,125	0,408	0,468	0,328	0,672
Отримані нами результати (Буковина)	0,382	0,41	0,208	0,59	0,41
AFR (African)	0,036	0,306	0,658	0,189	0,811
AMR (American)	0,239	0,487	0,274	0,483	0,517
EAS (East Asian)	0,183	0,470	0,347	0,418	0,582
EUR (European)	0,159	0,437	0,404	0,378	0,622
SAS (South Asian)	0,067	0,395	0,538	0,265	0,735

У наших дослідженнях частота зустрічання *A*-алеля склала 59 %, *G*-алеля – 41 % відповідно, тоді як для європеїдних популяцій ця частота була

38 % та 62 % відповідно (рис. 3.3). Виявлено суттєві відмінності при порівнянні з окремими популяціями населення Південної Азії, в яких частота алелей відрізнялась від наших даних ( $P_A=0,265$  і  $P_G=0,735$ ). Частота *A*-алеля в наших дослідженнях є вищою за таку в популяції мешканців Африки ( $P_A=0,189$  і  $P_G=0,811$ ). Частота зустрічання серед жителів Америки склала 48 % для *A*-алеля та 52 % для *G*-алеля (рис. 3.3).

### 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies

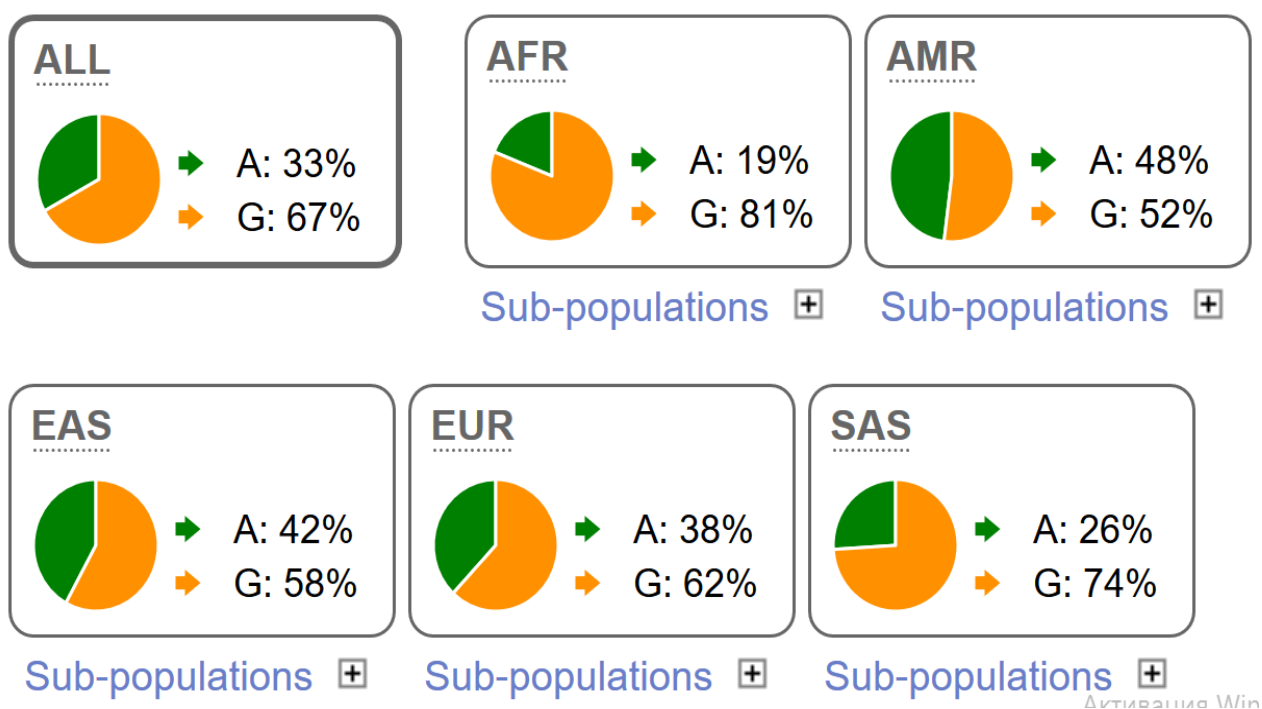


Рисунок 3.3 – Расові та популяційні відмінності частоти зустрічання алелів гена *VDR* (rs2228570) (<http://www.ensembl.org/index.html>).

Розподіл варіантів генотипів *VDR* (rs2228570) у пацієнтів залежно від типу патології ЩЗ не виявив статистично значущих відмінностей у відносній частоті цього поліморфізму серед пацієнтів з ПОГ, АІТ з гіпотиреозом та АІТ (табл. 3.15).

Таблиця 3.15 – Розподіл генотипів *VDR* (rs2228570) в основній групі залежно від типу патології ЩЗ та в групі контролю

<i>VDR</i> (rs2228570)	Контрольна група, n=25 (14,04 %)	Дослідна група, n=153 (85,96 %)	Група 1, ПОГ n=16 (10,46 %)	Група 2, АІТ з Г n=65 (42,48 %)	Група 3, АІТ n=72 (47,06 %)	$\chi^2$ p	Всього, n=178 (%)	OR [95 % CI]
<i>AA</i>	9 (36,00 %)	59 (38,56 %)	7 (43,75 %)	20 (30,77 %)	32 (44,44 %)	$\chi^2=2,9695$ p=0,3964	68 (30,2 %)	0,706 [0,24; 1,96]
<i>AG</i>	9 (36,00 %)	64 (41,83 %)	6 (37,5 %)	33 (50,77 %)	25 (34,72 %)	$\chi^2=0,2533$ p=0,2533	73 (41 %)	1,06 [0,35; 2,98]
<i>GG</i>	7 (28,00 %)	30 (19,61 %)	3 (18,75 %)	12 (18,46 %)	15 (20,83 %)	$\chi^2=1,04$ p=0,79	37 (20,8 %)	1,47 [9,44; 4,6]
$\chi^2$ p	$\chi^2=0,32$ p=0,8521	$\chi^2=13,216$ p<0,001	$\chi^2=1,65$ p=0,4437	$\chi^2=10,36$ p<0,001	$\chi^2=6,08$ p=0,048			



### 3.4 Аналіз поліморфних варіантів гена *NMDA* (rs4880213) у хворих із патологією щитоподібної залози в популяції Північної Буковини

Проаналізовано частоти алелів та генотипів *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів із захворюваннями ЩЗ та контрольної групи. Відносна частота цих поліморфних варіантів гена не відрізнялася в обох групах (табл. 3.16).

Таблиця 3.16 – Розподіл поліморфізму *NMDA* (rs4880213) в обстеженій популяції

<i>NMDA</i> (rs4880213) n=178 (%)	Дослідна група, n=153 (86,96 %)	Контрольна група, n=25 (14,04 %)	ВШ [95 % ДІ]	$\chi^2$ (p)
<i>CC</i>	50 (32,68 %)	6 (24,00 %)	1,5337 [0,545; 4,99]	$\chi^2=0,4$ (p=0,5259)
<i>CT</i>	70 (45,75 %)	15 (60,00 %)	0,56 [0,212; 1,44]	$\chi^2=1,22$ (p=0,269)
<i>TT</i>	33 (21,57 %)	4 (16,00 %)	1,44 [0,442; 6,1738]	$\chi^2=0,1372$ (p=0,711)
$\chi^2$ p	$\chi^2=13,451$ (p=0,0012)	$\chi^2=8,24$ (p=0,01624)		
<i>C allele</i>	170 (55,56 %)	27 (54,00 %)	1,065 [0,556; 2,026]	$\chi^2=0,003$ (p=0,959)
<i>T allele</i>	136 (44,44 %)	23 (46,00 %)		

Тест співвідношення шансів (ВШ) показує, що розподіл генотипів *CC*, *CT* і *TT* не має відмінностей у досліджуваній і контрольній групах.

Генотип *CT* гена *NMDA* (rs4880213) переважав у досліджуваній популяції: 45,75 % в основній проти 60 % у контрольній групі. Гомозиготний генотип *CC* – на другому місці: 32,68 % проти 24 % відповідно. Генотип *TT* посів останнє місце: 21,57 % в основній проти 16 % у контрольній групі ( $p > 0,05$ ).

Алель *C* гена *NMDA* (rs4880213) виявлявся частіше, порівняно з алелем *T* у пацієнтів із захворюваннями ШЗ: 55,56 % пацієнтів із захворюваннями ШЗ носили алель *C* проти 54 % в контрольній групі ( $p > 0,05$ ); відповідні частоти для алеля *T* склали 44,44 % проти 46 % ( $p > 0,05$ ).

Відповідність розподілу генотипів поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) до закону *Hardy-Weinberg* у контрольній групі була перевірена з допомогою тесту  $\chi^2$ -квадрат із 1 ступенем свободи, без використання корекції Йетса, а відмінність у розподілі генотипів у групі контролю і серед хворих – за допомогою тесту  $\chi^2$ -квадрат із 2 ступенями свободи (табл. 3.17). Розподіл генотипів загалом у когорті обстежених відповідав закону *Hardy-Weinberg* ( $\chi^2 < 1,0$ ,  $p > 0,05$ ), без вірогідної різниці між очікуваною та фактичною гетерозиготністю. У кількісному відношенні домінуючим алелем є *C* варіант ( $P_C = 0,55$  проти  $P_T = 0,45$ ), що загалом формує нормальний популяційний розподіл ( $F = 0,03$ ,  $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.17 – Аналіз гетерозиготності поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) в обстежених

Групи, n	Генотипи гена, n			$P_C$	$P_T$	$H_0$	$H_E$	F	$\chi^2$	P
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Хворі, n=153 (86,96 %)	50 (32,68 %)	70 (45,75 %)	33 (21,57 %)	0,56	0,44	0,46	0,49	0,07	<1	>0,05

Продовження таблиці 3.17

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Контроль, n=25 (14,04 %)	6 (24,00 %)	15 (60,00 %)	4 (16,00 %)	0,54	0,46	0,6	0,50	-0,21	1,82	>0,05
Всього, n=178	56 (31,46 %)	85 (47,75 %)	37 (20,78 %)	0,55	0,45	0,48	0,49	0,03	<1	>0,05
Примітка 1. $P_C$ – відносна частота <i>C</i> -алеля; $P_T$ – відносна частота <i>T</i> -алеля. Примітка 2. $N_0$ – фактична гетерозиготність; $N_E$ – очікувана гетерозиготність; $F$ – коефіцієнт інбридингу. Примітка 3. $\chi^2_p$ – критерій справедливості нульової гіпотези між фактичною і очікуваною гетерозиготністю. Примітка 4. $n$ (%) – кількість (відсоток) спостережень.										

Проаналізувавши усі моделі успадкування з урахуванням поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) (табл. 3.18) ми вибрали найкращу модель із найнижчим інформаційним критерієм Акайке. Такою моделлю виявилася рецесивна модель із інформаційним критерієм Акайке 16.39 [ВШ=1,44; 95 % ДІ: 0,51 – 5,2]; ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.18 – Моделі успадкування з урахуванням поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213)

Генотип	Контроль, n (%)	Випадок, n (%)	ВШ [95 % ДІ]	P	AIC
1	2	3	4	5	6
<i>Домінантна модель</i>					
<i>CC</i>	6 (24 %)	50 (32,7 %)	1,00	0,39	16,03
<i>CT + TT</i>	19 (76 %)	103 (67,3 %)	0,65 (0,23 – 1,65)		
<i>Рецесивна модель</i>					
<i>CC + CT</i>	21 (84 %)	120 (78,4 %)	1,00	0,53	16,39
<i>CT</i>	4 (16 %)	33 (21,6 %)	1,44 (0,51 – 5,2)		

Продовження таблиці 3.18

1	2	3	4	5	6
<i>Кодомінантна модель</i>					
<i>CC</i>	6 (24 %)	50 (32,7 %)	1,00	0,42	17,06
<i>CT</i>	15 (60 %)	70 (45,8 %)	0,56 (0,19 – 1,48)		
<i>CT</i>	4 (16 %)	33 (21,6 %)	0,99 (0,26 – 4,12)		
<i>Наддомінантна модель</i>					
<i>CC + TT</i>	10 (40 %)	83 (54,2 %)	1,00	0,19	15,06
<i>CT</i>	15 (60 %)	70 (45,8 %)	0,56 (0,23 – 1,32)		
<i>Аддитивна модель</i>					
<i>CC</i>	–	–	1,00	0,84	16,77
<i>2TT + CT</i>	–	–	0,94 (0,52 – 1,71)		
Примітка 1. ВШ – відношення шансів; ДІ – довірчий інтервал; АІС – критерій Акайке. Найкраща модель має найменший показник інформаційного критерію Акайке (АІС).					

У наших дослідженнях серед мешканців Буковини частота *C*-алеля гена *NMDA* (rs4880213) ( $P_C=0,55$ ), а також *T*-алеля ( $P_T=0,45$ ), відповідають таким у середньому для європеїдних популяцій ( $P_C=0,57$  і  $P_T=0,43$ ;  $p>0,05$ ). Серед населення Америки частота зустрічання також склала 57 % для *C*-алеля та 43 % для *T*-алеля, що свідчить про достатньо високу однорідність популяцій за поліморфним локусом. Суттєвих відмінностей при порівнянні частоти алелей населення Африки також не виявлено ( $P_C=0,473$  і  $P_T=0,0527$ ). Частота *C*-алеля в популяції азійської раси складає 31 %, а *T*-алеля – 69 % (рис. 3.4).

Дані щодо расових і популяційних відмінностей частот поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) наведені в таблиці 3.19.

Розподіл варіацій rs4880213 у пацієнтів із різними типами патології ЩЗ не продемонстрував вираженої різниці у відносній частоті поліморфних варіантів *NMDA* серед пацієнтів з ПОГ, АІТ з гіпотиреозом і групами АІТ (табл. 3.20).

## 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies

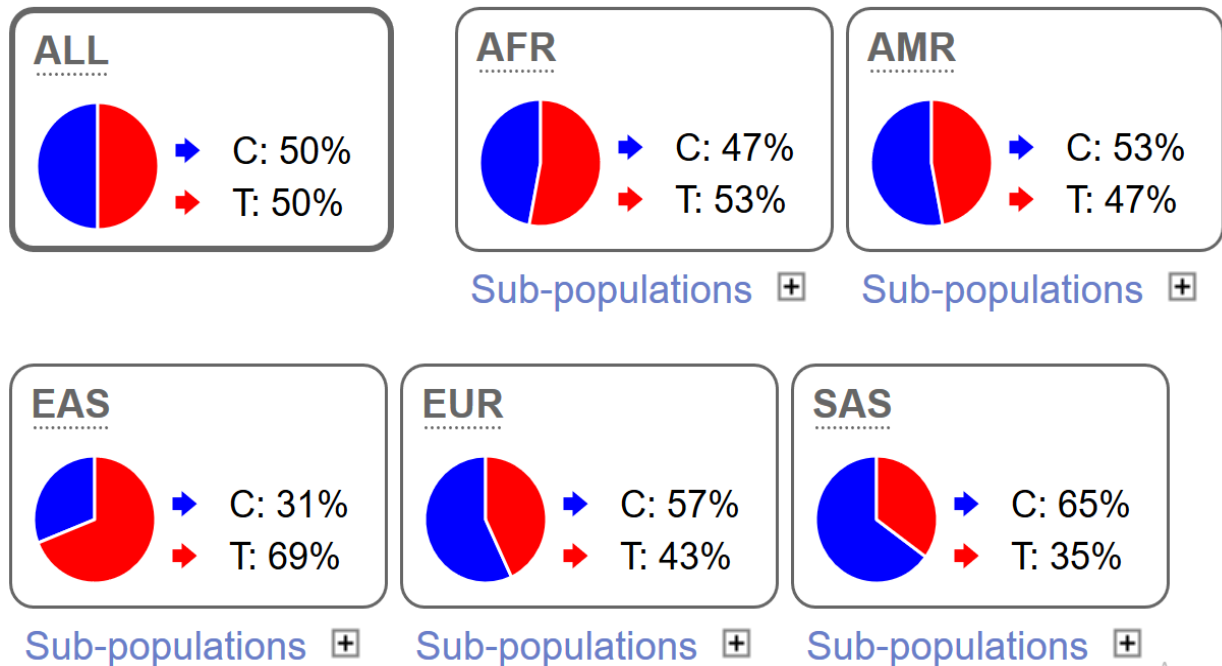


Рисунок 3.4 – Расові та популяційні відмінності частоти зустрічання алелів гена *NMDA* (rs4880213) (<http://www.ensembl.org/index.html>).

Таблиця 3.19 – Расові та популяційні відмінності частот поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213)

Раси, популяції	<i>CC</i> генотип	<i>CT</i> генотип	<i>TT</i> генотип	<i>C</i> -алель	<i>T</i> -алель
ALL	0,266	0,471	0,263	0,501	0,499
Отримані нами результати (Буковина)	0,315	0,477	0,208	0,550	0,450
AFR (African)	0,221	0,504	0,275	0,473	0,527
AMR (American)	0,280	0,493	0,228	0,526	0,474
EAS (East Asian)	0,099	0,425	0,476	0,312	0,688
EUR (European)	0,324	0,487	0,189	0,568	0,432
SAS (South Asian)	0,427	0,444	0,129	0,649	0,351

Таблиця 3.20 – Розподіл генотипів *NMDA* (rs4880213) в основній групі залежно від типу патології ЩЗ та контрольній групі

<i>NMDA</i> (rs4880213)	Контрольна група, n=25 (14,04 %)	Дослідна група, n=153 (85,96 %)	Група 1, ПОГ, n=16 (10,46 %)	Група 2, АІТ з Г, n=65 (42,48 %)	Група 3, АІТ, n=72 (47,06 %)	$\chi^2$ p	Всього, n=178 (%)	ВШ [95 % СІ]
<i>CC</i>	6 (24,00 %)	50 (32,68 %)	4 (25 %)	22 (33,85 %)	24 (33,33 %)	$\chi^2=1,24$ p=0,7425	56 (31,46 %)	0,634 [0,183; 1,938]
<i>CT</i>	15 (60,00 %)	70 (45,75 %)	7 (43,75 %)	30 (46,15 %)	33 (45,83 %)	$\chi^2=1,779$ p=0,6196	85 (47,75 %)	1,762 [0,641; 5,029]
<i>TT</i>	4 (16,00 %)	33 (21,57 %)	5 (31,25 %)	13 (20 %)	15 (20,83 %)	$\chi^2=1,4362$ p=0,6971	37 (20,79 %)	0,726 [0,157; 2,643]
$\chi^2$ p	$\chi^2=8,24$ p=0,016	$\chi^2=13,45$ p=0,001	$\chi^2=0,875$ p=0,64	$\chi^2=6,677$ p=0,03	$\chi^2=6,75$ p=0,34			

### 3.5 Комплексний вплив комбінації генотипів аналізованих генів в пацієнтів із тиреоїдною патологією

Наступним кроком нашого дослідження стало вивчення поєданого впливу поліморфізмів генів у обстеженій популяції.

Розподіл комбінації генотипів поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) засвідчив відсутність статистично значущої різниці між групою хворих та контрольною групою (табл. 3.21).

Найбільше серед обстежених пацієнтів власників *CC / AG / CT* комбінації генотипів (16,99 %). Також серед хворих переважали власники *CC / AA / CC* (10,46 %) та *CC / AA / CT* комбінації генотипів (10,46 %). Решта поєдань генотипів трьох генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), та *NMDA* (rs4880213) траплялись у поодиноких випадках (табл. 3.21). Носіїв *TT / AA / TT*, *TT / AG / TT*, та *TT / GG / TT* комбінацій генотипів у обстеженій популяції виявлено не було.

Таблиця 3.21 – Розподіл комбінації генотипів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) в обстеженій популяції

Комбінації генотипів генів <i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	Групи спостереження		ВШ [95 % CI]	P
	контроль, n=25 (%)	хворі, n=153 (%)		
1	2	3	4	5
<i>CC / AA / CC</i> , n=17	1 (4,00 %)	16 (10,46 %)	0,3568 [0,7897–1,0351]	0,4735
<i>CC / AA / CT</i> , n=20	4 (16,00 %)	16 (10,46 %)	1,6310 [0,8633–1,3607]	0,4909

Продовження таблиці 3.21

1	2	3	4	5
<i>CC / AA / TT</i> , n=9	1 (4,00 %)	8 (5,23 %)	0,7552 [0,7600–1,2258]	1,0000
<i>CC / AG / CC</i> , n=16	3 (12,00 %)	13 (8,50 %)	1,4685 [0,8340–1,3564]	0,4749
<i>CC / AG / CT</i> , n=29	3 (12,00 %)	26 (16,99 %)	0,6661 [0,8261–1,0941]	0,7708
<i>CC / AG / TT</i> , n=9	1 (4,00 %)	8 (5,23 %)	0,7552 [0,7600–1,2258]	1,0000
<i>CC / GG / CC</i> , n=5	0	5 (3,27 %)	–	–
<i>CC / GG / CT</i> , n=10	2 (8,00 %)	8 (5,23 %)	1,5761 [0,7868–1,4794]	0,6339
<i>CC / GG / TT</i> , n=6	2 (8,00 %)	4 (2,61 %)	3,2391 [0,7357–2,2950]	0,1993
<i>CT / AA / CC</i> , n=4	1 (4,00 %)	3 (1,96 %)	2,0833 [0,6507–2,0303]	0,4572
<i>CT / AA / CT</i> , n=7	1 (4,00 %)	6 (3,92 %)	1,0208 [0,7367–1,3653]	1,0000
<i>CT / AA / TT</i> , n=5	0	5 (3,27 %)	–	–
<i>CT / AG / CC</i> , n=3	0	3 (1,96 %)	–	–
<i>CT / AG / CT</i> , n=9	2 (8,00 %)	7 (4,58 %)	1,8137 [0,7794–1,5830]	0,6159
<i>CT / AG / TT</i> , n=5	0	5 (3,27 %)	–	–
<i>CT / GG / CC</i> , n=4	0	4 (2,61 %)	–	–
<i>CT / GG / CT</i> , n=5	2 (8,00 %)	3 (1,96 %)	4,3478 [0,7048–2,9631]	0,1452
<i>CT / GG / TT</i> , n=3	0	3 (1,96 %)	–	–
<i>TT / AA / CC</i> , n=3	0	3 (1,96 %)	–	–
<i>TT / AA / CT</i> , n=3	1 (4,00 %)	2 (1,31 %)	3,1458 [0,5802–2,8872]	0,3667



Продовження таблиці 3.21

1	2	3	4	5
<i>TT / AG / CC</i> , n=1	0	1 (0,65 %)	–	–
<i>TT / AG / CT</i> , n=1	0	1 (0,65 %)	–	–
<i>TT / GG / CC</i> , n=3	1 (4,00 %)	2 (1,31 %)	3,1458 [0.5802–2.8872]	0,3667
<i>TT / GG / CT</i> , n=1	0	1 (0,65 %)	–	–

Аналіз комбінації генотипів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) залежно від виду патології ЦЗ (табл. 3.22–3.24) засвідчив відсутність статистично значущої різниці в частоті комбінацій генотипів між хворими на ПОГ, АІТ з гіпотиреозом та АІТ.

Таблиця 3.22 – Розподіл комбінацій генотипів поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом

<i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	Контроль, n=25 (%)	ПОГ, n=16 (%)	$\chi^2$ p
1	2	3	4
<i>CC / AA / CC</i> , n=2	1 (4,00 %)	1 (6,25 %)	0,6270
<i>CC / AA / CT</i> , n=6	4 (16,00 %)	2 (12,50 %)	0,0010
<i>CC / AA / TT</i> , n=2	1 (4,00 %)	1 (6,25 %)	0,6270
<i>CC / AG / CC</i> , n=3	3 (12,00 %)	0	0,0003
<i>CC / AG / CT</i> , n=5	3 (12,00 %)	2 (12,50 %)	0,1147
<i>CC / AG / TT</i> , n=1	1 (4,00 %)	0	0,2805
<i>CC / GG / CT</i> , n=3	2 (8,00 %)	1 (6,25 %)	0,0602
<i>CC / GG / TT</i> , n=3	2 (8,00 %)	1 (6,25 %)	0,0602

Продовження таблиці 3.22

1	2	3	4
<i>CT / AA / CC</i> , n=2	1 (4,00 %)	1 (6,25 %)	0,6270
<i>CT / AA / CT</i> , n=1	1 (4,00 %)	0	0,2805
<i>CT / AG / CT</i> , n=4	2 (8,00 %)	2 (12,50 %)	0,1517
<i>CT / AG / TT</i> , n=2	0	2 (12,50 %)	1,0000
<i>CT / GG / CT</i> , n=2	2 (8,00 %)	0	0,1000
<i>CT / GG / TT</i> , n=1	0	1 (6,25 %)	1,0000
<i>TT / AA / CC</i> , n=2	0	2 (12,50 %)	1,0000
<i>TT / AA / CT</i> , n=1	1 (4,00 %)	0	0,2805
<i>TT / GG / CC</i> , n=1	1 (4,00 %)	0	0,1337

Таблиця 3.23 – Розподіл комбінацій генотипів поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у хворих на АІТ з гіпотиреозом

<i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	Контроль, n=25 (%)	Автоімунний тиреїдит з гіпотиреозом, n=65 (%)	$\chi^2$ p
1	2	3	4
<i>CC / AA / CC</i> , n=8	1 (4,00 %)	7 (10,77 %)	1,0000
<i>CC / AA / CT</i> , n=9	4 (16,00 %)	5 (7,69 %)	0,0942
<i>CC / AA / TT</i> , n=3	1 (4,00 %)	2 (3,08 %)	1,0000
<i>CC / AG / CC</i> , n=8	3 (12,00 %)	5 (7,69 %)	0,3203
<i>CC / AG / CT</i> , n=18	3 (12,00 %)	15 (23,08 %)	1,0000
<i>CC / AG / TT</i> , n=6	1 (4,00 %)	5 (5,69 %)	1,0000
<i>CC / GG / CC</i> , n=2	0	2 (3,08 %)	1,0000

Продовження таблиці 3.23

1	2	3	4
<i>CC / GG / CT</i> , n=5	2 (8,00 %)	3 (4,62 %)	0,4822
<i>CC / GG / TT</i> , n=4	2 (8,00 %)	2 (3,08 %)	0,3070
<i>CT / AA / CC</i> , n=3	1 (4,00 %)	2 (3,08 %)	1,0000
<i>CT / AA / CT</i> , n=4	1 (4,00 %)	3 (4,62 %)	1,0000
<i>CT / AA / TT</i> , n=1	0	1 (1,54 %)	1,0000
<i>CT / AG / CC</i> , n=2	0	2 (3,08 %)	1,0000
<i>CT / AG / CT</i> , n=5	2 (8,00 %)	3 (4,62 %)	0,4822
<i>CT / AG / TT</i> , n=2	0	2 (3,08 %)	1,0000
<i>CT / GG / CC</i> , n=2	0	2 (3,08 %)	1,0000
<i>CT / GG / CT</i> , n=2	2 (8,00 %)	0	0,0354
<i>CT / GG / TT</i> , n=1	0	1 (1,54 %)	1,0000
<i>TT / AA / CT</i> , n=1	1 (4,00 %)	0	0,4061
<i>TT / AG / CC</i> , n=1	0	1 (1,54 %)	1,0000
<i>TT / GG / CC</i> , n=2	1 (4,00 %)	1 (1,54 %)	0,7990
<i>TT / GG / CT</i> , n=1	0	1 (1,54 %)	1,0000

Таблиця 3.24 – Розподіл комбінацій генотипів поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів з АІТ

<i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	Контроль, n=25 (%)	Автоімунний тиреїдит, n=72 (%)	P
1	2	3	4
<i>CC / AA / CC</i> , n=9	1 (4,00 %)	8 (11,11 %)	0,8483
<i>CC / AA / CT</i> , n=13	4 (16,00 %)	9 (12,50 %)	0,4485
<i>CC / AA / TT</i> , n=6	1 (4,00 %)	5 (6,94 %)	1,0000

Продовження таблиці 3.24

1	2	3	4
<i>CC / AG / CC</i> , n=11	3 (12,00 %)	8 (11,11 %)	0,7480
<i>CC / AG / CT</i> , n=12	3 (12,00 %)	9 (12,50 %)	0,8715
<i>CC / AG / TT</i> , n=4	1 (4,00 %)	3 (4,17 %)	1,0000
<i>CC / GG / CC</i> , n=3	0	3 (4,17 %)	0,9142
<i>CC / GG / CT</i> , n=6	2 (8,00 %)	4 (5,56 %)	0,7058
<i>CC / GG / TT</i> , n=3	2 (8,00 %)	1 (1,39 %)	0,1680
<i>CT / AA / CC</i> , n=1	1 (4,00 %)	0	0,4297
<i>CT / AA / CT</i> , n=4	1 (4,00 %)	3 (4,17 %)	1,0000
<i>CT / AA / TT</i> , n=4	0	4 (5,56 %)	0,7336
<i>CT / AG / CC</i> , n=1	0	1 (1,39 %)	1,0000
<i>CT / AG / CT</i> , n=4	2 (8,00 %)	2 (2,78 %)	0,3411
<i>CT / AG / TT</i> , n=1	0	1 (1,39 %)	1,0000
<i>CT / GG / CC</i> , n=2	0	2 (2,78 %)	1,0000
<i>CT / GG / CT</i> , n=5	2(8,00 %)	3 (4,17 %)	0,5265
<i>CT / GG / TT</i> , n=1	0	1 (1,39 %)	1,0000
<i>TT / AA / CC</i> , n=1	0	1 (1,39 %)	1,0000
<i>TT / AA / CT</i> , n=3	1 (4,00 %)	2 (2,78 %)	1,0000
<i>TT / AG / CT</i> , n=1	0	1 (1,39 %)	1,0000
<i>TT / GG / CC</i> , n=2	1 (4,00 %)	1 (1,39 %)	0,8301

Епідеміологічний аналіз засвідчив, що комбінації генотипів аналізованих генів не є чинниками ризику ПОГ, АІТ з гіпотиреозом та АІТ (див. табл. 3.22–3.24).

Подальший аналіз засвідчив, що комбінації генотипів аналізованих генів не є чинниками ризику депресії серед пацієнтів з патологією ЩЗ (табл. 3.25).

Таблиця 3.25 – Комбінації генотипів алельних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) як фактори ризику депресії серед пацієнтів із патологією ЦЗ

<i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>RelR</i>	<i>OR</i>	95 % <i>CI RR</i>	95 % <i>CI OR</i>	<i>P</i>
<i>CC / AA / CC</i>	0,6335	0,4779	0,3629–1,1059	0,1740–1,3127	0,1723
<i>CC / AA / CT</i>	0,6610	0,5175	0,3850–1,1350	0,2012–1,3310	0,2023
<i>CC / AA / TT</i>	0,5432	0,3458	0,2900–1,0176	0,0892–1,3407	0,1422
<i>CC / AG / CC</i>	0,6914	0,5575	0,3784–1,2633	0,1965–1,5822	0,2718
<i>CC / AG / CT</i>	0,8953	0,8485	0,5133–1,5615	0,3660–1,9673	0,8272
<i>CC / AG / TT</i>	1,4379	1,6435	0,4153–4,9782	0,3304–8,1760	0,7216
<i>CC / GG / CT</i>	0,4960	0,2825	0,2842–0,8656	0,0764–1,0445	0,0739
<i>CC / GG / TT</i>	0,9419	0,9153	0,2973–2,9834	0,1626–5,1505	1,0000
<i>CT / AA / CC</i>	1,2644	1,3866	0,2284–7,0004	0,1410–13,6323	1,0000
<i>CT / AA / CT</i>	2,2515	2,8448	0,362–14,0015	0,3343–24,2080	0,4355
<i>CT / AG / CT</i>	1,4379	1,6435	0,4153–4,9782	0,3304–8,1760	0,7216
<i>CT / GG / CT</i>	0,7803	0,6807	0,2608–2,3351	0,1105–4,1921	0,6504
<i>TT / AA / CT</i>	3,9759	5,4505	0,1875–4,7415	0,6861–43,3007	1,0000

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

Згідно з результатами наших досліджень, носійство комбінації *CC / AG / CC* генотипів значно зменшує ризик розвитку когнітивних порушень [*OR*=0,1410; 95 % *CI OR*: 0,0181 – 1,0965; *p*=0,0416] (табл. 3.26). Водночас носійство комбінації *CT / AG / CT* генотипів збільшує ризик появи когнітивних порушень більше ніж у 5 разів [*OR*=5,1915; 95 % *CI OR*: 1,2471 – 21,6107; *p*=0,0214] та в 10 разів у носіїв комбінації *CT / AG / TT* генотипів

[OR=10,1224; 95 % CI OR: 1,1037 – 92,8401; p=0,0281] відповідно. У носіїв комбінації *CT / AA / CT* генотипів ризик виникнення когнітивних порушень зростає в 6,4 раза [OR=6,4062; 95 % CI OR: 1,2019 – 34,1471; p=0,0253].

Таблиця 3.26 – Комбінації генотипів алельних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) як фактори ризику когнітивних порушень

<i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>RelR</i>	<i>OR</i>	95 % <i>CI RR</i>	95 % <i>CI OR</i>	<i>P</i>
<i>CC / AA / CC</i>	0,7743	0,2876	0,6321–0,9486	0,0634–1,3048	0,1013
<i>CC / AA / CT</i>	0,8042	0,3812	0,6502–0,9946	0,1068–1,3605	0,1930
<i>CC / AG / CC</i>	0,7243	0,1410	0,6141–0,8542	0,0181–1,0965	0,0416
<i>CC / AG / CT</i>	0,8191	0,4384	0,6709–1,0000	0,1576–1,2193	0,1242
<i>CC / AG / TT</i>	1,0562	1,1900	0,6587–1,6936	0,2863–4,9465	1,0000
<i>CC / GG / CC</i>	0,8743	0,5817	0,5580–1,3698	0,0635–5,3309	1,0000
<i>CC / GG / TT</i>	0,8372	0,4615	0,5776–1,2134	0,0526–4,0486	0,6708
<i>CT / AA / CC</i>	1,4138	2,4118	0,5282–3,7845	0,3307–17,589	0,5835
<i>CT / AA / CT</i>	2,5175	6,4062	0,7774–8,1525	1,2019–34,147	0,0253
<i>CT / AA / TT</i>	1,1753	1,5948	0,5709–2,4198	0,2587–9,831	0,6350
<i>CT / AG / CT</i>	2,1657	5,1915	0,8556–5,4816	1,2471–21,611	0,0214
<i>CT / AG / TT</i>	3,5838	10,1224	0,6193–20,738	1,1037–92,840	0,0281
<i>CT / GG / CC</i>	2,8506	7,4400	0,5208–15,6039	0,7558–73,239	0,0797
<i>TT / AA / CT</i>	2,1257	4,8627	0,4278–10,562	0,4313–54,822	0,2117
<i>TT / GG / CC</i>	2,1257	4,8627	0,4278–10,562	0,4313–54,822	0,2117

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

Згідно з результатами наших досліджень, носійство комбінації *CT / GG / CT* генотипів значно зменшує ризик розвитку тривоги ( $OR=0,1233$ ; 95 %  $CI$   $OR$ : 0,0197 – 0,7730;  $p=0,0344$ ) (табл. 3.27).

Таблиця 3.27 – Комбінації генотипів алельних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) як фактори ризику тривоги

<i>BDNF</i> (rs6265) / <i>VDR</i> (rs2228570) / <i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>RelR</i>	<i>OR</i>	95 % <i>CI RR</i>	95 % <i>CI OR</i>	<i>P</i>
<i>CC / AA / CC</i>	1,4783	1,5789	0,3853–5,6719	0,3417–7,2966	0,7413
<i>CC / AA / CT</i>	0,6329	0,5639	0,2732–1,4660	0,1880–1,6917	0,3402
<i>CC / AA / TT</i>	0,4793	0,3803	0,1787–1,2854	0,0896–1,6142	0,1781
<i>CC / AG / CC</i>	0,6420	0,5735	0,2561–1,6091	0,1716–1,9173	0,4803
<i>CC / AG / CT</i>	1,7517	1,9180	0,5690–5,3929	0,5410–6,8005	0,4202
<i>CC / AG / TT</i>	1,5444	1,6571	0,2363–10,0941	0,1995–13,7641	1,0000
<i>CC / GG / CT</i>	0,5357	0,4468	0,1955–1,4677	0,1087–1,8370	0,3757
<i>CC / GG / TT</i>	0,4884	0,3889	0,1499–1,5913	0,0679–2,2267	0,2666
<i>CT / AA / CC</i>	0,6667	0,6000	0,1182–3,7589	0,0603–5,9727	0,5254
<i>CT / AA / CT</i>	1,1871	1,2254	0,1877–7,5096	0,1421–10,5653	1,0000
<i>CT / AG / CT</i>	0,7456	0,6950	0,2098–2,6501	0,1371–3,5224	0,6490
<i>CT / GG / CT</i>	0,2601	0,1233	0,1174–0,5761	0,0197–0,7730	0,0344

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

### 3.6 Оцінка впливу однонуклеотидних поліморфізмів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) на експресію генів у різних тканинах

На цьому етапі роботи ми провели пошук локусів кількісних ознак експресії (expression quantitative trait loci eQTL) для однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), використовуючи загальнодоступну базу даних (QTLbase: <http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.html>). Результати були представлені як номінальні значення  $r$  для кожного SNP *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).

Експресія генів *BDNF*, *VDR* та *NMDA* спостерігається в багатьох клітинах і тканинах (рис. 3.5). Однак важливішим питанням є виявлення впливу окремих поліморфізмів цих генів на функціональну активність клітин, зокрема на експресію генів (а також на метилювання ДНК, модифікацію гістонів, експресію мікроРНК тощо). На сьогодні генетика експресії генів значною мірою залежить від ідентифікації локусів кількісних ознак експресії (eQTL), тобто зв'язку між експресією гена та генотипом у локусі. Дослідження eQTL на рівні геному показали, що eQTL пояснюють значну частку варіацій в експресії генів; близько 90 % варіацій в експресії багатьох генів пояснюється нуклеотидними варіантами [531].

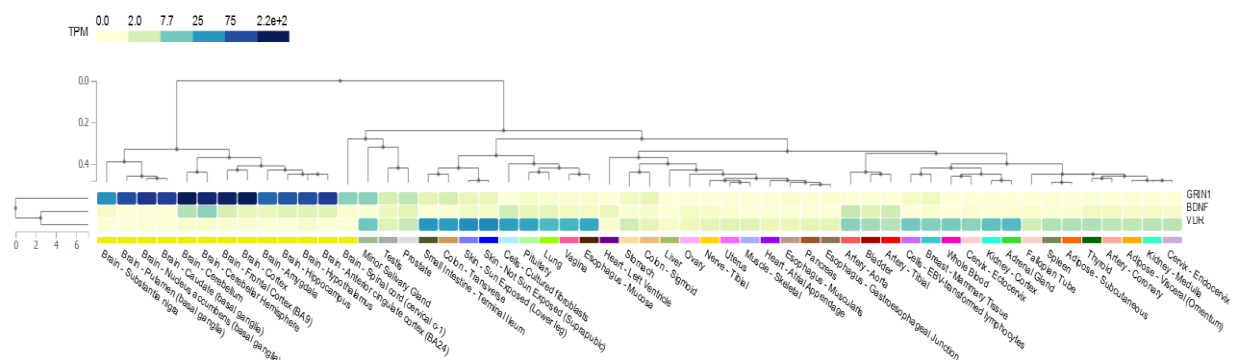


Рисунок 3.5 – Експресія генів *BDNF*, *VDR* та *NMDA* в різних тканинах



Використання генотипово-фенотипової причинності сприятиме поглибленому розумінню генетичної основи складних ознак. Локуси кількісних ознак експресії (eQTL) наразі є найпоширенішим і систематично дослідженим класом функціональних наслідків для генетичної варіації [381]. Недавні генетичні дослідження експресії генів виявили тисячі eQTL у різних типах тканин для більшості генів людини. Застосування цього великого каталогу eQTL дає важливий ресурс для розуміння молекулярної основи поширених генетичних захворювань. Розробка еталонних наборів даних для eQTL та інших варіантів молекулярного фенотипу значною мірою посилять інтерпретацію персоналізованих геномів і забезпечить цінну основу для біологічного розуміння фенотипічної мінливості та ризику захворювання.

Стандартний аналіз eQTL передбачає тест прямого зв'язку між маркерами генетичної варіації та рівнями експресії генів, які зазвичай вимірюють у десятків або сотень осіб [310]. Цей асоціативний аналіз можна проводити проксимально або дистально від локалізації гена. Як правило, в літературі з картографування eQTL регуляторні варіанти характеризуються як цис- або транс-діючі, що відображає передбачуваний характер взаємодій і, звичайно, залежить від фізичної відстані від гена, який вони регулюють. Дослідження показують, що більша частина регуляторного контролю відбувається локально поблизу генів. До цього часу більшість досліджень eQTL на людях проводилися виключно на клітинах крові або клітинних лініях. Цей відносно легкодоступний тип клітин був дуже корисним для розуміння генетики експресії генів і залишається чудовим ресурсом в інших когортних дослідженнях. Однак, оскільки сигнатури експресії генів є специфічними для клітинного типу, виникає питання, чи регуляторний контроль експресії також залежить від типу клітини. Оцінки різняться залежно від тканин, які порівнюються, і використовуваних методів eQTL, але, як правило, систематично повідомлялося про значний тканинспецифічний компонент цис-регуляції.

Ми в цій роботі умовно варіанти в межах 1 Мб (мегабази) по обидва боки від сайту початку транскрипції гена називали цис-діючими (cis-QTL). Щоб визначити, чи вищезазначені SNP впливають на експресію генів, ми перевірили QTLbase: <http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.html>. Алель, що впливає на експресію (ефективний алель) і значення  $r$  для eQTL представлені в таблиці 3.28 ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.28 – eQTL для SNP генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)

Ген, експресія якого змінюється	Хромосома	Ефективний алель	Тканина	Сила ефекту	P-value
1	2	3	4	5	6
rs6265					
<i>BDNF</i>	11	T	Кров	NA	0,00135
<i>BDNF</i>	11	T	Підшлункова залоза	-0,194734	0,00647
<i>BDNF</i>	11	T	Стовбурові клітини-iPSC	0,324904844	1,89E-13
<i>BDNF-AS</i>	11	T	Жирова тканина	-0,243795	0,00936
<i>BDNF-AS</i>	11	T	CD4+ T-клітини крові	-2,1996243	0,0278
<i>BDNF-AS</i>	11	T	CD14+ моноцити крові	-0,03878	0,0393
<i>BDNF-AS</i>	11	T	Мозок	-0,19	0,0000563
<i>BDNF-AS</i>	11	T	Нирки	-0,28	1,17E-06
<i>BDNF-AS</i>	11	T	Простата	-0,23	0,000221
<i>BDNF-AS</i>	11	T	Щитоподібна залоза	-0,150308	0,0000435
<i>BDNF-AS</i>	11	T	Щитоподібна залоза	-0,28	5,49E-09

Продовження таблиці 3.28

1	2	3	4	5	6
rs4880213					
<i>UAP1L1</i>	9	T	Кров	0,383073	3,83E-12
<i>MAN1B1</i>	9	T	Легені	0,194606	3,32E-10
<i>SAPCD2</i>	9	T	Кров	0,294696	2,22E-07
<i>ENTPD2</i>	9	T	Кров	0,279913	2,36E-07
<i>UAP1L1</i>	9	T	Жирова тканина	0,354279	3,06E-07
<i>MAN1B1</i>	9	T	Стравохід	0,164205	5,22E-07
<i>MAN1B1</i>	9	T	Щитоподібна залоза	0,163848	8,35E-07
<i>MAN1B1</i>	9	T	Шкіра	0,146558	2,49E-06
<i>NPDC1</i>	9	T	Фібробласти	-0,16411	3,48E-06
<i>MAN1B1</i>	9	T	Периферична нервова система	0,148436	8,99E-06
<i>NPDC1</i>	9	T	Аорта	-0,18897	1,59E-05
<i>FAM166A</i>	9	T	Око	-0,08843	0,00814
rs2228570					
<i>HDAC7</i>	12	G	CD8+Т-клітини крові	0,142087	0,000429
<i>PCED1B</i>	12	G	активовані CD4+ Т-клітини крові	0,089901	0,00271
<i>VDR</i>	12	A	CD4+ Т-клітини крові	2,932884	0,00336
<i>RAPGEF3</i>	12	A	CD14+ моноцити крові	0,1981	0,00354
<i>PCED1B</i>	12	G	НК-клітини крові	0,132926	0,00394
<i>AC008083.3</i>	12	G	CD4+ Т-клітини крові	0,158868	0,00503
<i>PCED1B</i>	12	G	CD8+ Т-клітини крові	0,133375	0,00514

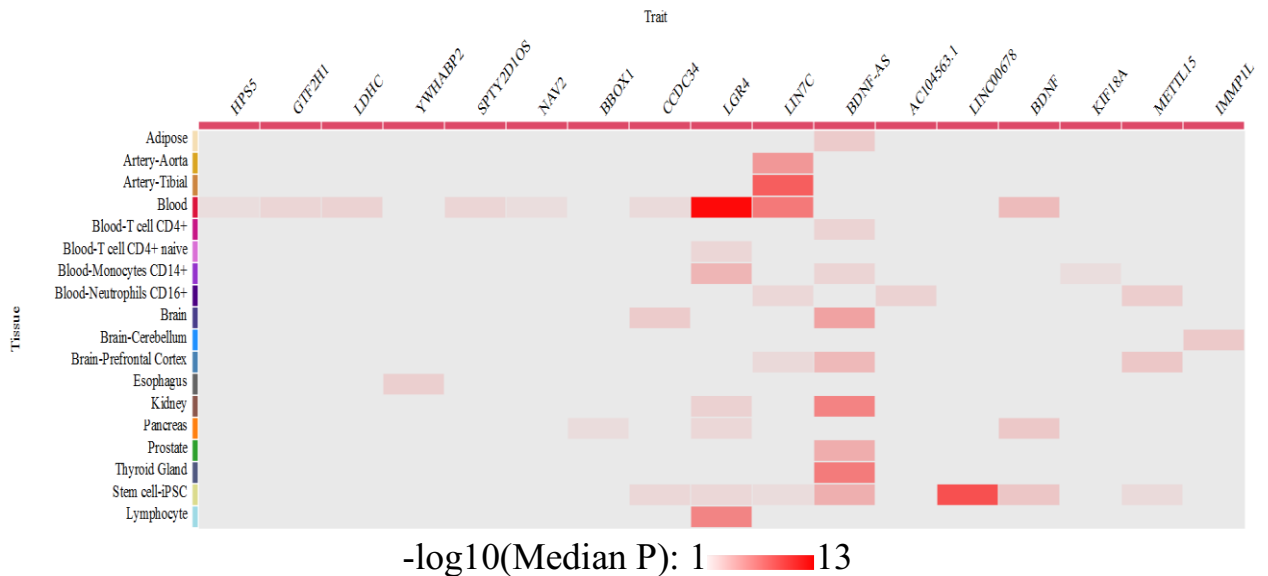
Продовження таблиці 3.28

1	2	3	4	5	6
<i>PFKM</i>	12	G	Жирова тканина	0,207704	0,00521
<i>AC004241.1</i>	12	A	CD16+ нейтрофіли крові	0,0405	0,00641
<i>LINC02416</i>	12	G	B-лімфоцити крові	0,145428	0,00664
<i>ASB8</i>	12	G	Моноцити крові	-0,16431	0,00782
<i>AC121338.1</i>	12	A	CD4+ Т-клітини крові	2,582107	0,00982

Використовуючи базу даних «QTLbase» ми встановили статистично достовірні ( $p \leq 0,05$ ) асоціації rs6265 з експресією 17 генів (*BDNF-AS*, *BDNF*, *LDHC*, *AC104563.1*, *BBOX1*, *SPTY2D1OS*, *YWHABP2*, *LINC0* *IMMP1L*, *KIF18A*, *HPS5*, *NAV2*, *LGR4*, *CCDC34*) у різних тканинах (рис. 3.6А). Частина з них представлена в таблиці 3.27. Так, алель *T* rs6265 асоційований з підвищеною експресією гена *BDNF* у стовбурових клітинах ( $\beta=0,32$ ,  $p=1,89E-13$ ), зниженою експресією генів *BDNF* у підшлунковій залозі ( $\beta=-0,19$ ,  $p=0,00647$ ), *BDNF-AS* у ЩЗ ( $\beta=-0,28$ ,  $p=5,49E-09$ ), у мозку ( $\beta=-0,19$ ,  $p=0,0000563$ ), у нирках ( $\beta=-0,28$ ,  $p=1,17E-06$ ) та інших тканинах (табл. 3.28).

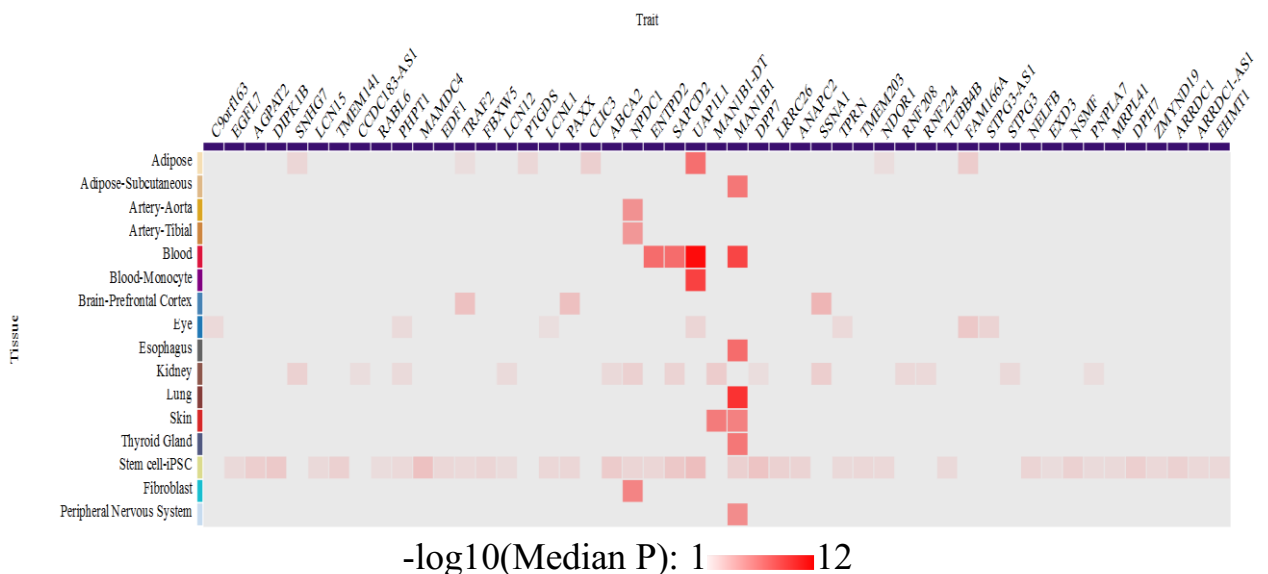
Для *NMDA* (rs4880213) нами було виявлено достовірну асоціацію з рівнем експресії 49 генів (*ARRDC1-AS1*, *TPRN*, *SSNA1*, *SAPCD2*, *UAP1L1*, *NPDC1*, *MAN1B1*, *PTGDS*, *SNHG7*, *NDOR1*, *TRAF2*, *PHPT1*, *EGFL7*, *EHMT1*, *RNF208*, *PNPLA7*, *LCNL1*, *DPP7*, *LCN12*, *STPG3*, *CCDC183-AS1*, *ABCA2*, *RNF224*, *ENTPD2*, *PAXX*, *CLIC3*, *C9orf163*, *LCN15*, *MAN1B1-DT*, *FAM166A*, *FAM166A*, *LRRC26*, *STPG3-AS1*, *AGPAT2*, *ANAPC2*, *DPH7*, *ZMYND19*, *NSMF*, *MRPL41*, *EXD3*, *TUBB4B*, *NELFB*, *ARRDC1*, *EDF1*, *FBXW5*, *DIPK1B*, *MAMDC4*, *RABL6*, *TMEM141*, *TMEM203*) у 16 різних тканинах (рис. 3.6В, див. табл. 3.28). Наприклад, алель *T* rs4880213 асоційований з індукцією

транскрипційної активності гена *MAN1B1* в ЦЗ ( $\beta=0,16$ ,  $p=8,35E-07$ ), периферичній нервовій системі ( $\beta=0,15$ ,  $p=8,99E-06$ ), генів *SAPCD2* ( $\beta=0,29$ ,  $p=2,22E-07$ ) та *ENTPD2* ( $\beta=0,28$ ,  $p=2,36E-07$ ) у крові. Водночас, алель *T* rs4880213 асоційований з транскрипційною репресією генів *NPDC1* у фіброблестах ( $\beta=-0,16$ ,  $p=3,48E-06$ ) та в судинах ( $\beta=-0,19$ ,  $p=1,59E-05$ ), *FAM166A* в очах ( $\beta=-0,09$ ,  $p=0,00814$ ) (див. табл. 3.28).



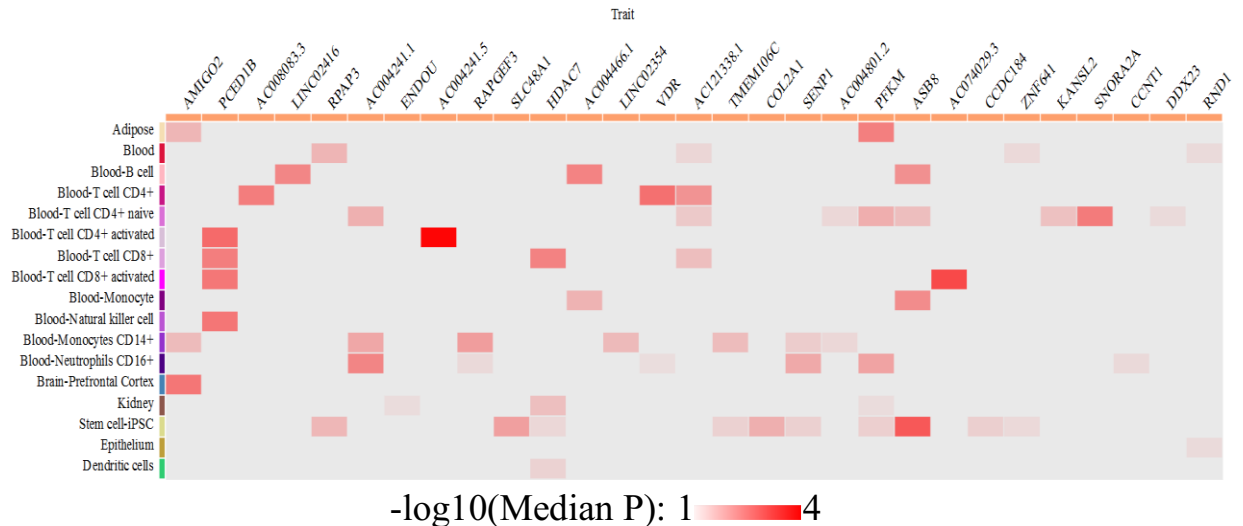
A. Огляд впливу на експресію в тканинах для rs6265 (область +/- 10M).

18 тканин, 17 ознак, 1581 асоціація, 72 цис-, 1509 транс-варіантів.



B. Огляд впливу на експресію в тканинах для rs4880213 (+/- 10M регіон).

16 тканин, 49 ознак, 137 асоціацій, 137 цис-, 0 транс-варіантів.



С. Огляд впливу на експресію в тканинах для rs2228570 (+/- 10М регіон).

17 тканин, 29 ознак, 77 асоціацій, 77 цис-, 0 транс-варіантів.

Рисунок 3.6 (А-В-С) – Графік теплової карти (тканини vs. гени) візуалізує розподіл пов'язаних молекулярних ознак між типами тканин/клітин. Кожен рядок зображає окремий тип тканини/клітини, кожен стовпець представляє пов'язану з eQTL ознаку (гени). Колір сітки представляє середнє Р-значення eQTL для певної тканини та ознаки

Також ми виявили статистично достовірні ( $p \leq 0,05$ ) асоціації *VDR* (rs2228570) з експресією 29 генів (*ASB8*, *TMEM106C*, *KANSL2*, *DDX23*, *CCNT1*, *HDAC7*, *RPAP3*, *PFKM*, *SENP1*, *RND1*, *PCED1B*, *AC004466.1*, *AMIGO2*, *ZNF641*, *ENDOU*, *RAPGEF3*, *VDR*, *AC004241.1*, *AC004801.2*, *AC121338.1*, *LINC02354*, *SNORA2A*, *LINC02416*, *AC074029.3*, *AC004241.5*, *AC008083.3*, *COL2A1*, *CCDC184*, *SLC48A1*) у 17 різних тканинах (хоча найвираженіші зміни транскрипційної активності спостерігалися у клітинах крові) (рис. 3.6С, див. табл. 3.28). Вплив на експресію чинять як алель *A*, так і алель *G* rs2228570 (табл. 3.27). Так, алель *A* rs2228570 асоційований з підвищеною експресією гена *VDR* у CD4<sup>+</sup> Т-клітинах крові ( $\beta=2,93$ ,  $p=0,00336$ ), гена *RAPGEF3* у CD14<sup>+</sup> моноцитах крові ( $\beta=0,20$ ,  $p=0,00354$ ), а алель *G* rs2228570 викликає транскрипційну індукцію генів *HDAC7* в CD8<sup>+</sup>Т-клітинах крові ( $\beta=0,14$ ,  $p=0,000429$ ) і *PCED1B* в активованих CD4<sup>+</sup> Т-клітинах крові ( $\beta=0,09$ ,  $p=0,00271$ ) (див. табл. 3.28).

Використання ще однієї бази – GTExPortal (<https://gtexportal.org/home/>) – дозволяє додатково графічно візуалізувати вплив окремих алелів на експресію різних генів за допомогою онлайн-інструмента eQTL Dashboard (рис. 3.7).

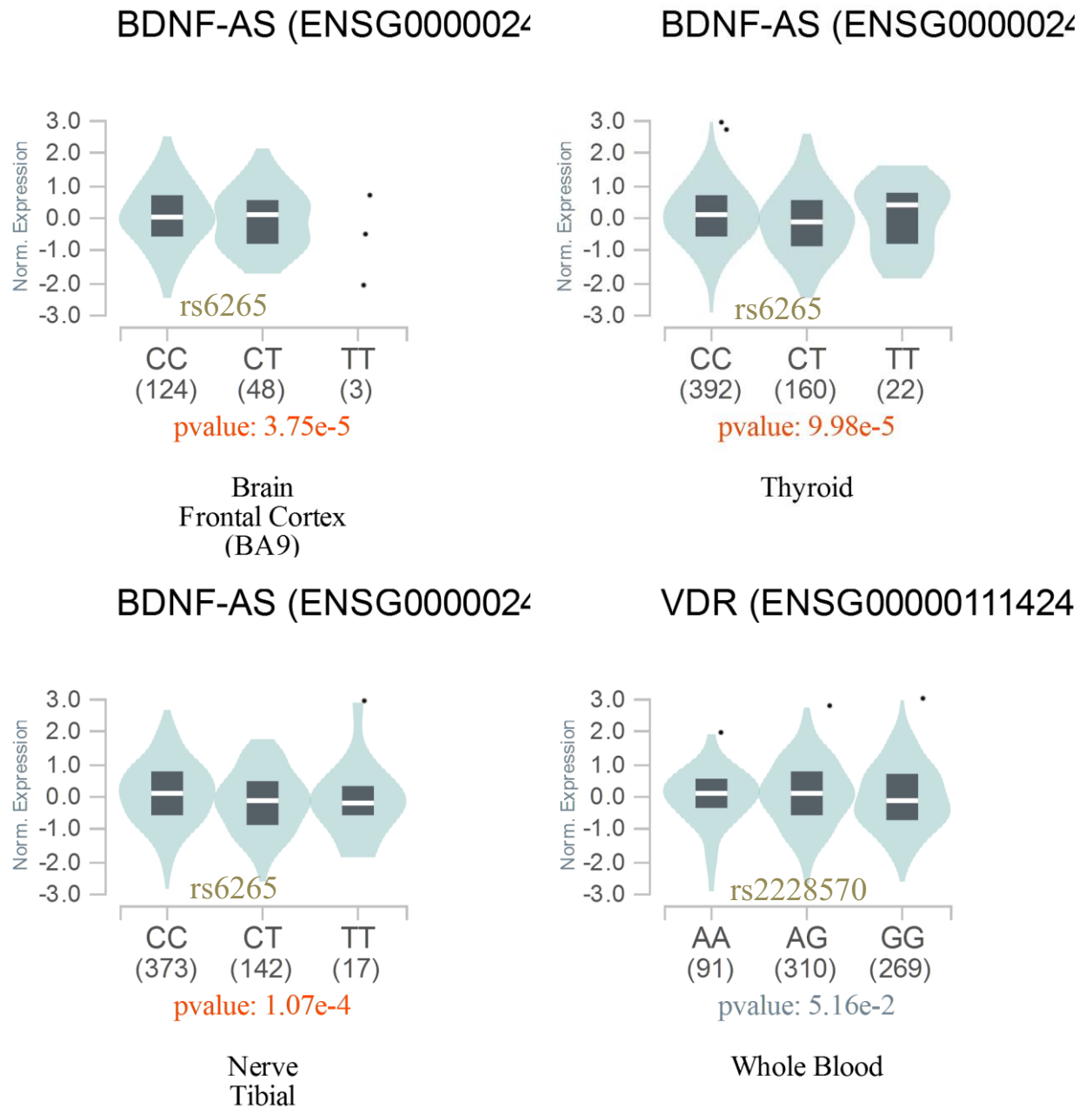


Рисунок 3.7 – Вплив поліморфізмів rs6265 і rs2228570 на транскрипційну активність генів BDNF-AS і VDR у різних тканинах (<http://www.gtexportal.org/>)

### *Висновки*

1. Перебіг гіпотиреозу (ПОГ, АІТ) супроводжується зниженням у сироватці крові рівнів BDNF у 3,34 і 3,15 раза, T4 – у 2,6 і 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) та різноспрямованими змінами концентрації GRIN2B: зменшенням у хворих на ПОГ у 3,45 раза ( $p < 0,001$ ) і зростанням у пацієнтів із АІТ на тлі гіпотиреозу – в 1,58 раза ( $p < 0,001$ ). Також установили зниження вмісту 25(OH)D – у 1,8-2,03 раза ( $p < 0,001$ ).

2. Парестезії, оніміння та болі в кінцівках, а також порушення чутливості за поліневритичним типом спостерігались у 78,7 % пацієнтів із ПОГ та 72,3 % пацієнтів із АІТ з Г. Вегетативні розлади проявлялися сухістю шкіри, негрубим акрогіпергідрозом та акроціанозом. Псевдобульбарні порушення були виявлені у 36,2 % пацієнтів із ПОГ та 38,5 % пацієнтів із АІТ із гіпотиреозом. Легкі окорухові порушення виявлені у 67 % пацієнтів із ПОГ та 64,4 % пацієнтів із АІТ з Г, а вестибуломозочкові – у 44,6 % пацієнтів із ПОГ та 42,9 % пацієнтів із АІТ з Г.

3. Патологія ЩЗ асоціює із розвитком депресивних станів та підвищеного рівня тривожності: за гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г) домінує депресія помірної тяжкості за PHQ-9 (54,3 % і 62,9 %) із середньою і помірною тривожністю на паритетних засадах за GAD-7, тоді як за ізольованого АІТ – депресія відсутня майже у половини обстежених (44,3 %), чи має легкий перебіг (39,6 %) із мінімальною, чи помірною рівня тривожністю (11,3 % і 84,9 % проти 3,8 %,  $p < 0,001$ ) відповідно.

4. Когнітивні порушення за результатами MMSE тесту (переддементні, чи легку деменцію) встановили майже у половини хворих на гіпотиреоз (ПОГ, АІТ з Г), що було у 3,5 раза частіше, аніж у таких із АІТ без гіпотиреозу (50,22 % проти 14,2 %,  $p < 0,001$ ), де спостерігали переважно збережену когніцію (85,8 %), чи переддеменцію (14,2 %).



5. У хворих на тиреоїдну патологію мешканців Північної Буковини мутації генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у гомозиготному стані зустрічаються із частотою 6,54 %, 19,61 % і 21,57 % відповідно, що не відрізняється статистично значимо від групи контролю. У всіх групах домінують дикі алелі аналізованих генів: *C*-алель гена *BDNF* (rs6265) ( $P_C=0,81$  проти  $P_T=0,19$ ,  $p<0,001$ ), *A*-алель гена *VDR* (rs2228570) ( $P_A=0,59$  проти  $P_G=0,41$ ,  $p=0,011$ ), *C*-алель гена *NMDA* (rs4880213) ( $P_C=0,55$  проти  $P_T=0,45$ ,  $p>0,05$ ). Отриманий алельний розподіл відповідає такому в європеїдних популяціях і не відхиляється від закону популяційної рівноваги *Hardy-Weinberg*. Тиреоїдна патологія в обстежених хворих з урахуванням аналізованих генів успадковується за аутосомно-рецесивним типом із інформаційним критерієм Акайке 14,49-16,39.

6. Відносна частота поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) між здоровими та хворими з урахуванням виду досліджуваної патології ЩЗ (ПОГ, АІТ з Г та АІТ) вірогідно не відрізняється.

7. Епідеміологічний аналіз не підтвердив поєднання генотипів аналізованих генів в якості факторів ризику появи ПОГ, АІТ з Г та АІТ в обстеженій популяції. Більшість обстежених були носіями комбінації сприятливих диких алелей генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213): *CC / AG / CT* (16,99 %), *CC / AA / CC* (10,46 %), чи *CC / AA / CT* (10,46 %), решта комбонувань зустрічались у поодиноких випадках. Комплексування мутаційних алелей трьох генів у гомозиготному стані не встановили. Однак, комбінація мінорних алелей у гетеро- і/чи гомозиготному вигляді (*CT / GG / CT*, чи *CT / AG / CT*, чи *CT / AG / TT*) асоціює у хворих із низькою ймовірністю розвитку клінічно значимої тривожності (помірнотяжка ступінь) [ $OR=0,1233$ ; 95 %  $CI\ OR:0,0197-0,7730$ ;  $p=0,0344$ ], без впливу на появу депресивних станів, та підвищує ризик появи когнітивних порушень

у понад 5-10 разів, особливо за гомозиготної мутації гена *NMDA* (OR=5,1915-10,1224; 95 % CI OR:1,1037-92,8401;  $p=0,0214-0,0281$ ). Натомість поєднання диких алелей у гомо- і /чи гетерозиготному стані, особливо генів *BDNF* і *NMDA* (*CC / AG / CC*) вірогідно зменшує ризик розвитку когнітивних порушень (OR=0,1410; 95 % CI OR:0,0181-1,0965;  $p=0,0416$ ).

8. Пошук локусів кількісних ознак експресії (eQTL) для SNP генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) засвідчив вагомий тканиноспецифічний компонент цис-регуляції. Ген *BDNF* (rs6265) пов'язаний з експресією 17 генів у різних тканинах; *T* алель гена *BDNF* (rs6265) асоціює з підвищеною експресією *BDNF* у стовбурових клітинах ( $\beta=0,32$ ,  $p=1,89E-13$ ), зниженою – у підшлунковій залозі, ЩЗ, мозку, нирках, жировій тканині, простаті, CD4<sup>+</sup> Т-клітинах крові, CD14<sup>+</sup> моноцитах крові ( $\beta=-0,04/-2,20$ ;  $p<0,001$ ).

Алелі гена *VDR* (rs2228570) асоціюють з експресією 29 генів у 17 різних тканинах (переважно в клітинах крові): *A* алель (rs2228570) пов'язаний з підвищеною експресією *VDR* у CD4<sup>+</sup> Т-клітинах крові ( $\beta=2,93$ ;  $p=0,003$ ), індукує ген *RAPGEF3* у CD14<sup>+</sup> моноцитах крові ( $\beta=0,20$ ;  $p=0,004$ ), а *G* алель викликає транскрипційну індукцію генів *HDAC7* у CD8<sup>+</sup> лімфоцитах ( $\beta=0,14$ ;  $p<0,001$ ) і *PCED1B* в активованих CD4<sup>+</sup> лімфоцитах крові ( $\beta=0,09$ ;  $p=0,003$ ).

SNP гена *NMDA* (rs4880213) взаємодіє з 49 генами в 16 різних тканинах організму: *T*-алель індукує транскрипційну активність генів *MAN1B1* у ЩЗ і периферичній нервовій системі ( $\beta=0,16$  і  $\beta=0,15$ ;  $p<0,001$ ), а *SAPCD2* і *ENTPD2* – у крові ( $\beta=0,28$  і  $\beta=0,29$ ;  $p<0,001$ ), репресуючи натомість транскрипційну активність генів *NPDC1* у фібробластах і судинах ( $\beta=-0,16$  і  $\beta=-0,19$ ;  $p<0,001$ ), *FAM166A* – в очах ( $\beta=-0,09$ ;  $p=0,008$ ).

Наведені в розділі результати опубліковані в наукових працях автора [1, 2, 50, 51, 53, 54, 246, 247, 248].

**РОЗДІЛ 4**  
**ОКРЕМІ ГУМОРАЛЬНІ МАРКЕРИ НЕЙРОТРАНСМІСІЇ ТА**  
**ГОРМОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ**  
**ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ *BDNF* (rs6265),**  
***VDR* (rs2228570) ТА *NMDA* (rs4880213)**

4.1 Зв'язок вмісту BDNF у сироватці крові з поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265) у пацієнтів з патологією щитоподібної залози

BDNF є важливим білком, який грає ключову роль у розвитку та функціонуванні нервової системи, зокрема в процесах навчання та пам'яті та безпосередньо регулюється гормонами ЩЗ [222, 439]. Окрім того, BDNF, що експресується в мозку, бере участь у розвитку психічних розладів. Рівень BDNF може бути зв'язаний з ризиком розвитку деяких психічних розладів, таких як шизофренія та біполярний розлад [409]. Дослідження показують, що периферичний рівень BDNF потенційно може використовуватися як маркер цих захворювань у людей [409]. Зважаючи на важливу роль BDNF кілька досліджень продемонстрували взаємозв'язок між рівнями BDNF і функцією ЦНС та периферичної нервової системи [526]. Крім того, інші дослідження показали, що периферичний рівень BDNF може бути знижений у пацієнтів з депресивним розладом [24].

Враховуючи важливу роль BDNF у мозку можна припустити, що зміни в експресії BDNF лежать в основі деяких стійких психоневрологічних порушень, пов'язаних із тиреоїдною патологією.

У нашій роботі ми визначали рівні BDNF у сироватці крові. Результати цього визначення у пацієнтів з різною патологією ЩЗ залежно від генотипу *BDNF* (rs6265) наведені в таблиці 4.1.

Згідно з результатами нашого дослідження відмічається вірогідне зниження BDNF у сироватці крові у пацієнтів дослідної групи, порівняно з контролем. Так, рівень BDNF у сироватці крові у носіїв *CC* генотипу

дослідної групи був вірогідно нижчим в 1,72 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з контрольною групою. У носіїв *CT* та *TT* генотипів дослідної групи рівень BDNF був знижений в 1,86 ( $p = 0,0105$ ) та 1,65 ( $p = 0,0119$ ) раза відповідно (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Рівні BDNF у пацієнтів з різною патологією щитоподібної залози залежно від генотипу *BDNF* (rs6265)

Рівень <i>BDNF</i> , пг/мл ( $M \pm m$ )						
Генотипи <i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	P5	P6	P7
Контрольна група	1189,0 ± 343,78	859,6 ± 220,1	574,8 ± 120,1	0,0365	<0,001	0,044
Дослідна група	692,1 ± 478,26	461,91 ± 373,3	347,96 ± 210,0	0,067	0,005	0,299
P1	<0,001	0,0105	0,0119			
ПОГ	386,5 ± 98,24	241,85 ± 21,72	179,8 ± 4,17	0,007	0,001	0,008
P1	<0,001	0,0031	0,0064			
P2	0,131	0,92	0,3146			
АІТ з Г	555,64 ± 372,75	244,69 ± 84,89	171,63 ± 10,35	0,008	0,002	0,018
P1	<0,001	0,0025	<0,001			
P3	<0,001	<0,001	0,00143			
АІТ	1367,19 ± 294,62	1006,86 ± 209,91	564,29 ± 73,35	0,037	<0,001	0,002
P1	0,277	0,291	0,797			
P4	0,00024	0,0003	0,0017			
Примітка 1. Статистична значущість відмінностей; $p < 0,05$ .						
Примітка 2. P1 – р-значення між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – р-значення між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – р-значення між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – р-значення між групами ПОГ та АІТ; P5 – р-значення між генотипами <i>CC</i> і <i>CT</i> ; P6 – р-значення між генотипами <i>CC</i> і <i>TT</i> ; P7 – р-значення між генотипами <i>CT</i> і <i>TT</i> .						

При аналізі рівнів BDNF у сироватці крові в пацієнтів залежно від патології ЩЗ виявлено суттєве зниження цього показника в пацієнтів з ПОГ та АІТ з гіпотиреозом у носіїв усіх генотипів *BDNF* (rs6265), порівняно з контрольною групою (табл. 4.1). Так, у носіїв генотипу *CC* у пацієнтів 1 групи з ПОГ рівень BDNF був у 3,07 раза нижче, ніж у контрольній групі ( $p < 0,001$ ). Згідно з даними нашого дослідження, рівень BDNF у сироватці крові був нижчим у 3,55 ( $p = 0,0031$ ) та в 3,2 ( $p = 0,0064$ ) раза в носіїв *CT* та *TT* генотипів цієї групи відповідно, порівняно з контрольною групою.

У групі хворих на АІТ з гіпотиреозом рівень BDNF у сироватці крові також був нижчим у 2,14 раза в носіїв *CC* генотипу. Також ми виявили зниження рівня BDNF у носіїв *CT* та *TT* генотипів у 3,51 ( $p < 0,001$ ) та в 3,34 ( $p < 0,001$ ) раза відповідно.

Хоча рівні BDNF були низькими як у групах ПОГ, так і в групах АІТ з гіпотиреозом, вірогідної різниці між цими групами виявлено не було. Отже, рівні BDNF у сироватці крові були знижені в хворих на гіпотиреоз, незалежно від його причини (автоімунної або післяопераційної) і генотипів, порівняно з контрольною групою.

Найнижчим був рівень BDNF у носіїв генотипу *TT* у всіх групах пацієнтів, порівняно з носіями генотипу *CC* (табл. 4.1). Так, аналіз рівня BDNF у сироватці крові залежно від генотипів *BDNF* (rs6265), показав, що в групі контролю рівень BDNF був найнижчим у носіїв генотипу *TT* – у 2,06 раза порівняно з носіями генотипу *CC* ( $p < 0,001$ ) (табл. 4.2). Крім того, спостерігалось зниження рівня BDNF у носіїв генотипу *TT* у пацієнтів 1 групи з ПОГ у 2,15 раза ( $p = 0,0014$ ); при АІТ з гіпотиреозом – в 3,24 раза ( $p = 0,002$ ); і при АІТ – у 2,42 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з пацієнтами з генотипом *CC*. Таким чином, результати вказують на те, що в носіїв генотипу *TT* значно знижений рівень BDNF, особливо на фоні патології ЩЗ.

Порівняльний аналіз рівнів BDNF у хворих на АІТ з гіпотиреозом та АІТ показує, що він був значно нижчим у хворих на АІТ з гіпотиреозом у носіїв усіх генотипів. Так, рівень BDNF у носіїв генотипу *CC* серед хворих на

АІТ з гіпотиреозом був знижений у 2,46 рази ( $p < 0,001$ ), порівняно з носіями генотипу *CC* з АІТ. Крім того, серед носіїв генотипів *CT* і *TT* ці рівні BDNF були значно знижені – в 4,11 ( $p < 0,001$ ) і 3,29 ( $p = 0,00143$ ) рази відповідно. Отже, цілком імовірно, що рівні гормонів ЩЗ мають більший вплив на BDNF, ніж рівні АТПО і АТТГ.

У хворих на АІТ рівні BDNF істотно не відрізнялися від показників контрольної групи, але при вивченні кореляції між рівнями BDNF і генотипами rs6265 виявлено, що в осіб із генотипами *TT* рівні BDNF були значно нижчими, порівняно з особами з генотипами *CT* і *CC*.

Таблиця 4.2 – Поліморфні варіанти гена *BDNF* (rs6265) як фактори ризику зниження рівня BDNF

Генотипи гена <i>BDNF</i>		RelR	OR	95 % CI RR	95 % CI OR	P
Рівень BDNF менше 500 пг/мл	<i>CC</i>	0,208	0,1	[0,03; 1,33]	[0,002; 0,9159]	0,021
	<i>CT</i>	1,53	5,08	[1,038; 2,25]	[0,55; 251]	0,223
	<i>TT</i>	1,21	–	[1,038; 1,4]	–	0,076
	<i>CT+TT</i>	2,187	9,98	[1,35; 3,55]	[1,09; 493]	0,021
Рівень BDNF 500–1000 пг/мл	<i>CC</i>	0,225	0,131	[0,033; 1,54]	[0,002; 1,78]	0,13
	<i>CT</i>	1,125	1,92	[0,77; 1,74]	[0,08; 134]	1
	<i>TT</i>	1,5		[0,945; 2,38]		0,023
	<i>CT+TT</i>	1,968	7,63	[0,906; 4,27]	[0,56; 459]	0,13
Примітка. RelR (relative risk) – відносний ризик; OR (Odds Ratio) – коефіцієнт шансів; 95 % ДІ RR, OR (confidence interval) – довірчий інтервал ризику (RR), шансів (OR).						

Як показано в таблиці 4.2, носійство алеля *C* є захисним і значно знижує ймовірність зниження рівня BDNF у сироватці крові пацієнтів з патологією ЩЗ в обстеженій популяції [OR=0,1; 95 % SI OR: 0,002; 0,9159;  $p=0,021$ ]. Разом з тим, носійство Т-алеля збільшує ризик низького рівня BDNF при патології ЩЗ майже в 10 разів [OR=9,98;  $p < 0,05$ ].

Аналіз кореляції між рівнями BDNF і рівнями ТТГ, Т4, АТТГ і АТПО показує значну зворотну залежність між рівнями BDNF і ТТГ ( $r=-0,69$ ;  $p<0,001$ ), пряму кореляцію між рівнями BDNF і вТ4 у крові ( $r=0,68$ ;  $p<0,001$ ) і слабкий прямий взаємозв'язок між рівнями АТТГ і BDNF ( $r=0,32$ ;  $p=0,0157$ ). Крім того, ми виявили значну пряму кореляцію між рівнями АТПО і АТТГ ( $r=0,62$ ;  $p<0,001$ ) і сильну зворотну кореляцію між рівнями ТТГ і вТ4 ( $r=-0,96$ ;  $p<0,001$ ) (рис. 4.1).

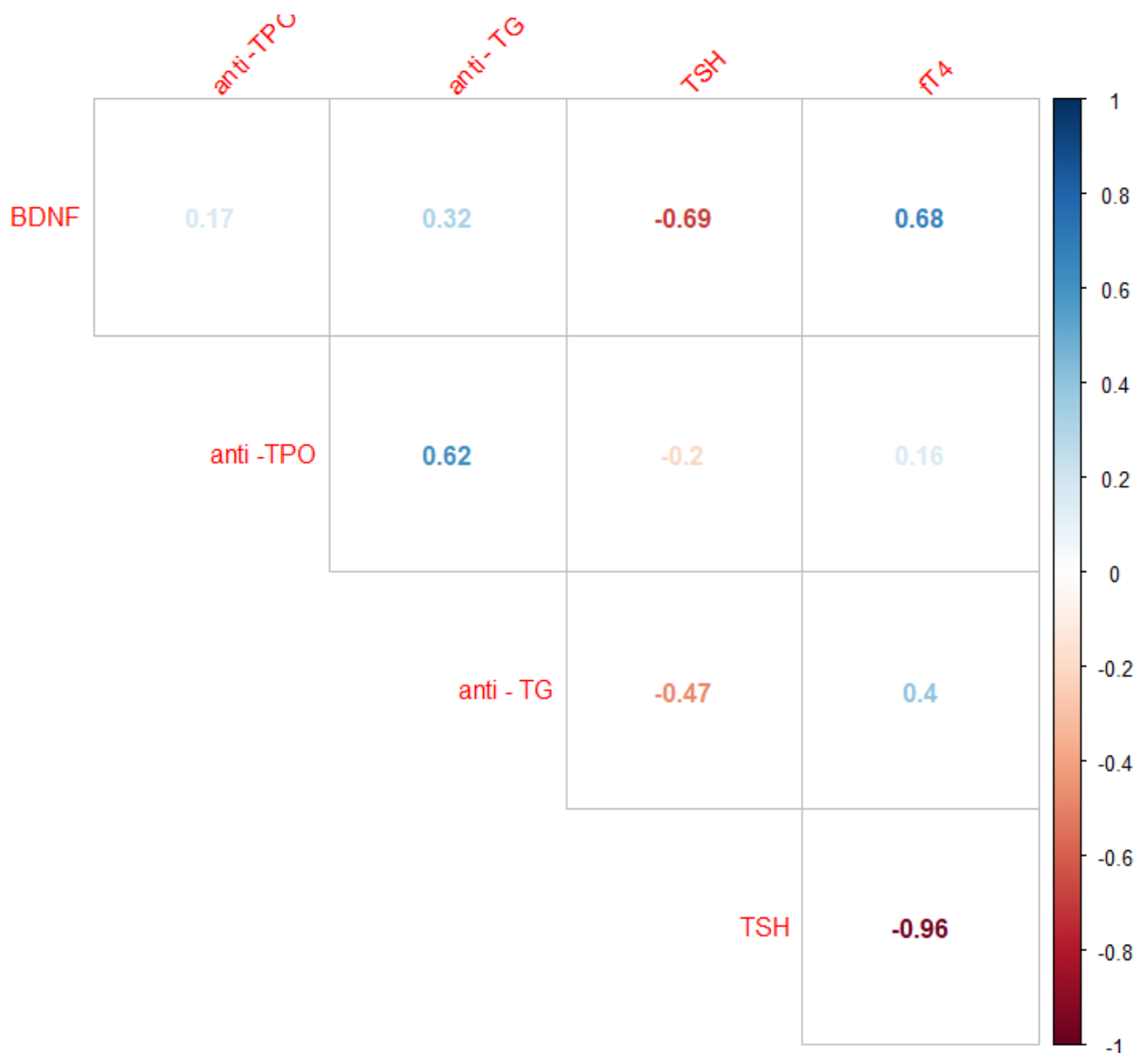


Рисунок 4.1 – Кореляція між рівнями гормонів та білків у групі дослідження

#### 4.2 Зв'язок 25(OH)D у сироватці крові з поліморфізмом гена *VDR* (rs2228570) у хворих з патологією щитоподібної залози

У нашій роботі ми визначали рівні 25(OH)D у сироватці крові. Результати цього визначення в пацієнтів із різною патологією ЩЗ залежно від генотипу *VDR* (rs2228570) наведені в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 – Рівні 25(OH)D у групах пацієнтів з різною патологією щитоподібної залози залежно від генотипу *VDR* (rs2228570)

Рівень 25(OH)D, (нг/мл) (M±m)						
Генотипи <i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>	P5	P6	P7
Контрольна група	36,0 ± 5,05	39,11 ± 6,92	43,43 ± 6,27	0,29	0,026	0,21
Дослідна група	20,35 ± 3,28	20,56 ± 3,29	20,03 ± 2,74	0,73	0,625	0,416
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
ПОГ	19,43 ± 2,07	21,5 ± 2,88	22,0 ± 5,29	0,17	0,49	0,889
P1	<0,001	<0,001	<0,0035			
P2	0,322	0,175	0,431			
АІТ з Г	18,35 ± 3,18	19,55 ± 3,27	19,0 ± 2,49	0,197	0,5254	0,5568
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
P3	0,0003	0,0138	0,121			
АІТ	21,8 ± 2,86	21,68 ± 3,08	20,47 ± 2,17	0,87	0,083	0,153
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
P4	0,0256	0,89	0,667			
Примітка 1. Статистична значущість відмінностей; p<0,05. Примітка 2. P1 – р-значення між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – р-значення між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – р-значення між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – р-значення між групами ПОГ та АІТ; P5 – р-значення між генотипами <i>AA</i> і <i>AG</i> ; P6 – р-значення між генотипами <i>AA</i> і <i>GG</i> ; P7 – р-значення між генотипами <i>AG</i> і <i>GG</i> .						



Рівень 25(OH)D у всіх групах пацієнтів був значно нижчим, порівняно з контрольною групою (див. табл. 4.3). У досліджуваній групі спостерігалось значне зниження рівня 25(OH)D у носіїв генотипів *AA* та *AG* на 43,5 % та 47,4 % відповідно, порівняно з контрольною групою. Так само у носіїв генотипу *GG* досліджуваної групи рівень 25(OH)D був знижений на 53,9 %, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,001$ ).

Аналіз рівня 25(OH)D у сироватці крові залежно від генотипів *VDR* (rs2228570) показав, що в групі контролю рівень 25(OH)D був найнижчим у носіїв генотипу *AA* – на 17,1 % порівняно з носіями генотипу *GG* ( $p = 0,026$ ) (див. табл. 4.3).

У групі хворих на ПОГ рівень 25(OH)D був суттєво нижчим у носіїв усіх генотипів: *AA*, *AG*, та *GG* (відповідно на 46 %, 45 % та 49,3 %), порівняно з контрольною групою ( $p < 0,001$ ). Водночас у групі хворих на ПОГ не було виявлено достовірних відмінностей у рівнях 25(OH)D між генотипами *AA*, *AG* або *GG*.

У групі пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним АІТ, рівні 25(OH)D були істотно нижчими у носіїв генотипів *AA*, *AG* і *GG* відповідно в 1,96, 2 і 2,28 рази, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,001$ ).

У групі хворих на АІТ рівні 25(OH)D також були значно нижчими, порівняно з контрольною групою (у носіїв генотипу *AA* – 39,4 %; *AG* – 44,5 %; *GG* – 52,8 %) ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 4.3).

Порівняльний аналіз рівнів 25(OH)D між групами хворих на АІТ з гіпотиреозом та АІТ свідчить, що вони були значно нижчими у хворих на АІТ з гіпотиреозом у носіїв генотипів *AA* і *AG*. Так, вміст 25(OH)D у носіїв генотипу *AA* з гіпотиреозом, викликаним АІТ, був на 15,8 % нижчим, порівняно з носіями генотипу *AA* у хворих з АІТ ( $p = 0,0003$ ). Крім того, у носіїв генотипу *AA* з ПОГ рівні 25(OH)D також були значно знижені (на 18,8 %,  $p = 0,0256$ ), порівняно з носіями генотипу *AA* у пацієнтів з АІТ. Отже, у носіїв генотипу *AA* з гіпотиреозом, незалежно від його причини

(автоімунної чи післяопераційної), рівні 25(OH)D були значно нижчими, ніж у носіїв генотипу *AA* без гіпотиреозу.

Варіанти генотипу *VDR* rs2228570 не є факторами ризику зниження рівня 25(OH)D у сироватці крові або його дефіциту (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 – Генотипи *VDR* (rs2228570) як фактори ризику зниження 25(OH)D у сироватці крові

<i>VDR</i> (rs2228570)		RelR	OR	95 % CI RR	95 % CI OR	P
25(OH)D <20 нг/мл (дефіцит 25(OH)D)	<i>AA</i>	0,95	0,867	[0,674; 1,343]	[0,294; 2,66]	0,804
	<i>AG</i>	0,64	1,34	[0,778; 1,62]	[0,466; 4,055]	0,631
	<i>GG</i>	0,95	0,82	[0,714; 1,26]	[0,256; 2,82]	0,785
25(OH)D= 20–30 нг/мл	<i>AA</i>	1,09	1,24	[0,769; 1,548]	[0,45; 3,65]	0,814
	<i>AG</i>	1,09	1,24	[0,769; 1,548]	[0,45; 3,65]	0,814
	<i>GG</i>	0,87	0,54	[0,667; 1,136]	[0,169; 1,858]	0,26

Примітка. RelR (relative risk) – відносний ризик; OR (Odds Ratio) – коефіцієнт шансів; 95 % ДІ RR, OR (confidence interval) – довірчий інтервал ризику (RR), шансів (OR).

Кореляційний аналіз між рівнями 25(OH)D і ТТГ, вТ4, АТПО і АТТГ показав незначну пряму залежність ( $r=0,25$ ) між рівнями 25(OH)D і ТТГ ( $p<0,001$ ), зворотну кореляцію ( $r=-0,24$ ) між рівнями 25(OH)D і Т4 у крові ( $p<0,001$ ) та слабку пряму залежність ( $r=0,26$ ) між рівнями АТТГ і вітаміну D ( $p=0,0157$ ). Крім того, ми виявили значну пряму кореляцію між рівнями АТПО та АТТГ ( $p<0,001$ ).

#### 4.3 Зв'язок BDNF у сироватці крові з поліморфізмом гена *VDR* (rs2228570) у хворих з патологією щитоподібної залози

Ми проаналізували рівні BDNF у пацієнтів з різною патологією ЩЗ залежно від генотипу *VDR* rs2228570 (табл. 4.5).

Наше дослідження виявило достовірне зниження рівня BDNF у дослідній групі в носіїв генотипів *AA* і *AG* у 1,58 ( $p=0,038$ ) і 2,39 ( $p=0,002$ )

раза відповідно, порівняно з носіями генотипів *AA* та *AG* контрольної групи (табл. 4.5). Водночас, значущої різниці в рівні BDNF між різними генотипами *VDR* rs2228570 у дослідній групі не виявлено.

Таблиця 4.5 – Рівень BDNF у пацієнтів з різною патологією щитоподібної залози залежно від генотипу *VDR* (rs2228570)

Рівень BDNF, пг/мл (M±m)						
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>	P5	P6	P7
Контроль- на група	1006,82 ± 341,62	1134,5 ± 357,83	945,8 ± 439,77	0,51	0,8	0,45
Дослідна група	637,51 ± 490,75	474,98 ± 351,38	480,69 ± 363,58	0,193	0,3034	0,96
P1	0,038	0,002	0,081			
ПОГ	292,67 ± 127,42	289,02 ± 75,12	373,47 ± 139,71	0,95	0,45	0,45
P1	<0,001	<0,001	0,041			
P2	0,0559	0,171	0,958			
АІТ з Г	351,74 ± 265,58	434,75 ± 339,24	363,27 ± 380,11	0,51	0,95	0,72
P1	0,0014	0,0012	0,056			
P3	<0,001	0,136	0,09			
АІТ	1085,4 ± 425,31	897,3 ± 355,98	935,05 ± 237,52	0,484	0,539	0,896
P1	0,672	0,391	0,96			
P4	<0,001	0,093	0,135			
Примітка 1. Статистична значущість відмінностей; p<0,05. Примітка 2. P1 – р-значення між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – р-значення між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – р-значення між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – р-значення між групами ПОГ та АІТ; P5 – р-значення між генотипами <i>AA</i> і <i>AG</i> ; P6 – р-значення між генотипами <i>AA</i> і <i>GG</i> ; P7 – р-значення між генотипами <i>AG</i> і <i>GG</i> .						

При проведенні порівняльного аналізу вмісту BDNF у носіїв різних генотипів залежно від патології ЩЗ найнижчі показники виявлені в групі

пацієнтів із ПОГ. Так, у пацієнтів з генотипом *AA* в групі пацієнтів з ПОГ рівень BDNF був значно нижчим – у 3,44 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з носіями генотипу *AA* в контрольній групі та в пацієнтів з генотипами *AG* і *GG* рівень BDNF був знижений в 3,92 ( $p < 0,001$ ) і 2,53 ( $p < 0,001$ ) раза відповідно.

При обстеженні пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом рівень BDNF у носіїв генотипу *AA* був знижений в 2,86 ( $p = 0,0014$ ) раза в порівнянні з носіями генотипу *AA* в контрольній групі. Серед носіїв генотипу *AG* рівень BDNF був значно нижчим у 2,6 раза ( $p = 0,0012$ ), порівняно з контрольною групою. У носіїв генотипу *GG* пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом вміст BDNF достовірно не відрізнявся від контрольної групи.

У пацієнтів з АІТ не спостерігалось суттєвих змін рівня BDNF, порівняно з контрольною групою, в носіїв усіх трьох генотипів.

Носії генотипу *AA* показали достовірне зниження рівня BDNF у пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом у 3,1 раза, порівняно з носіями генотипу *AA* в групі пацієнтів з АІТ ( $p < 0,001$ ). Крім того, в носіїв генотипу *AA* в групі пацієнтів з ПОГ рівень BDNF також був суттєво знижений в 3,7 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з носіями генотипу *AA* серед пацієнтів з АІТ. Однак при детальному аналізі вмісту BDNF між носіями *AA*, *AG* і *GG* у пацієнтів усіх трьох груп залежно від патології ЩЗ ми не виявили суттєвої різниці.

У нашому дослідженні ми з'ясували, що поліморфізм гена *VDR* (rs2228570) не є фактором ризику зниження рівня BDNF у сироватці крові (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 – Поліморфні варіанти гена *VDR* (rs2228570) як фактори ризику зниження рівня BDNF

<i>VDR</i> (rs2228570)		RelR	OR	95 %CI RR	95 %CI OR	P
BDNF рівень менше 500 пг/мл	<i>AA</i>	1,053	1,14	[0,6799; 1,63]	[0,3157; 4,3254]	1
	<i>AG</i>	1,053	1,14	[0,6799; 1,63]	[0,3157; 4,3254]	1
	<i>GG</i>	0,9211	0,7048	[0,6717; 1,2629]	[0,1577; 3,336]	0,734
Примітка. RelR (relative risk) – відносний ризик; OR (Odds Ratio) – коефіцієнт шансів; 95 % ДІ RR, OR (confidence interval) – довірчий інтервал ризику (RR), шансів (OR).						

Аналіз кореляції між рівнями BDNF і 25(OH)D показує помірну пряму залежність ( $r=0,4$ ) між BDNF і 25(OH)D ( $p=0,006$ ).

#### 4.4 Зв'язок GRIN2B у сироватці крові з поліморфізмом гена *NMDA* (rs4880213) у хворих з патологією щитоподібної залози

У наступних дослідженнях ми визначили рівень GRIN2B у сироватці крові (табл. 4.7). При аналізі рівнів GRIN2B у дослідній групі залежно від генотипів *NMDA* (rs4880213) виявлено, що показники вірогідно не відрізнялись від контролю.

Також було засвідчено, що рівні GRIN2B у пацієнтів різних груп значно відрізнялися залежно від патології ЩЗ (табл. 4.7).

При аналізі рівнів GRIN2B у сироватці крові в пацієнтів залежно від патології ЩЗ виявлено суттєве зниження цього показника в сироватці крові у пацієнтів з ПОГ у носії всіх генотипів *NMDA* (rs4880213), порівняно з контрольною групою (табл. 4.7). Так, у носіїв генотипу *CC* у пацієнтів 1 групи з ПОГ рівень GRIN2B був у 3,63 раза нижчим, ніж у контрольній групі ( $p=0,00019$ ). Згідно з даними нашого дослідження, рівень GRIN2B у сироватці крові був нижчим у 3,22 ( $p<0,001$ ) та в 3,65 ( $p<0,001$ ) раза в носіїв *CT* та *TT* генотипів цієї групи відповідно, порівняно з контрольною групою.

Порівняльний аналіз рівнів GRIN2B у пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом засвідчив, що він був значно вищим у носіїв усіх генотипів, порівняно з контрольною групою. Так, рівень GRIN2B у носіїв генотипу *CC* у хворих на АІТ з гіпотиреозом був підвищений у 1,65 раза ( $p<0,001$ ). Крім того, серед носіїв генотипів *CT* і *TT* рівні GRIN2B були підвищені в 1,52 ( $p<0,001$ ) і 1,66 раза ( $p<0,001$ ) відповідно.

При оцінці рівня GRIN2B у хворих на ПОГ та АІТ з гіпотиреозом також були виявлені статистично значущі відмінності. Так, у носіїв *CC* генотипу рівень GRIN2B у хворих на АІТ з гіпотиреозом був у 6,01 ( $p<0,001$ ) раза вищим, порівняно з носіями *CC* генотипу з ПОГ. Також серед носіїв

генотипів *CT* і *TT* хворих на АІТ з гіпотиреозом рівні GRIN2B були значно збільшені в 4,9 ( $p < 0,001$ ) і 6,05 ( $p < 0,001$ ) раза відповідно, порівняно з хворими на ПОГ. Отже, при АІТ з гіпотиреозом значно збільшується рівень GRIN2B у сироватці крові, в той же час засвідчено, що у хворих на ПОГ рівень GRIN2B вірогідно знижений.

Таблиця 4.7 – Рівень GRIN2B у пацієнтів з різною патологією щитоподібної залози залежно від генотипу *NMDA* (rs4880213)

Рівень GRIN2B, (нг/мл) (M±m)						
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	P5	P6	P7
Контрольна група (n=25)	6,11 ± 0,91	6,28 ± 0,72	6,21 ± 0,43	>0,05	>0,05	>0,05
Дослідна група (n=153)	7,45 ± 3,51	7,04 ± 2,89	6,01 ± 4,11	>0,05	>0,05	>0,05
P1	>0,05	>0,05	>0,05			
ПОГ (n=16)	1,68 ± 0,59	1,95 ± 0,334	1,702 ± 0,22	>0,05	>0,05	>0,05
P1	0,00019	<0,0001	<0,0001			
P2	<0,0001	<0,0001	<0,0001			
АІТ з Г (n=65)	10,11 ± 1,05	9,56 ± 0,95	10,3 ± 0,428	>0,05	>0,05	<0,05
P1	<0,0001	<0,0001	<0,0001			
P3	<0,0001	<0,0001	<0,0001			
АІТ (n=72)	5,85 ± 0,84	6,14 ± 0,59	6,06 ± 0,02	>0,05	>0,05	>0,05
P1	>0,05	>0,05	>0,05			
P4	0,00058	<0,0001	<0,0001			
Примітка 1. Статистична значущість відмінностей; $p < 0,05$ .						
Примітка 2. P1 – р-значення між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – р-значення між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – р-значення між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – р-значення між групами ПОГ та АІТ; P5 – р-значення між генотипами <i>CC</i> і <i>CT</i> ; P6 – р-значення між генотипами <i>CC</i> і <i>TT</i> ; P7 – р-значення між генотипами <i>CT</i> і <i>TT</i> .						

У пацієнтів, хворих на АІТ, носіїв усіх генотипів *NMDA* (rs4880213), рівень GRIN2B вірогідно не відрізнявся від показника контрольної групи.

Аналізуючи рівні GRIN2B у хворих на АІТ з гіпотиреозом і АІТ виявлено, що він був вірогідно вищим у пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом у носіїв усіх генотипів. Засвідчено, що в носіїв генотипу *CC* серед пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом рівень GRIN2B був підвищений у 1,73 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з носіями генотипу *CC*, хворими на АІТ. Ми встановили, що у носіїв генотипів *CT* і *TT* рівні GRIN2B були значно збільшені – в 1,56 ( $p < 0,001$ ) і 1,69 ( $p < 0,001$ ) раза відповідно. Отже, у хворих з гіпотиреозом на фоні АІТ спостерігається зростання рівнів GRIN2B, порівняно з хворими з АІТ без гіпотиреозу.

Також було виявлено суттєве зниження рівня GRIN2B у сироватці крові у пацієнтів з ПОГ, носіїв усіх генотипів *NMDA* (rs4880213), порівняно з пацієнтами з АІТ із підвищеними рівнями АТПО й АТТГ (табл. 4.7). Так, у носіїв генотипу *CC* у пацієнтів з ПОГ рівень GRIN2B був у 3,48 раза нижчим, ніж у хворих з АІТ ( $p = 0,00058$ ). Також ми виявили, що рівень GRIN2B у сироватці крові був нижчим у 3,15 ( $p < 0,001$ ) та в 3,56 ( $p < 0,001$ ) раза в носіїв *CT* та *TT* генотипів цієї групи відповідно, порівняно з хворими з АІТ.

Водночас між носіями різних генотипів гена *NMDA* (rs4880213) не було виявлено суттєвої різниці між вмістом GRIN2B у всіх групах хворих (табл. 4.7).

Провели кореляційний аналіз між GRIN2B і рівнями АТПО й АТТГ. Виявлено помірної сили прямий зв'язок між GRIN2B та рівнями АТПО ( $r = 0,635$ ) і АТТГ ( $r = 0,527$ ) ( $p < 0,001$ ).

#### *Висновки*

1. Рівень нейротрофічного фактора BDNF у сироватці крові, який забезпечує пластичність нейронів, а також їх виживаність і проліферацію, підтримуючи когнітивні функції, має чітку залежність від поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) як у хворих на патологію ЩЗ, так і практично здорових, знижуючись вірогідно у носіїв мутаційного *T*-алеля, особливо *TT*-

генотипу: в пацієнтів – у 2,15-3,24 рази ( $p \leq 0,037-0,001$ ), у групі контролю – у 1,38-2,07 рази ( $p \leq 0,044-0,001$ ) відповідно. Концентрація BDNF крові коливалась у межах референтних значень у практично здорових і хворих на АІТ, із помірним та вагомим його зниженням за гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г) у 1,25-3,54 рази за кожним генотипом аналізованих генів окремо ( $p \leq 0,01-0,001$ ): сильніше в носіїв *TT*-варіанту гена *BDNF* (rs6265) – у 3,14-3,35 рази ( $p \leq 0,006-0,001$ ), вірогідно у власників *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) – у 2,61-3,92 рази ( $p < 0,001$ ).

2. Наявність *T*-алеля гена *BDNF* у генотипі хворих на патологію ЩЗ підвищує ризик низької продукції BDNF ( $< 500$  пг/мл) майже в 10 разів [OR=9,98;  $p < 0,05$ ], за протективної ролі *CC*-генотипу [OR=0,1; 95 %CI OR: 0,002-0,9159;  $p = 0,021$ ].

3. Вміст BDNF крові прямо корелює з Т4 і АТТГ ( $r = 0,32-0,68$ ;  $p \leq 0,016-0,001$ ), зворотно з ТТГ ( $r = -0,69$ ;  $p < 0,001$ ); концентрація АТПО прямо залежить від АТТГ ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,001$ ), а ТТГ зворотно впливає на рівень вільного Т4 крові ( $r = -0,96$ ;  $p < 0,001$ ).

4. Досліджувані захворювання ЩЗ супроводжуються гіповітамінозом холекальциферолу (25(OH)D), що вірогідно посилюється за гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г), а надто в носіїв основного *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) у 1,82-2,0 рази ( $p < 0,001$ ). Однак, епідеміологічний аналіз не підтвердив поліморфні варіанти гена *VDR* (rs2228570) в якості чинника ризику гіпохолекальциферолемії, чи дефіциту 25(OH)D, а також як предиктора зниження рівня BDNF крові.

При цьому виявили пряму помірну кореляційну залежність між рівнями 25(OH)D і BDNF ( $r = 0,4$ ;  $p = 0,006$ ), а також прямий середньої сили зв'язок між концентрацією *GRIN2B* і АТТГ ( $r = 0,53$ ;  $p < 0,001$ ) та АТПО ( $r = 0,63$ ;  $p < 0,001$ ), відповідно. Окрім того, встановили слабкої сили кореляцію між гормональною активністю ЩЗ та концентрацією 25(OH)D крові: рівень холекальциферолу прямо впливає на ТТГ ( $r = 0,25$ ;  $p < 0,001$ ) і АТТГ ( $r = 0,26$ ;  $p = 0,016$ ), зворотно – на рівень вільного Т4 ( $r = -0,24$ ;  $p < 0,001$ ).



5. Концентрація медіатора нейротропної активності NR2B-субодиниці глутаматного N-метилD-аспартату рецептора в крові не має залежності від генотипів гена *NMDA* (rs4880213), хоча вірогідно знижується за ПОГ у власників усіх генотипів – у 3,22-3,65 рази ( $p < 0,001$ ), зростаючи за АІТ з Г – у 1,52-1,66 рази ( $p < 0,001$ ) відповідно, підвищуючи клінічну ймовірність розвитку судомного синдрому, змін настрою (психотичної нестабільності), втрату пам'яті, когнітивних розладів тощо.

Наведені в розділі результати опубліковано в наукових працях автора [243, 253, 255, 261].

**РОЗДІЛ 5**  
**АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ НЕЙРОТРОФІНІВ ТА ЇХ РЕЦЕПТОРІВ,**  
**НЕЙРОПЕПТИДІВ, ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ, ЦИТОКІНІВ**  
**ТА ГЕНІВ-РЕГУЛЯТОРІВ АПОПТОЗУ В КРОВІ ПАЦІЄНТІВ**  
**ІЗ ТИРЕОЇДНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ**

Причини розвитку психоневрологічних ускладнень при дисфункції ЩЗ залишаються невідомими, а механізм активації експресії генів, регульованих гормонами ЩЗ, у мозку дорослої людини до кінця не вивчений. Більшість експериментальних досліджень регуляторних генів, пов'язаних із нейронними процесами, зі зрозумілих причин зосереджені на аналізі їх транскриптомної активності в клітинах нервової тканини. Проте переважна більшість з них не тільки транскрибуються, а й транслюються в клітинах периферичної крові, зокрема, в Т- і В-лімфоцитах, моноцитах, нейтрофілах (<https://www.proteinatlas.org>). «Гіпотеза периферичного маркера» довела, що лімфоцити периферичної крові відображають зміни в експресії генів у деяких ділянках мозку [435]. Отже, передбачається, що нейротрофіни, виявлені в системі кровообігу, і їх локальна експресія відображають системні рівні нейротрофінів. Нейротрофін-специфічні біомаркери в крові можуть бути використані як прогностичний маркер ризику розвитку неврологічних і психологічних ускладнень, що супроводжують патологію ЩЗ. Використовуючи ПЛР-еррей, орієнтований на шляхи нейротрофінів та їх рецепторів (Neurotrophins and Receptors RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array), на цьому етапі роботи ми дослідили експресію 84 генів, пов'язаних із передачею нервових імпульсів, нейрогенезом, регуляцією імунної відповіді, апоптозом та іншими процесами в пацієнтів із первинним гіпотиреозом у результаті АІТ, ПОГ, а також у пацієнтів з АІТ із підвищенням рівнів сироваткових аутоантитіл, таких як АТПО та АТТГ. Досліджувані гени можна поділити на декілька функціональних груп, що частково перекриваються, враховуючи,

що багато з представлених генів одночасно беруть участь у різних сигнальних шляхах.

### 5.1 Аналіз експресії генів-регуляторів передачі нервових імпульсів

Передача нервових імпульсів відбувається за участю синапсів. Синаптогенез відбувається під час розвитку, навчання та формування пам'яті, а також відновлення після травм нервової системи [364]. NTFs відіграють важливу роль у синаптогенезі [418]. Розуміння механізмів утворення синапсів у головному мозку, а також молекулярних механізмів, що регулюють утворення і підтримку синапсів, допоможе краще зрозуміти механізми розвитку психоневрологічних порушень. Диференційна експресія мРНК генів, орієнтованих на шляхи передачі нервових імпульсів при різній патології ЩЗ, наведена в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1 – Диференційна експресія мРНК генів, орієнтованих на шляхи передачі нервових імпульсів, при різній патології ЩЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою (кратність регуляції, к.р. (Fold Regulation))		
	група 1	група 2	група 3
1	2	3	4
<i>BDNF</i>	-41,8 (p=0,002)	-9,3 (p=0,004)	3,5 (p=0,06)
<i>CBLN1</i>	-3,1 (p=0,004)	-5,8 (p=0,005)	3,4 (p=0,03)
<i>GDNF</i>	5,0 (p=0,005)	10,7 (p=0,004)	-21,0 (p=0,0007)
<i>MEF2C</i>	-2,8 (p=0,003)	1,1 (p=0,55)	1,7 (p=0,23)

Продовження таблиці 5.1

1	2	3	4
<i>NTSR1</i>	3,7 (p=0,03)	-3,7 (p=0,006)	-3,6 (p=0,005)
<i>PNOG</i>	1,2 (p=0,27)	1,1 (p=0,62)	4,6 (p=0,004)

Примітка 1. Дані представлені у вигляді Fold-Regulation – кратність регуляції – демонструє біологічний результат кратності змін експресії (Fold-Change). Значення кратної зміни більше 1 вказують на позитивну або підвищену регуляцію, а кратна регуляція дорівнює кратній зміні. Значення кратної зміни, менші за 1, вказують на негативну або знижену регуляцію, а кратна регуляція є негативною, зворотною кратній зміні; Fold-Change ( $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ) – кратність змін експресії гена – нормалізована експресія гена ( $2^{(-\Delta CT)}$ ) у тестовому зразку, поділена на нормалізовану експресію гена ( $2^{(-\Delta CT)}$ ) у контрольному зразку; к.р. – кількість разів.

Примітка 2. Значення p розраховуються на основі t-критерію Стьюдента для повторних значень  $2^{(-\Delta CT)}$  для кожного гена в контрольній групі та тестових групах.

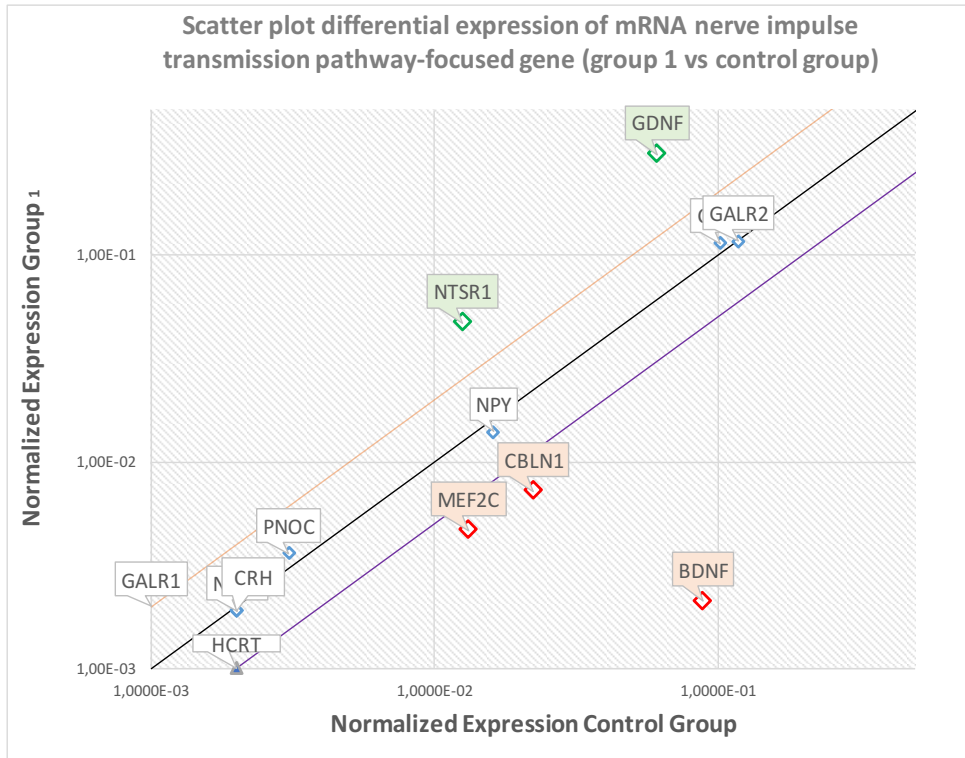
Аналіз експресії генів шляху передачі нервових імпульсів засвідчив, що у пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом експресія *BDNF* є вірогідно зниженою (у 41,8 раза,  $p=0,002$ ), порівняно з контрольною групою (рис. 5.1A). У нашому дослідженні в пацієнтів із гіпотиреозом, викликаним АІТ, рівень мРНК *BDNF* також був вірогідно знижений (у 9,3 раза,  $p=0,004$ ) (рис. 5.1B). У пацієнтів з АІТ, експресія *BDNF* була підвищена (у 3,5 раза,  $p=0,06$ ) (рис. 5.1C). Отже, різке зниження рівня гормонів ЩЗ після операції на цьому органі призвело до значного пригнічення експресії *BDNF*. І навпаки, у пацієнтів із гіпотиреозом, викликаним АІТ, зниження експресії *BDNF* було не настільки вираженим. Більше того, в пацієнтів з АІТ без гіпотиреозу експресія *BDNF* була підвищеною. Отже, ми можемо припустити, що гіпотиреоз впливає на експресію *BDNF*.

*GDNF* також сприяє утворенню синапсів у гіпокампі, тому цілком імовірно, що *BDNF* і *GDNF* взаємодіють при формуванні синапсів, що беруть участь у навчанні [309]. У нашому дослідженні експресія *GDNF* вірогідно збільшилася у хворих з гіпотиреозом (післяопераційним (в 5,0 разів,  $p=0,005$ ))

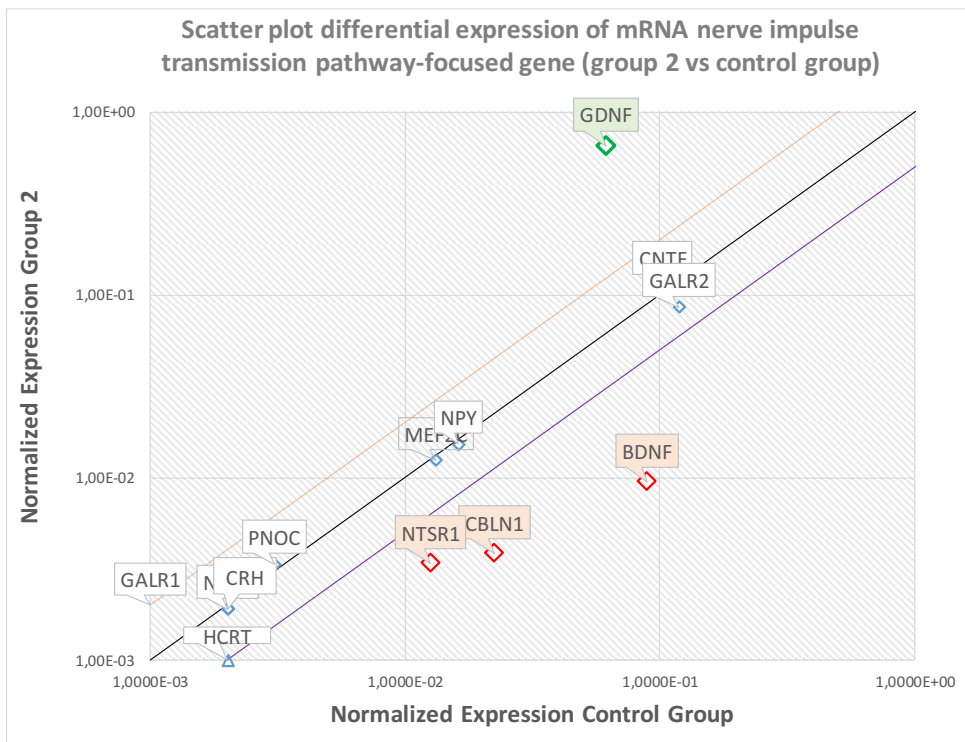
та на фоні АІТ (у 10,7 раз,  $p=0,004$ ). У пацієнтів з АІТ експресія *GDNF* знизилася (в 21,0 раз,  $p=0,0007$ ).

Експресія *MEF2C* була значно нижчою в групі 1, до якої увійшли пацієнти з ПОГ (у 2,8 раз,  $p=0,003$ ), тоді, як в інших групах експресія *MEF2C* вірогідно не змінилася (рис. 5.1А).

А



В



C

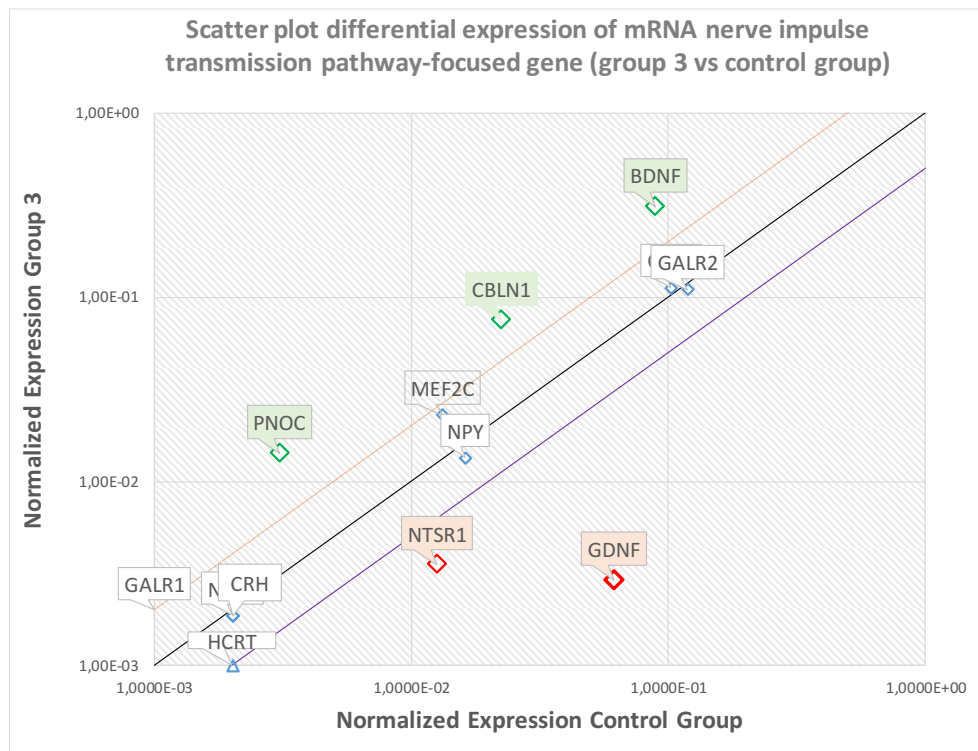


Рисунок 5.1 (А-В-С) – Діаграма розсіювання (Scatter Plot) порівнює нормалізовану експресію кожного гена в масиві між двома вибраними групами (контрольна група проти групи 1, А; контрольна група проти групи 2, В; контрольна група проти групи 3, С), зіставляючи їх один з одним, щоб швидко візуалізувати великі зміни експресії генів. Центральна лінія вказує на незмінену експресію генів. Бічні лінії вказують обраний поріг зміни експресії. Гени з точками даних за зовнішніми лініями у верхньому лівому (зелений колір) та нижньому правому (червоний колір) кутах, відповідно, підвищено або знижено експресовані порівняно з контрольною групою. Зелені маркери  $\diamond$  – гени з підвищеною регуляцією, сині маркери  $\diamond$  – незмінені гени, червоні маркери  $\diamond$  – гени зі зниженою регуляцією

Результати нашого дослідження свідчать, що мРНК *CBLN1* була знижена у хворих з післяопераційним гіпотиреозом (3,1 раза ( $p=0,004$ )) та на фоні АІТ (в 5,8 раза,  $p=0,005$ ), тоді як у групі 3 рівень мРНК *CBLN1* був підвищений у 3,4 раза,  $p=0,03$ ). Тобто, дефіцит тиреоїдних гормонів призводить до пригнічення експресії *CBLN1*.

Експресія *NTSR1* була помітно знижена в 2 (в 3,7 раза,  $p=0,006$ ) і 3 групах (в 3,6 раза,  $p=0,005$ ), тоді як у пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом рівень мРНК *NTSR1* був значно підвищений (в 3,7 раза,  $p=0,03$ ). Отже, ми можемо припустити, що підвищені рівні АТТГ і АТПО інгібують експресію *NTSR1*.

У хворих з АІТ мРНК *PNOС* вірогідно збільшилась (в 4,6 раза,  $p=0,004$ ) (рис. 5.1.С). В інших групах хворих експресія *PNOС* вірогідно не змінилась.

Ми не виявили змін у транскрипційній активності генів *CNTF*, *CRH*, *GALR1*, *GALR2*, *HCRT*, *NPFF*, *NPY* у всіх групах пацієнтів (див. табл. 5.1).

З вищенаведеного можна зробити висновок, що АІТ і гіпотиреоз впливають на експресію генів передачі нервових імпульсів і ці зміни можуть відігравати певну роль у розвитку психоневрологічних ускладнень, пов'язаних із патологією ЩЗ.

## 5.2 Аналіз експресії генів-регуляторів нейрогенезу

Нейрогенез є формою структурної пластичності мозку, важливою для навчання, регуляції настрою і пам'яті; на нього впливають захворювання, пов'язані з когнітивними порушеннями, депресією і тривогою [111]. Нейрогенез дорослої людини відбувається в двох структурах: субвентрикулярній зоні бічних шлуночків, і субгранулярній зоні, що прилягає до гранулярного шару зубчастої звивини гіпокампа. Гормони ЩЗ контролюють експресію багатьох генів, які відіграють роль у диференціюванні клітин, таких як регулятори клітинного циклу, цитоскелетні білки, нейротрофіни та рецептори нейротрофінів, а також білки позаклітинного матриксу [43]. Відомо, що гіпотиреоз і тиреоїдні гормони впливають на нейрогенез у субвентрикулярній зоні та субгранулярній зоні гризунів [198]. Багато регуляторних генів нейрогенезу не тільки транскрибуються, а й транслюються в клітинах крові (<https://www.proteinatlas.org>).

Ми проводили аналіз транскрипційної активності генів, що регулюють нейрогенез, у клітинах периферичної крові в пацієнтів із захворюваннями ЦЗ. Цей аналіз може бути неінвазивним біомаркером нейрогенезу в дорослих (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Диференційна експресія генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу в пацієнтів із різною патологією ЦЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою (рази)		
	група 1	група 2	група 3
1	2	3	4
<i>ARTN</i>	1,3 (p=0,11)	1,1 (p=0,57)	1,2 (p=0,07)
<i>CNTFR</i>	-5,3 (p=0,001)	8,5 (p=0,03)	7,7 (p=0,19)
<i>FGF2</i>	-20,1 (p=0,0001)	-20,8 (p=0,0002)	6,2 (p=0,02)
<i>GFRA3</i>	-5,3 (p=0,005)	1,3 (p=0,3)	-6,4 (p=0,0005)
<i>MT3</i>	1,05 (p=0,2)	1,05 (p=0,4)	1,08 (p=0,06)
<i>NELL1</i>	1,5 (p=0,2)	1,26 (p=0,09)	1,1 (p=0,56)
<i>NGFR</i>	-7,13 (p=0,008)	-5,07 (p=0,015)	-17,4 (p=0,006)
<i>NRG1</i>	-4,43 (p=0,0007)	-10,8 (p=0,0002)	-6,9 (p=0,002)
<i>NTF3</i>	-4,8 (p=0,0005)	-6,07 (p=0,0004)	-10,5 (p=0,00002)
<i>NTRK1</i>	8,5 (p=0,006)	4,6 (p=0,001)	-2,7 (p=0,015)



Продовження таблиці 5.2

1	2	3	4
<i>NTRK2</i>	3,06 (p=0,014)	3,4 (p=0,005)	-3,4 (p=0,002)
<i>PSPN</i>	1,2 (p=0,46)	1,1 (p=0,38)	1,03 (p=0,59)
<i>TFG</i>	1,2 (p=0,11)	1,05 (p=0,67)	1,09 (p=0,37)

Результати аналізу експресії генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу, свідчать, що в пацієнтів з ПОГ експресія *NTRK1* і *NTRK2* була збільшена в 8,5 (p=0,006) і 3,06 (p=0,014) рази відповідно. Крім того, ми виявили, що експресія *CNTFR* (в 5,3 рази, p=0,001), *FGF2* (в 20,1 рази, p=0,0001) була знижена (рис. 5.2). У групі 1 також було виявлено зниження мРНК *GFRA3* (в 5,3 рази, p=0,005), *NGFR* (в 7,1 рази, p=0,008), *NRG1* (в 4,4 рази, p=0,0007) та *NTF3* (в 4,8 рази, p=0,0005) (рис. 5.2).

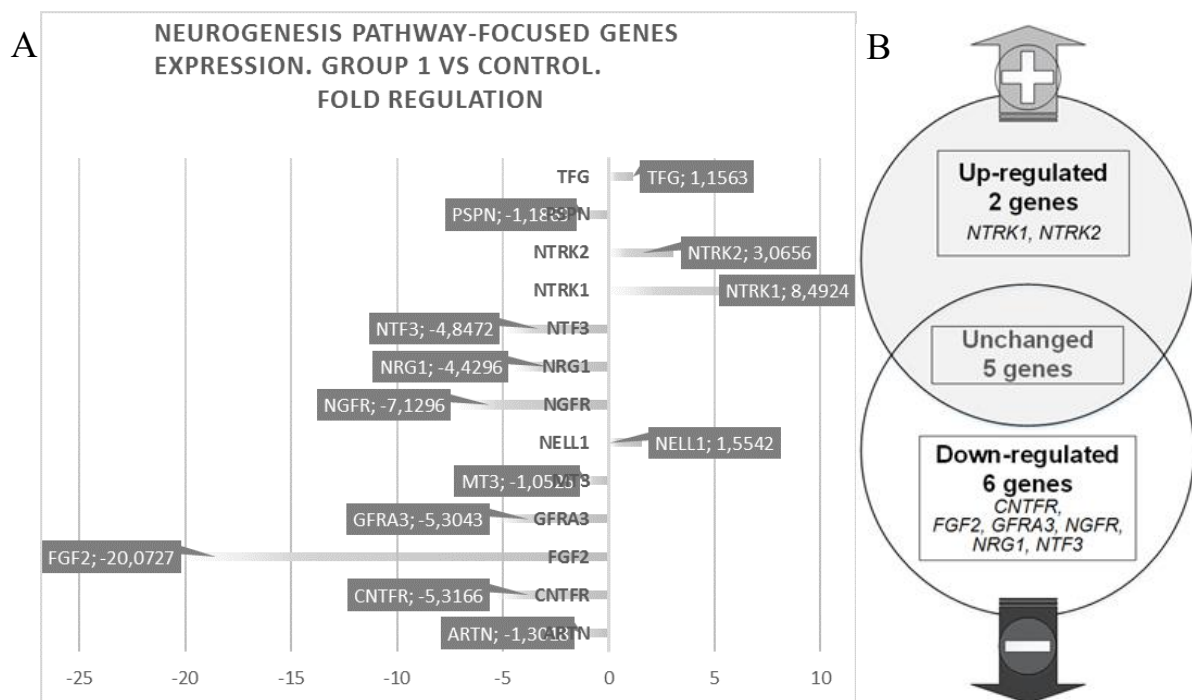


Рисунок 5.2 – Диференційна експресія генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу (група 1 порівняно з контрольною групою, кількість разів) (А).

Діаграма показує гени з підвищеною та зниженою регуляцією (В)

У пацієнтів з гіпотиреозом у результаті АІТ (група 2) експресія генів, орієнтованих на шлях нейрогенезу, змінилася наступним чином: спостерігалось збільшення експресії *CNTFR* (в 8,5 раза,  $p=0,001$ ), *NTRK1* (в 4,6 раза,  $p=0,001$ ) і *NTRK2* (в 3,4 раза,  $p=0,005$ ). Установлено, що у хворих другої групи була знижена експресія *FGF2* (у 20,8 раза,  $p=0,0002$ ) і *NGFR* (у 5,1 раза,  $p=0,015$ ) (рис. 5.3). Як показано в таблиці 5.2, у групі 2 також було виявлено зниження мРНК *NRG1* (у 10,8 раза,  $p=0,0002$ ), *NTF3* (у 6,1 раза,  $p=0,0004$ ).

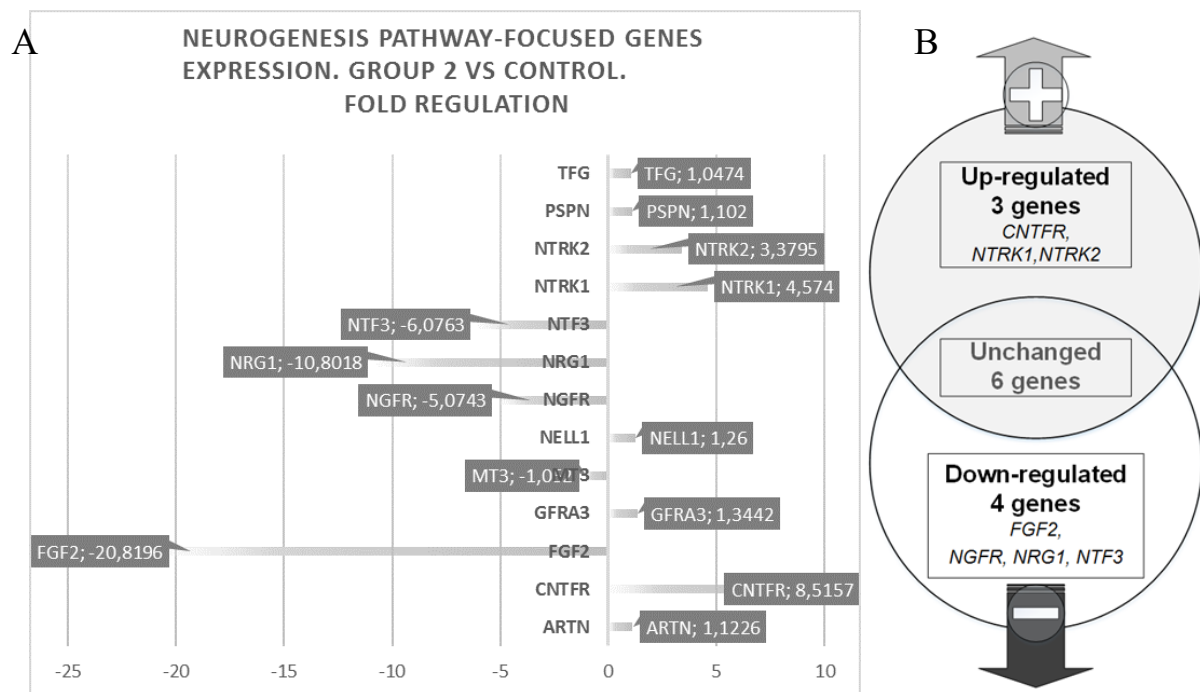


Рисунок 5.3 – Диференційна експресія генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу мРНК (група 2 порівняно з контрольною групою) (А). Діаграма Венна показує гени з підвищеною та зниженою експресією (В)

Показано, що в групі 3, до якої увійшли пацієнти з АІТ з підвищеним рівнем АТПО та АТТГ, рівень мРНК *FGF2* був значно підвищений (у 6,2 раза,  $p=0,02$ ) (рис. 5.3). У 3 групі було виявлено зниження мРНК *GFRA3* (в 6,4 раза,  $p=0,0005$ ), *NGFR* (в 17,4 раза,  $p=0,006$ ), *NRG1* (в 6,9 раза,  $p=0,002$ ), *NTF3* (в 10,5 раза,  $p=0,00002$ ). Експресія *NTRK1* (в 2,7 раза,  $p=0,015$ ) і *NTRK2* (в 3,4 раза,  $p=0,002$ ) у групі 3 була помітно знижена (рис. 5.4). Крім того, ми

виявили, що *ARTN*, *PSPN*, *TFG*, *MT3*, *NELL1* не змінили свою експресію в усіх групах пацієнтів.

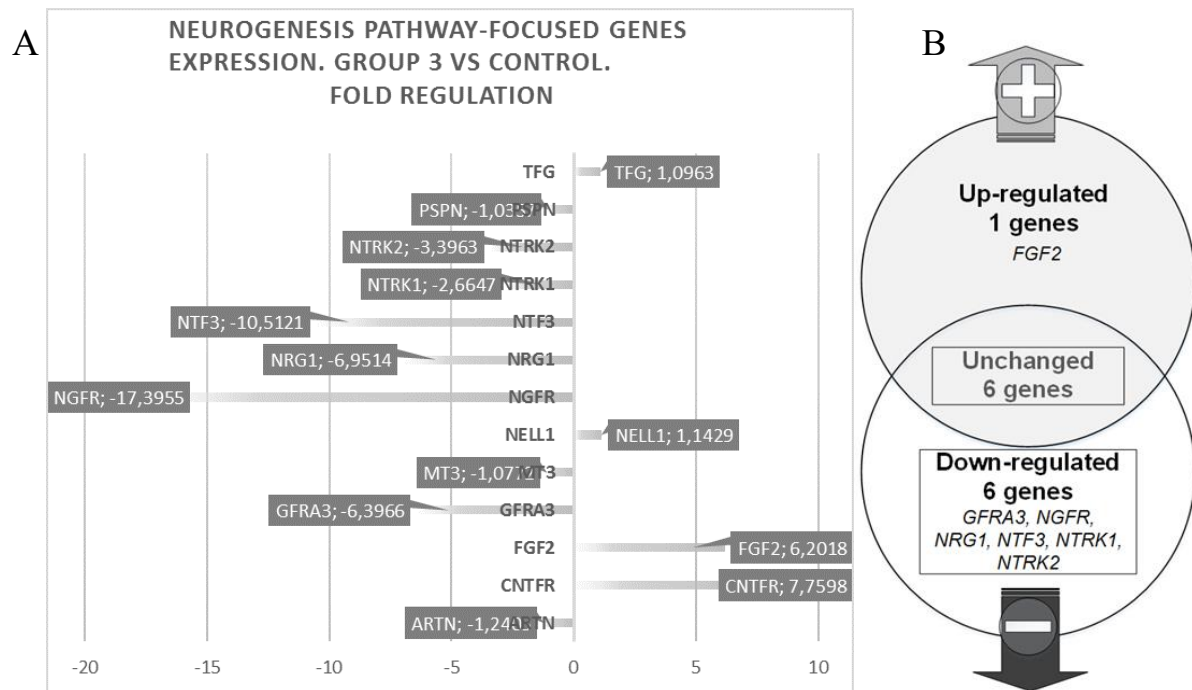


Рисунок 5.4 – Диференційна експресія генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу мРНК (група 3 порівняно з контрольною групою) (А). Діаграма показує гени з підвищеною та зниженою експресією (В)

У рамках нашого дослідження експресії генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу, ми побудували генні мережі з використанням GeneMANIA (<http://genemania.org>), які допомогли визначити, як гени-кандидати взаємодіють з іншими генами, і висунули гіпотези про функцію генів, проаналізувавши списки генів і розставивши пріоритети генів для функціональних аналізів. Як видно з рисунка 5.5, у межах генної мережі, яка контролює взаємодію і функціональні зв'язки регуляторів нейрогенезу, найтісніші функціональні зв'язки спостерігалися між генами *NTRK2*, *NTRK1*, *NGFR*, *MT3*, *NTF3*, *FGF2* та *BDNF*. Ці функціональні взаємозв'язки належать до ряду загальних сигнальних шляхів – сигнального шляху нейротрофінів, регуляції морфогенезу клітин, поведінки, регуляції розвитку нервової

системи, регуляції нейрогенезу, регуляції аксоногенезу та розвитку нейронів центральної нервової системи.

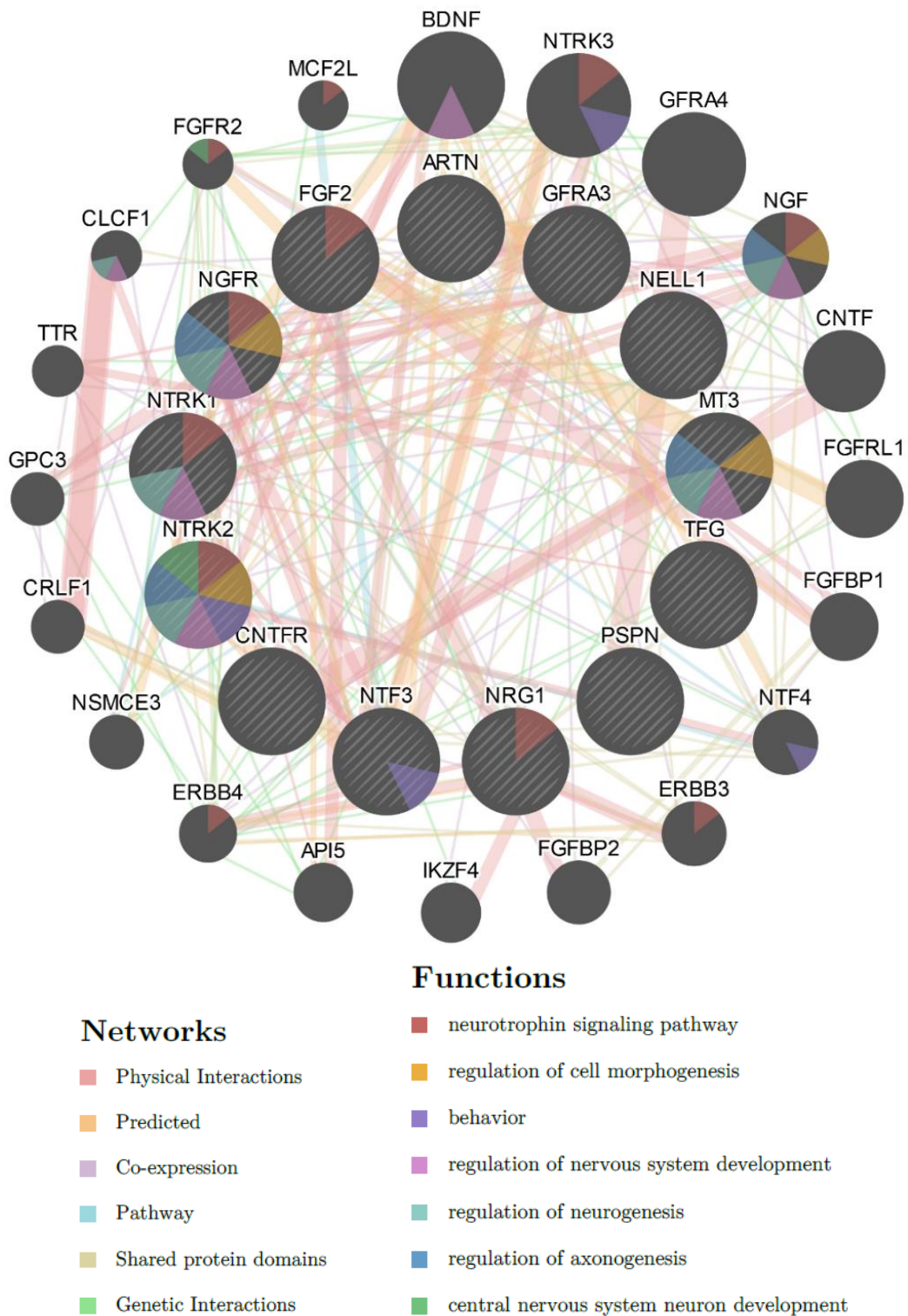


Рисунок 5.5 – Мережа взаємодії та функціональні зв'язки генів, що регулюють нейрогенез

### 5.3 Аналіз експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів

Нейротрофіни є родиною нейротрофічних факторів, необхідних для нормального розвитку нервової системи. Вони регулюють диференціювання нейронів, виживання або загибель під час ембріонального і постнатального розвитку, беруть участь у підтримці нейронів у пізнішому віці [68], а їх локальна експресія відображає системні рівні нейротрофінів. Диференційна експресія мРНК генів нейротрофінів та їх рецепторів при різній патології ЦЗ наведена в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3 – Диференційна експресія мРНК нейротрофінів та їх рецепторів у пацієнтів з різною патологією ЦЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою		
	група 1	група 2	група 3
1	2	3	4
<i>ADCYAP1R1</i>	-1,29 (p=0,19)	1,07 (p=0,74)	1,03 (p=0,88)
<i>CRHBP</i>	-5,03 (p=0,0002)	-4,54 (p=0,00009)	7,04 (p=0,005)
<i>CRHR1</i>	-1,05 (p=0,204)	-1,05 (p=0,435)	-1,08 (p=0,06)
<i>CRHR2</i>	-1,05 (p=0,204)	-1,05 (p=0,435)	-1,08 (p=0,06)
<i>FRS2</i>	-3,29 (p=0,01)	-1,25 (p=0,288)	12,17 (p=0,025)
<i>FRS3</i>	-2,73 (p=0,008)	-1,25 (p=0,099)	7,74 (p=0,04)
<i>FUS</i>	1,079 (p=0,648)	1,17 (p=0,324)	-1,46 (p=0,198)
<i>GFRA1</i>	-5,49 (p=0,0002)	-5,92 (p=0,002)	3,45 (p=0,012)
<i>GFRA2</i>	-4,32 (p=0,0004)	-3,94 (p=0,002)	-3,66 (p=0,002)

Продовження таблиці 5.3

1	2	3	4
<i>GMFB</i>	-4,63 (p=0,014)	-5,96 (p=0,004)	13,42 (p=0,013)
<i>GMFG</i>	-1,14 (p=0,34)	-1,59 (p=0,298)	-1,32 (p=0,097)
<i>MAGED1</i>	-1,05 (p=0,204)	-1,05 (p=0,435)	-1,077 (p=0,06)
<i>NGF</i>	-7,84 (p=0,0007)	-3,83 (p=0,001)	-4,076 (p=0,0009)
<i>NRG2</i>	-4,63 (p=0,001)	-1,127 (p=0,365)	-4,65 (p=0,002)
<i>NRG4</i>	-3,847 (p=0,007)	8,92 (p=0,004)	14,41 (p=0,003)
<i>NTF4</i>	-3,58 (p=0,004)	-1,089 (p=0,875)	-3,78 (p=0,004)
<i>PTGER2</i>	2,94 (p=0,006)	-5,72 (p=0,001)	-6,15 (p=0,0005)
<i>TRO</i>	-6,95 (p=0,002)	6,44 (p=0,0008)	7,37 (p=0,0001)
<i>VGF</i>	-5,03 (p=0,0004)	-4,73 (p=0,0003)	6,03 (p=0,002)

Примітка. Р-значення розраховуються за t-критерієм Стьюдента повторних значень  $2^{(-\Delta\Delta CT)}$  для кожного гена в контрольній групі та групах дослідження.

Аналіз експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів засвідчив, що у пацієнтів з ПОГ експресія низки генів була знижена, порівняно з іншими групами пацієнтів (рис. 5.6). Виявлено зниження мРНК *CRHBP* (в 5,03 раза,  $p=0,0002$ ), *FRS2* (в 3,3 раза,  $p=0,01$ ), *FRS3* (в 2,7 раза,  $p=0,008$ ), *GFRA1* (в 5,5 раза,  $p=0,0002$ ) і *GFRA2* (в 4,3 раза,  $p=0,0004$ ) (рис. 5.6). У групі 3 також була помітно знижена експресія *GMFB* (в 4,6 раза,  $p=0,014$ ), *NGF* (в 7,8 разів,  $p=0,0007$ ), *NRG2* (в 4,6 раза,  $p=0,001$ ). Як показано в таблиці 5.3, у групі 1 також було виявлено зниження *NRG4* (в 3,8 раза,  $p=0,007$ ), *NTF4* (в 3,6 раза,  $p=0,004$ ), *TRO* (в 6,9 раза,  $p=0,002$ ) і *VGF* (в 5,03 раза,  $p=0,0004$ ). Згідно з

результатами наших досліджень, експресія *PTGER2* була збільшена (в 2,9 раза,  $p=0,006$ ) (рис. 5.6).

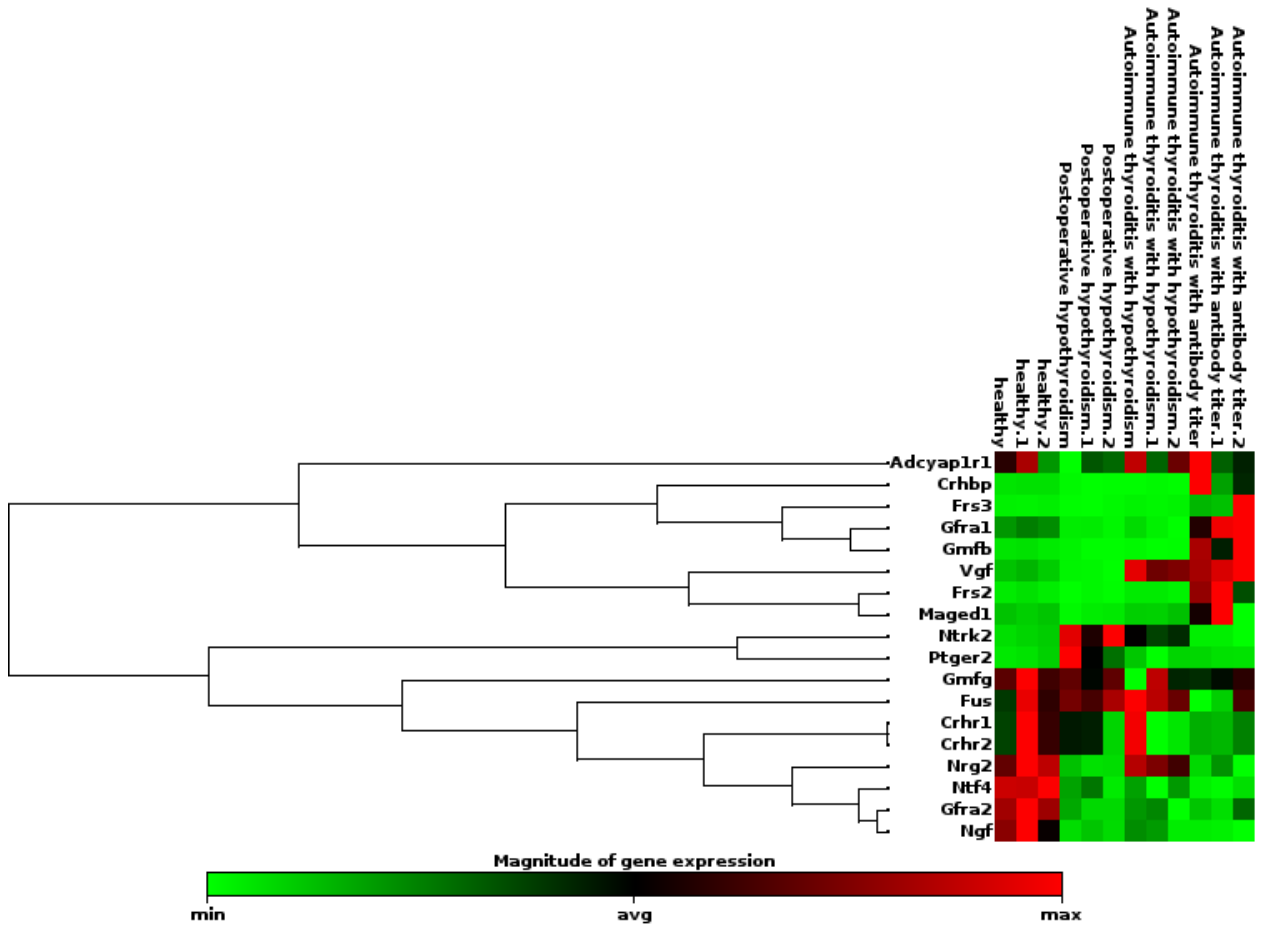


Рисунок 5.6 – Кластерограма експресії генів нейротрофінів та їх рецепторів у пацієнтів із різною патологією ЩЗ. Зелений колір – зниження рівня відносної нормалізованої експресії, червоний – збільшення

У пацієнтів з гіпотиреозом у результаті АІТ (група 2) експресія генів, орієнтованих на шляхи нейротрофінів і рецепторів, змінилася наступним чином: спостерігалось зниження експресії *CRHBP* (в 4,5 раза,  $p=0,00009$ ), *GFRA1* (в 5,9 раза,  $p=0,002$ ), *GFRA2* (в 3,9 раза,  $p=0,002$ ) і *GMFB* (в 5,9 раза,  $p=0,004$ ). Як видно з таблиці 5.3, у хворих на гіпотиреоз у результаті АІТ також було виявлено зниження мРНК *NGF* (в 3,8 раза,  $p=0,001$ ), *PTGER2* (в 5,7 раза,  $p=0,001$ ) і *VGF* (в 4,7 раза,  $p=0,0003$ ). Також було встановлено



збільшення експресії *TRO* (у 6,4 раза,  $p=0,0008$ ) і *NRG4* (у 8,9 раза,  $p=0,004$ ) (див. рис. 5.6).

Ми відзначили, що в 3 групі, до якої увійшли пацієнти з АІТ із підвищенням сироваткових АТПО і АТТГ, були значно підвищені рівні мРНК *CRHBP* (в 7,04 раза,  $p=0,005$ ), *FRS2* (в 12,2 раз,  $p=0,025$ ) і *FRS3* (в 7,7 раза,  $p=0,04$ ) (рис. 5.6). У 3 групі було виявлено зниження мРНК *GFRA2* (в 3,7 раза,  $p=0,002$ ), *NGF* (в 4,1 раза,  $p=0,0009$ ), *NRG2* (в 4,7 раза,  $p=0,002$ ), *NTF4* (в 3,8 раза,  $p=0,004$ ) і *PTGER* (в 6,15 раза,  $p=0,0005$ ). Експресія була вірогідно збільшена в групі 3 *GFRA1* (в 3,5 раза,  $p=0,012$ ), *GMFB* (в 13,4 раза,  $p=0,013$ ) і *NRG4* (в 14,4 раза,  $p=0,003$ ) (рис. 5.6). Більше того, експресія *TRO* (в 7,4 раза,  $p=0,0001$ ) і *VGF* (в 6,03 раза,  $p=0,002$ ) також була збільшена (див. рис. 5.6).

Також ми виявили, що *ADCYAP1R1*, *CRHR1*, *CRHR2*, *FUS*, *GMFG* і *MAGED1* не змінили експресії у всіх групах пацієнтів.

Ці результати вказують на значну мінливість транскрипційної активності генів, що кодують нейротрофіни, та їх рецепторів у периферичній крові в людей із захворюваннями ЦЗ.

#### 5.4 Аналіз експресії генів нейропептидів та їх рецепторів

Існує більше ста різних нейропептидів, які можуть вивільнятися з нейронів і потрапляти в кровотік, і які, як повідомляють результати наукових досліджень, впливають на функцію імунних клітин та беруть участь у фізіології депресії та тривожних розладів [424]. Нейромодулювальна властивість нейропептидів викликала інтерес психонейроендокринологів з огляду на потенційну значну клінічну значимість у лікуванні розладів настрою, пов'язаних зі стресом [398]. Нейромедіатори також виявлені в крові. Наприклад, рівень субстанції P у крові підвищується в результаті інсульту [335]. Окрім вивільнення нейронами, нейромедіатори та нейрохімічні речовини також продукуються іншими клітинами, зокрема



лімфоцитами [516], що може призвести до автокринної та паракринної дії на імунні клітини [426]. Експресія рецепторів нейромедіаторів на лімфоцитах дозволяє сигналам мозку впливати на імунну систему через периферичну нервову систему. Крім впливу на лімфоцити, імунні клітини мають рецептори для нейромедіаторів і нейрохімічних речовин, що вказує на те, що нейронні сигнали регулюють численні аспекти імунної відповіді. Гормони ЩЗ регулюють вивільнення нейропептидів, зокрема нейропептиду Y (*NPY*), члена родини *NPY*, який експресується як у центральній, так і в периферичній нервовій системі [76, 436].

У цьому дослідженні ми проаналізували гени, що кодують нейропептиди, їхні рецептори, а також інші компоненти відповідних шляхів передачі сигналу. Аналіз експресії генів, які кодують нейропептиди та їх рецептори показав, що в пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом рівень експресії рецепторів *NPY1R* та *NTSR1* зріс у 3,0 ( $p=0,05$ ) та 3,7 ( $p=0,03$ ) рази відповідно. Експресія *CCKAR*, *CRH*, *GRPR*, *HCRT*, *MC2R*, *NPFF*, *NPFFR2*, *NPY*, *NPY2R*, *PNO*C, *TACR1* і *UCN* у даній групі пацієнтів не змінилася (табл. 5.4).

У пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним АІТ, експресія *NPY1R* була підвищеною (в 5,5 рази,  $p=0,0006$ ), в той час як експресія *NTSR1* виявилася зниженою в 3,7 рази,  $p=0,007$  (рис. 5.7). Крім того, ми виявили, що експресія *CCKAR*, *CRH*, *GRPR*, *HCRT*, *MC2R*, *NPFF*, *NPFFR2*, *NPY*, *NPY2R*, *PNO*C, *TACR1* і *UCN* у хворих з гіпотиреозом, викликаним АІТ не змінилася (табл. 5.4).

У пацієнтів 3 групи (АІТ з підвищеним вмістом АТПО та АТТГ) експресія *NPY1R* була зниженою (у 3,16 рази, ( $p=0,003$ )). (рис. 5.7). Рівні мРНК *NTSR1* були в 3,6 рази нижчими, порівняно з контролем ( $p=0,005$ ). Експресія *PNO*C виявилася помітно підвищеною – в 4,63 рази ( $p=0,004$ ). У той же час, у цій групі хворих експресія *CCKAR*, *CRH*, *GRPR*, *HCRT*, *MC2R*, *NPFF*, *NPFFR2*, *NPY*, *NPY2R*, *TACR1* і *UCN* не змінилася.

Таблиця 5.4 – Диференційна експресія генів нейропептидів та їх рецепторів у пацієнтів з різною патологією ЩЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою		
	група 1	група 2	група 3
<i>CCKAR</i>	-1,2 (p=0,13)	-1,01 (p=0,97)	-1,07 (p=0,62)
<i>CRH</i>	-1,05 (p=0,2)	-1,05 (p=0,43)	-1,08 (p=0,06)
<i>GRPR</i>	-1,08 (p=0,63)	1,06 (p=0,81)	-1,15 (p=0,49)
<i>HCRT</i>	-1,05 (p=0,2)	-1,05 (p=0,43)	-1,08 (p=0,06)
<i>MC2R</i>	-1,05 (p=0,2)	-1,05 (p=0,43)	-1,08 (p=0,06)
<i>NPFF</i>	-1,05 (p=0,2)	-1,05 (p=0,43)	-1,08 (p=0,06)
<i>NPFFR2</i>	-1,17 (p=0,86)	1,05 (p=0,53)	-1,19 (p=0,12)
<i>NPY</i>	-1,16 (p=0,27)	-1,06 (p=0,82)	-1,21 (p=0,12)
<i>NPY1R</i>	3,0 (p=0,05)	5,5 (p=0,0006)	-3,16 (p=0,003)
<i>NPY2R</i>	-1,05 (p=0,2)	-1,05 (p=0,43)	4,63 (p=0,06)
<i>NTSR1</i>	3,73 (p=0,03)	-3,71 (p=0,007)	-3,56 (p=0,005)
<i>PNO</i>	1,18 (p=0,27)	1,09 (p=0,62)	4,63 (p=0,004)
<i>NPY4R</i>	3,21 (p<0,05)	-1,01 (p=0,95)	1,01 (p=0,97)
<i>TACR1</i>	-1,06 (p=0,61)	-1,17 (p=0,34)	-1,13 (p=0,61)
<i>UCN</i>	1,02 (p=0,98)	-1,06 (p=0,92)	-1,21 (p=0,43)

Примітка. Р-значення розраховуються за t-критерієм Стьюдента повторних значень  $2^{(-\Delta \Delta CT)}$  для кожного гена в контрольній групі та групах дослідження.

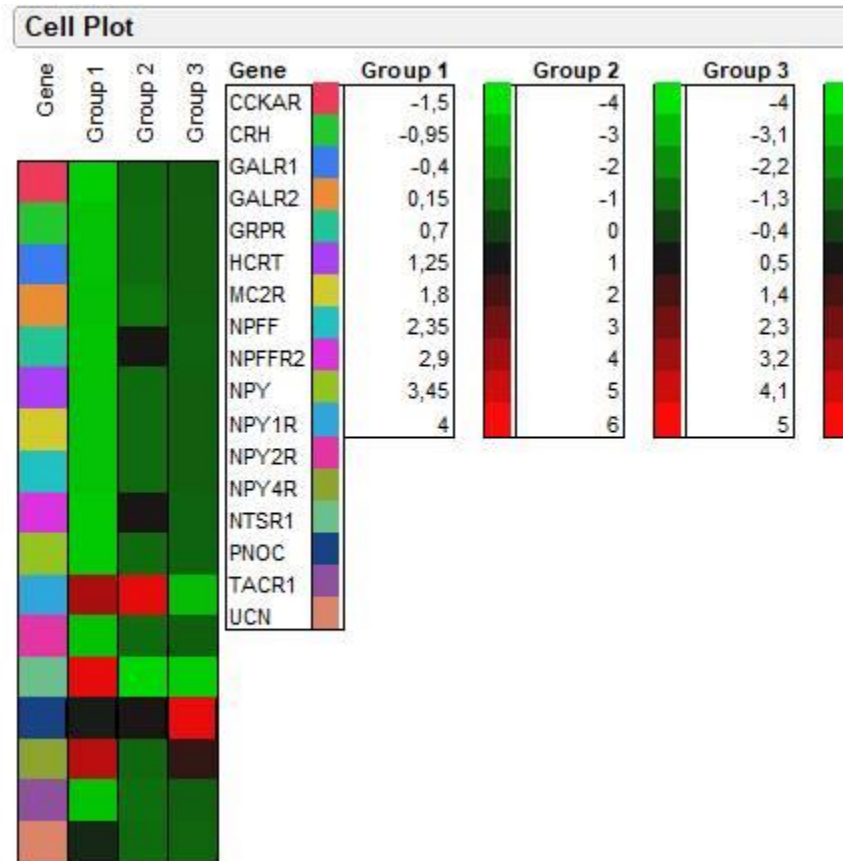


Рисунок 5.7 – Клітинний графік змін експресії генів нейропептидів та їх рецепторів

### 5.5 Аналіз експресії генів-регуляторів апоптозу і клітинного циклу

Гормони ЩЗ є основними регуляторами найважливіших клітинних процесів, таких як проліферація, диференціювання, а також апоптоз [295], включно із взаємодією багатьох про- і антиапоптотичних генів. Ряд білків, що регулюють клітинний цикл, модулюють запрограмовану загибель клітин. Внутрішній (мітохондріальний) шлях апоптозу включає пошкодження ДНК та/або утворення вільних радикалів з наступним вивільненням цитохрому *c*; білки родини Bcl-2 та білок p53 є важливим медіатором такої передачі сигналів. Зовнішній (мембранний) шлях апоптозу активується фактором некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) і Fas-лігандом [468]. Гормони ЩЗ впливають на транскрипцію ряду генів, пов'язаних із апоптозом [322], але результати дослідження досі були непереконливими.

У нашій роботі ми вивчали зміни в експресії генів, орієнтованих на шляхи апоптозу та клітинного циклу, в пацієнтів із різними формами патології ЩЗ. Гени-регулятори апоптозу ми розподілили на антиапоптотичні (*BCL2*, *HSPB1*, *TGFA*); проапоптотичні (*BAX*, *FAS*, *NF1*, *TP 53*) та ті, що чинять різнорідний вплив на апоптоз (*CD40*, *TGFB1*) (рис. 5.8 А-В).

Аналіз експресії генів, орієнтованих на шляхи клітинного циклу, засвідчує, що в пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом, серед антиапоптотичних генів, експресія *BCL2* та *TGFA* була підвищеною в 3,2 ( $p=0,005$ ) та 4,5 ( $p=0,009$ ) рази відповідно, тоді як регуляція *HSPB1* виявилася зниженою (в 11,8 рази,  $p=0,00008$ ) (рис. 5.8 А).

Експресія проапоптотичних генів, таких як *BAX*, *FAS*, *NF1* і *TP 53*, вірогідно не змінилася (рис. 5.8А). Також в нашому дослідженні було виявлено зниження експресії *CD40* (в 3,9 рази,  $p=0,0003$ ), тоді як експресія *TGFB1* була збільшена (в 4,9 рази,  $p=0,005$ ) (рис. 5.8А).

У пацієнтів з гіпотиреозом внаслідок АІТ (група 2) експресія генів-регуляторів апоптозу змінювалася наступним чином: серед антиапоптотичних генів регуляція *BCL2* збільшилась (у 6,6 рази,  $p=0,03$ ), тоді як регуляція *TGFA* та *HSPB1* була знижена на 46,4 ( $p=0,003$ ) і в 11,2 ( $p=0,0005$ ) рази відповідно (рис. 5.8В).

Серед проапоптотичних генів спостерігалось підвищення експресії *BAX* (у 11,6 рази,  $p=0,001$ ), натомість експресії *FAS* (в 28,8 рази,  $p=0,0004$ ) і *TP53* (в 66,9 рази,  $p=0,0003$ ) були знижені (рис. 5.8В). Як показано в таблиці 5.5, експресія *CD 40* виявилася значно вищою в групі 2 (у 6,3 рази,  $p=0,03$ ), тоді як експресія *TGFB1* у цій же групі була значно нижчою (в 21,8 рази,  $p=0,02$ ).

Згідно з даними нашого дослідження, в групі 3, до якої входять пацієнти з АІТ із підвищенням сироваткових АТПО та АТТГ, регуляція антиапоптотичних генів, таких як *BCL2* і *TGFA*, була знижена в 26,4 ( $p=0,0008$ ) і 17,6 ( $p=0,004$ ) рази відповідно. У той же час рівень мРНК *HSPB1* був значно підвищений (в 6,0 разів,  $p=0,05$ ) (рис. 5.8С).

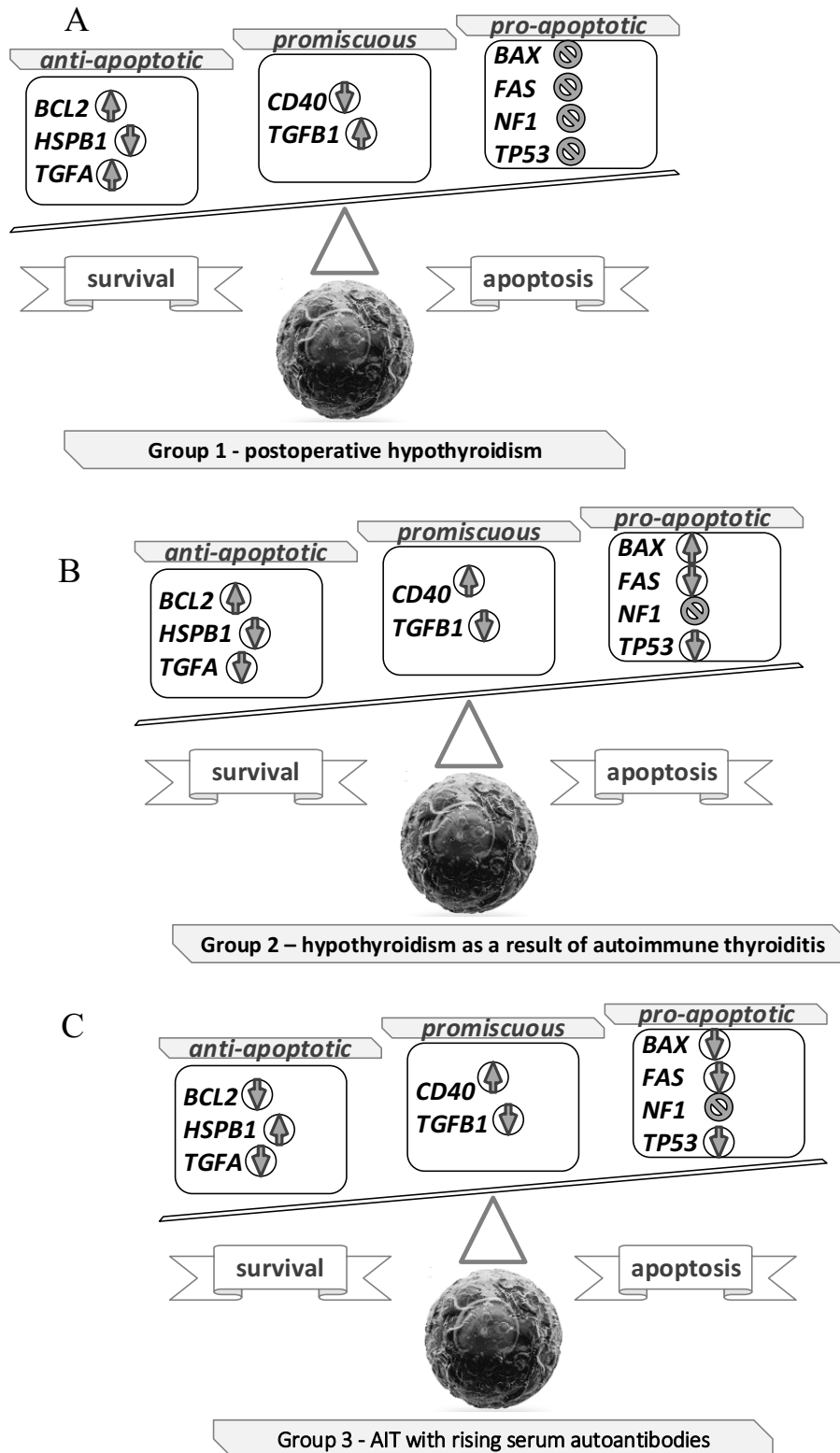


Рисунок 5.8 (А-В-С) – Диференційна експресія генів, орієнтованих на шляхи апоптозу і клітинного циклу, в пацієнтів з патологією ЩЗ

Примітка. ↑ – підвищена регуляція генів, ⊖ – незмінні гени, ↓ – знижена регуляція генів.

Таблиця 5.5 – Диференційна експресія мРНК генів, орієнтованих на шляхи апоптозу і клітинного циклу, в пацієнтів із різною патологією ЦЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою (рази)		
	група 1	група 2	група 3
<i>BAX</i>	2,81 (p=0,053)	11,58 (p=0,001)	-23,22 (p=0,0001)
<i>BCL2</i>	3,21 (p=0,005)	6,59 (p=0,03)	-26,37 (p=0,0008)
<i>CD40</i>	-3,88 (p=0,0003)	6,32 (p=0,03)	9,96 (p=0,04)
<i>FAS</i>	2,61 (p=0,06)	-28,77 (p=0,0004)	-44,45 (p=0,0002)
<i>HSPB1</i>	-11,83 (p=0,00008)	-11,18 (p=0,0005)	5,99 (p=0,05)
<i>NF1</i>	-1,057 (p=0,647)	-1,102 (p=0,372)	-1,13 (p=0,402)
<i>TGFA</i>	4,46 (p=0,009)	-46,42 (p=0,003)	-17,59 (p=0,004)
<i>TGFB1</i>	4,87 (p=0,005)	-21,81 (p=0,02)	-38,51 (p=0,0001)
<i>TP53</i>	2,055 (p=0,05)	-66,87 (p=0,0003)	-29,66 (p=0,0003)

Примітка. Значення p розраховуються на основі t-критерію Стьюдента повторних значень  $2^{(-\Delta \Delta CT)}$  для кожного гена в контрольній групі та групах дослідження.

У 3 групі було виявлено зниження мРНК *BAX* (в 23,2 раза, p=0,0001), *FAS* (в 44,5 раза, p=0,0002) і *TP53* (у 29,7 раза, p=0,0003). Експресія *CD40* була помітно збільшена в групі 3 (в 9,9 раза, p=0,04), тоді як рівень мРНК *TGFB1* був значно знижений (в 38,5 раза, p=0,0001) (рис. 5.9).

**Heat map plots Apoptosis & cell cycle  
pathway-focused gene expression**

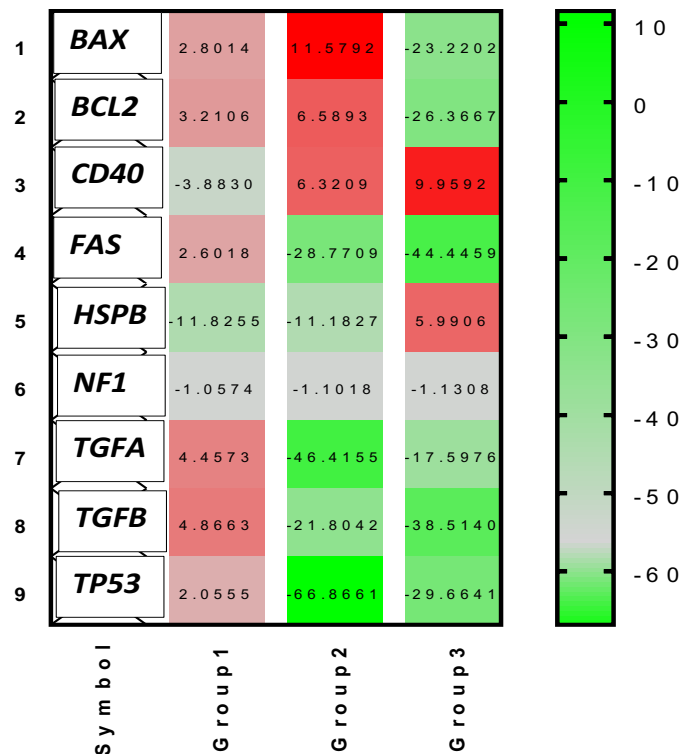


Рисунок 5.9 – Графік теплової карти змін експресії генів (кількість разів), орієнтованих на шляхи апоптозу і клітинного циклу в пацієнтів із патологією ЩЗ. Червоний колір – збільшення рівня відносної нормалізованої експресії, зелений – зменшення

Використовуючи наші дані про апоптоз і гени, орієнтовані на шляхи клітинного циклу, ми побудували генні мережі за допомогою програмного забезпечення GeneMANIA (<http://genemania.org>). Це дозволило нам визначити, як гени-кандидати взаємодіють з іншими генами, і висунути гіпотези стосовно функції генів, проаналізувати списки генів і визначити їх пріоритетність для функціональних аналізів. Як показано на рисунку 5.10, у генній мережі, яка контролює взаємодію та функціональні зв'язки апоптозу, клітинного циклу та регуляторів клітинної диференціації, найтісніші функціональні зв'язки спостерігалися між генами *HSPB1* та *HSPB6*, *BCL2* та *BCL2L11*, *TP53* та *HMGB1*, *FAS* та *FADD*.

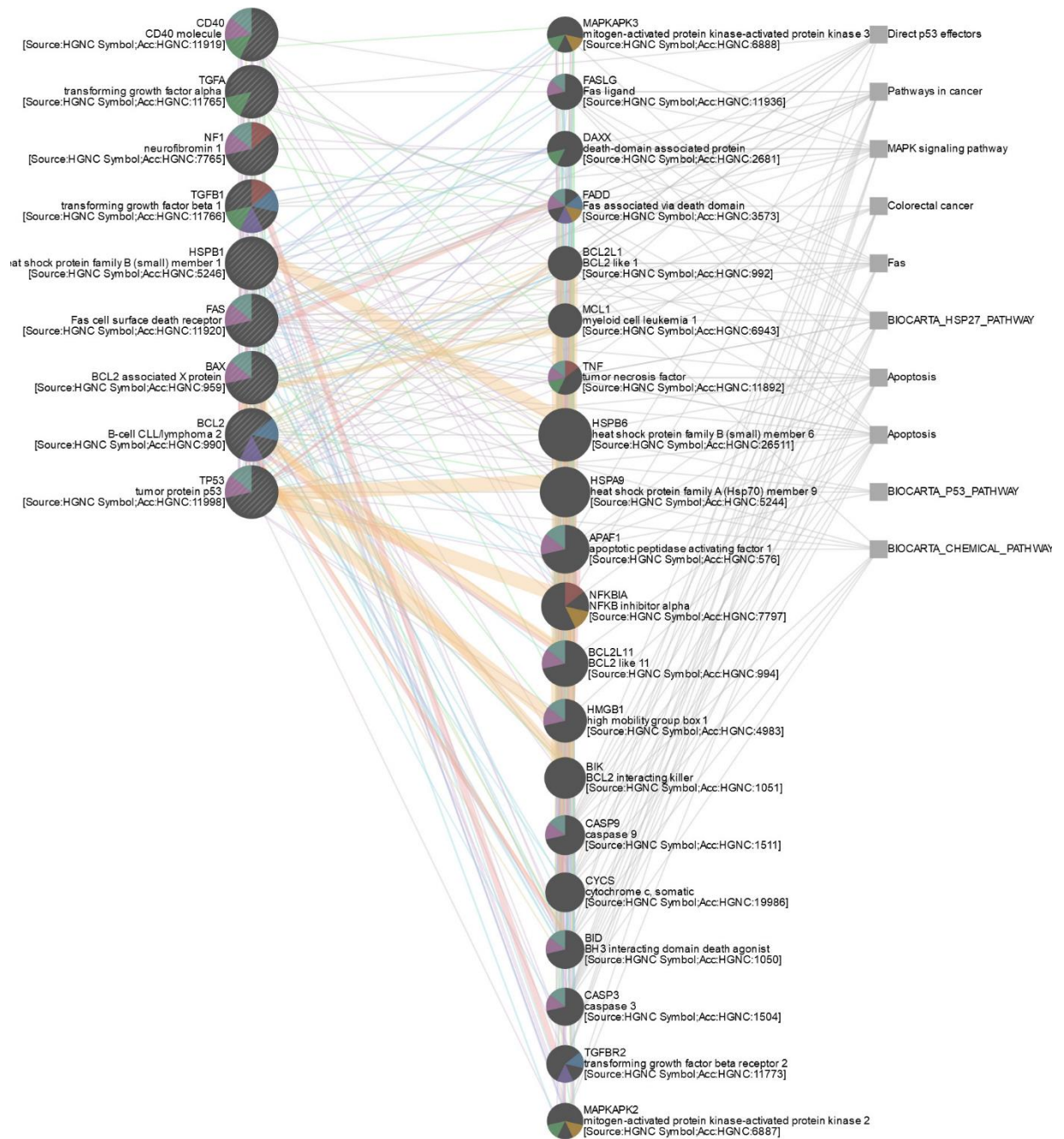


Рисунок 5.10 – Мережа взаємодії генів і функціональні зв'язки генів, орієнтованих на шляхи апоптозу та клітинного циклу



## 5.6 Аналіз експресії генів, які кодують транскрипційні фактори

Важливу роль в автоімунних захворюваннях відіграють гени *STAT*, оскільки вони кодують імунорегуляторні білки, які можуть діяти як вторинні месенджери в сигнальному шляху JAK-STAT [290, 336]. На сьогодні ідентифіковано сім *STAT*: *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT4*, *STAT5A*, *STAT5B* і *STAT6* [203]. Шлях STAT відіграє вагомую роль у долі Т-хелперів (Th), диференціюючи CD4<sup>+</sup> Th-клітини на безліч ефекторних підмножин, включаючи Th1, Th2, Th17, Tregs тощо (рис. 5.11).

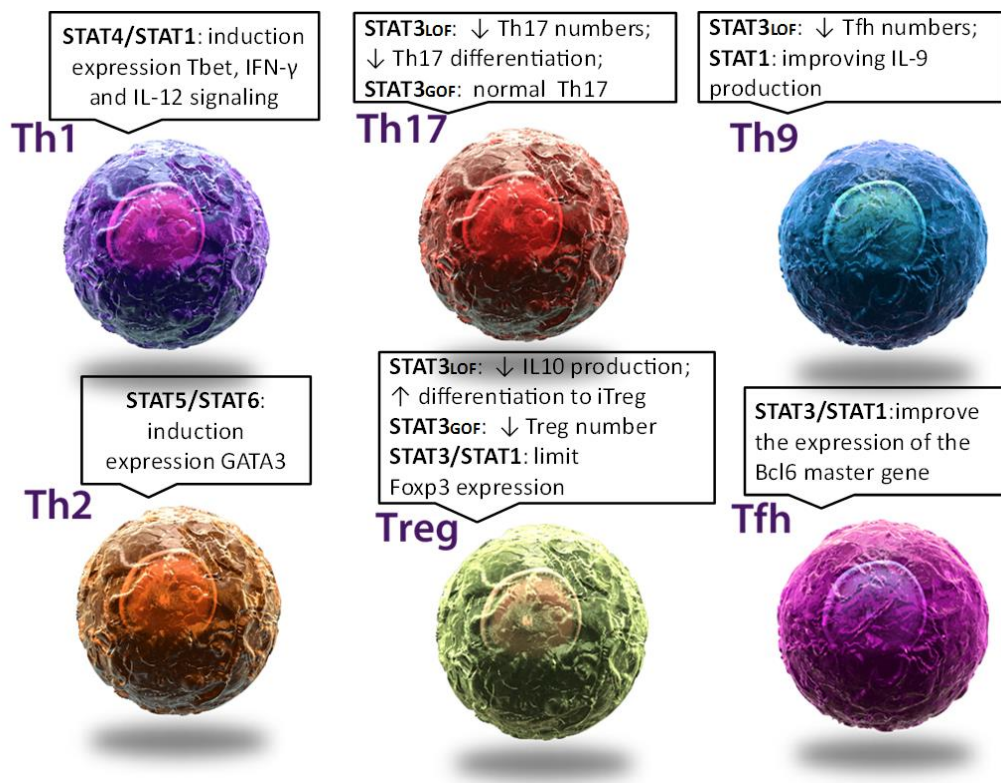


Рисунок 5.11 – Роль родини STAT у диференціюванні CD4<sup>+</sup>клітин. LOF – мутації з втратою функції в STAT3; GOF – мутації з посиленням функції в STAT3

Диференційна експресія мРНК факторів транскрипції і генів, орієнтованих на шляхи регуляції при різній патології ЩЗ, наведена в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Диференційна експресія факторів транскрипції в пацієнтів із різною патологією ЩЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою		
	група 1	група 2	група 3
<i>FOS</i>	11,41 (p=0,01)	-1,54 (p=0,11)	-7,42 (p=0,0001)
<i>MYC</i>	-1,34 (p=0,27)	1,157 (p=0,51)	1,15 (p=0,54)
<i>NR1I2</i>	3,14 (p=0,02)	3,37 (p=0,02)	-3,92 (p=0,0005)
<i>STAT1</i>	-4,54 (p=0,0004)	-22,83 (p=0,0002)	6,201 (p=0,067)
<i>STAT2</i>	-3,082 (p=0,001)	2,44 (p=0,02)	1,028 (p=0,53)
<i>STAT3</i>	-4,57 (p=0,0005)	2,84 (p=0,005)	2,71 (p=0,02)
<i>STAT4</i>	1,19 (p=0,02)	1,12 (p=0,24)	1,05 (p=0,45)
<i>TP53</i>	2,06 (p=0,002)	-66,87 (p=0,0003)	-29,66 (p=0,0003)

Примітка. Значення p розраховуються на основі t-критерію Стьюдента повторних значень  $2^{-(\Delta \text{CT})}$  для кожного гена в контрольній групі та групах пацієнтів.

Аналіз експресії факторів транскрипції і генів, орієнтованих на шляхи регуляції, засвідчив, що в пацієнтів з ПОГ збільшилася експресія *FOS* (в 11,4 рази, p=0,01), *NR1I2* (в 3,1 рази, p=0,02), *STAT4* (в 1,2 рази, p=0,02) і *TP53* (в 2,1 рази, p=0,002), порівняно з контрольною групою (табл. 5.6). Крім того, ми виявили зниження експресії *STAT1* (в 4,5 рази, p=0,0004), *STAT2* (в 3,1 рази, p=0,001) і *STAT3* (в 4,5 рази, p=0,0005). Як показано на рисунку 5.12, в пацієнтів із післяопераційним гіпотиреозом експресія *MYC* не змінилася.

У пацієнтів з АІТ з Г (група 2) аналіз експресії генів показав підвищення експресії *NR1I2* (в 3,4 рази, p=0,02), *STAT2* (в 2,4 рази, p=0,02) і *STAT3* (в 2,8 рази, p=0,005), порівняно з контрольною групою. Згідно з

даними нашого дослідження, виявлено значне зниження експресії *STAT1* (в 22,8 раза,  $p=0,0002$ ) і *TP53* (в 66,8 раза,  $p=0,0003$ ). Як показано в таблиці 5.6, мРНК *FOS*, *MYC* і *STAT4* не змінили свою експресію в пацієнтів із гіпотиреозом, що виник унаслідок АІТ.

Ми виявили, що в групі 3, до якої входять пацієнти з АІТ і підвищенням рівнів АТТГ та АТПО, експресія *FOS* і *NR1I2* була знижена в 7,4 ( $p=0,0001$ ) і 3,9 ( $p=0,0005$ ) раза відповідно. Рівень мРНК *STAT3* був значно підвищений (у 2,7 раза,  $p=0,02$ ). Крім того, ми виявили, що *MYC*, *STAT1*, *STAT2* і *STAT4* не змінювали свою експресію в пацієнтів групи 3 (рис. 5.12).

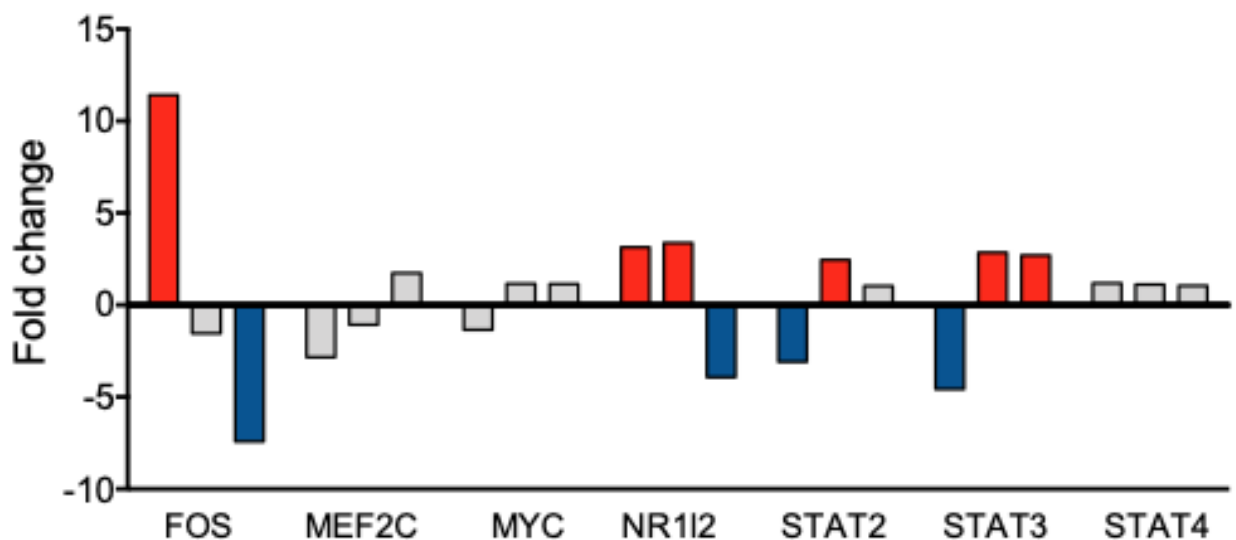


Рисунок 5.12 – Експресія мРНК факторів транскрипції і генів, орієнтованих на шляхи регуляції, в пацієнтів з різною патологією ЩЗ. Червоний колір – гени з підвищеною регуляцією, синій колір – гени зі зниженою регуляцією

Результати цього дослідження демонструють, що АІТ і гіпотиреоз генно-специфічним чином впливають на експресію генів факторів транскрипції і регуляторів, що може бути одним із тригерів прогресування аутоімунного запалення в ЩЗ.

### 5.7 Аналіз експресії генів цитокінів

Дані про експресію цитокінів і генів, орієнтованих на шлях рецепторів цитокінів, у пацієнтів з різними формами патології ЩЗ у країнах Європи є обмеженими, а такі дані з України не були опубліковані на міжнародному рівні. Цитокіни можуть впливати на автоімунний процес за допомогою ряду механізмів, включаючи рекрутування запальних клітин і активацію молекул, необхідних для підтримки запальної реакції в ураженій ділянці. Цитокіни, їх рецептори і використовувані ними сигнальні шляхи є потенційно привабливими терапевтичними мішенями при АІЗЩЗ [98]. Крім того, фолікулярні клітини ЩЗ самі можуть продукувати кілька типів цитокінів [349]. Ми проаналізували експресію цитокінів у пацієнтів з гіпотиреозом у результаті АІТ і післяопераційного гіпотиреозу, а також у пацієнтів з АІТ із підвищенням АТПО та АТТГ.

Результати аналізу експресії генів цитокінів наведені в таблиці 5.7.

Таблиця 5.7 – Диференційна експресія мРНК цитокінів і їх рецепторів у пацієнтів з різною патологією ЩЗ

Назви генів	Підвищення/зниження експресії генів порівняно з контрольною групою		
	група 1	група 2	група 3
1	2	3	4
<i>CX3CR1</i>	-5,04 (p=0,003)	-16,1 (p=0,0009)	4,36 (p=0,09)
<i>CXCR4</i>	-3,5 (p=0,001)	-24,1 (p=0,001)	10,9 (p=0,04)
<i>IL10</i>	9,6 (p=0,01)	-27,03 (p=0,000001)	-28,6 (p=0,00004)
<i>IL10RA</i>	4,3 (p=0,04)	16,5 (p=0,04)	-12,7 (p=0,0003)

Продовження таблиці 5.7

1	2	3	4
<i>IL1<math>\beta</math></i>	-12,5 (p=0,001)	3,4 (p=0,006)	10,4 (p=0,04)
<i>IL1R1</i>	-11,1 (p=0,009)	3,3 (p=0,01)	6,2 (p=0,04)
<i>IL6</i>	-2,8 (p=0,01)	-27,4 (p=0,001)	3,5 (p=0,03)
<i>IL6R</i>	-4,6 (p=0,005)	-9,4 (p=0,0006)	3,1 (p=0,05)
<i>IL6ST</i>	2,7 (p=0,01)	5,3 (p=0,06)	-6,6 (p=0,003)
<i>LIF</i>	-1,1 (p=0,37)	-1,17 (p=0,15)	-1,14 (p=0,15)
<i>LIFR</i>	-1,06 (p=0,76)	-1,1 (p=0,54)	-1,08 (p=0,45)

Примітка. Значення p розраховуються на основі t-критерію Стьюдента повторних значень 2<sup>-Delta CT</sup> для кожного гена в контрольній групі та групах дослідження.

Цитокіни і гени рецепторного шляху, залучені в це дослідження, можна поділити на три функціональні групи: 1) ті, які мають переважно системні прозапальні ефекти (індуктори запалення і регулятори його інтенсивності): *IL1 $\beta$* , *IL1R1*, *IL6*, *IL6R*, *IL6ST*; 2) ті, які пригнічують прозапальні сигнали (репресори запалення): *IL10*, *IL10RA*, *LIF*, *LIFR*; 3) ті, які чинять різноспрямований вплив на запальний процес, залежно від типу клітин і тканин, в яких вивчається їх експресія: *CX3CR1* і *CXCR4*.

Аналіз експресії цитокінів показав, що в пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом, експресія *IL10* і *IL10RA* збільшилася в 9,6 (p=0,01) і 4,3 (p=0,04) раза відповідно (рис. 5.13В), тоді як експресія наступних генів знизилася: *CX3CR1* (в 5,04 раза, p=0,003), *CXCR4* (в 3,5 раза, p=0,001) (рис. 5.13В), *IL1 $\beta$*  (в 12,5 раза, p=0,001) і *IL1R1* (в 11,1 раза, p=0,009) (рис. 5.13А). Зниження рівнів мРНК *IL6* (в 2,8 раза, p=0,01) і *IL6R* (в 4,6 раза, p=0,005) також було виявлено в групі 1 (рис. 5.13А).

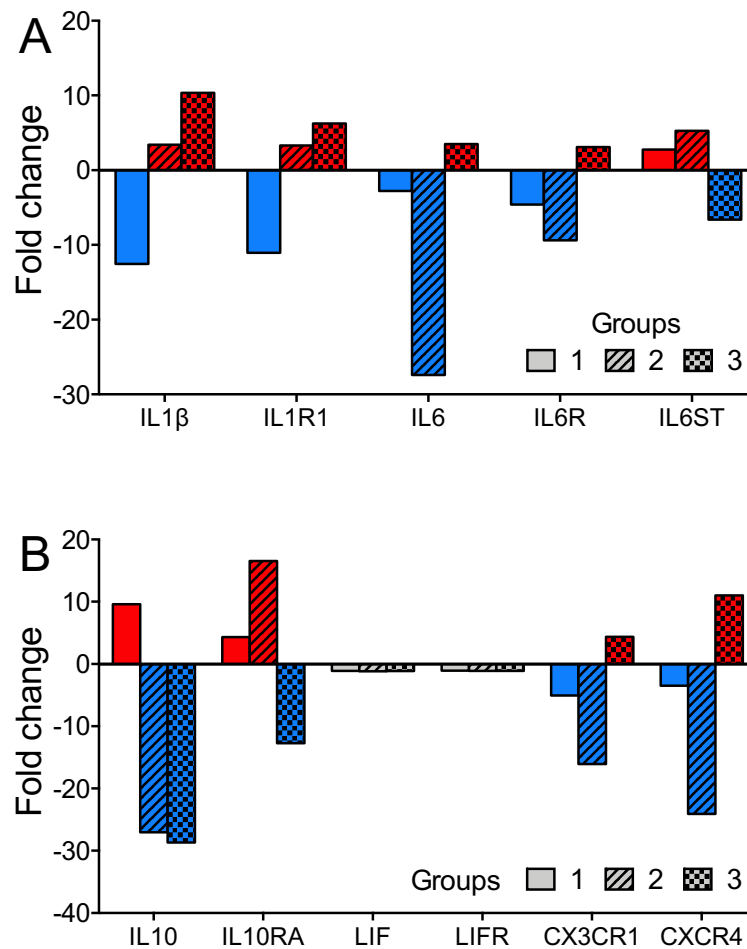


Рисунок 5.13 – Профілі експресії генів для цитокінів і рецепторів із системною прозапальною дією (А) та супресорів прозапальних сигналів із різноспрямованим впливом на запальний процес (В). Шаблон заливки представляє пацієнтів різних груп. Червоний колір показує підвищення регуляції, синій – зниження, а сірий – відсутність змін

Як показано в таблиці 5.7, у пацієнтів з гіпотиреозом, що виник у результаті АІТ (група 2), збільшилася експресія наступних цитокінів і генів рецепторного шляху: *IL10RA* (в 16,5 раза,  $p=0,04$ ), *IL1 $\beta$*  (в 3,4 раза,  $p=0,006$ ), *IL1R1* (в 3,3 раза,  $p=0,01$ ) і *IL6ST* (в 5,3 раза,  $p=0,06$ ). Спостерігалось зниження експресії *CX3CR1* (у 16,1 раза,  $p=0,0009$ ), *CXCR4* (у 24,1 раза,  $p=0,001$ ), *IL10* (у 27,03 раза,  $p=0,000001$ ) (рис. 5.13В), *IL6* (в 27,4 раза,  $p=0,001$ ) і *IL6R* (в 9,4 раза,  $p=0,0006$ ) (рис. 5.13А).

У групі 3, яка включає пацієнтів з АІТ і підвищеними рівнями АТПО та АТТГ, рівні *IL10* і *IL10RA* були знижені в 28,6 ( $p=0,00004$ ) і 12,7 ( $p=0,0003$ ) рази відповідно (рис. 5.13В). Спостерігалось збільшення рівнів мРНК *IL6* (в 3,5 рази,  $p=0,03$ ) і *IL6R* (в 3,1 рази  $p=0,05$ ) (рис. 5.13В). Рівні мРНК *IL6ST* у 3 групі були знижені в 6,6 рази ( $p=0,003$ ). Згідно наших досліджень експресія *IL1 $\beta$*  (в 10,4 рази,  $p=0,04$ ) і *IL1R1* (в 6,2 рази,  $p=0,04$ ) значно збільшилася (табл. 5.7). Експресія *LIF* і *LIFR* вірогідно не відрізнялася у всіх групах пацієнтів (рис. 5.13В).

Усі результати підсумовані на рисунку 5.14. Установлено, що пацієнти 1 групи мають гени з підвищеною регуляцією для *IL10* та зниженою для *IL1 $\beta$*  і його рецептора *IL1R1*, а також ряд спільних змін експресії з другою групою (рис. 5.14). Пацієнти 3 групи, на відміну від інших, мають підвищену регуляцію генів *IL6* і *IL6R*, тоді як знижену для *IL6ST* і *IL10RA*, а також ряд спільних змін відносної нормалізованої експресії з другою групою (рис. 5.14).

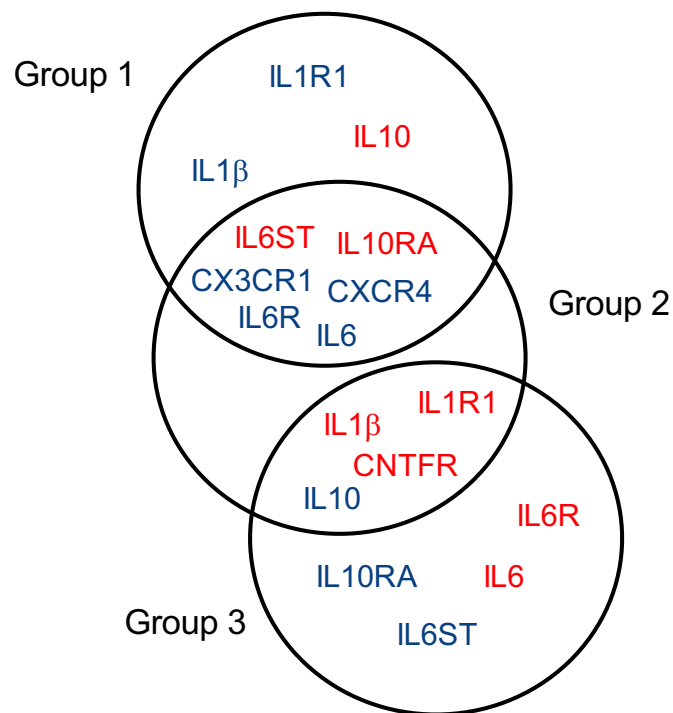


Рисунок 5.14 – Різні та спільні ефекти на профілі експресії генів у пацієнтів експериментальних груп

### Висновки

1. Транскрипційна активність генів-регуляторів передачі нервових імпульсів *BDNF*, *CBLN1* і *MEF2C* у хворих на гіпотиреоз (ПОГ, АІТ з Г) вірогідно нижча, ніж у групі контролю, в 2,8-41,8 рази ( $p \leq 0,003-0,001$ ), за зростання такої для *GDNF* – у 5-10,7 рази ( $p \leq 0,005$ ).

Натомість у пацієнтів із АІТ на тлі підвищених рівнів АТПО та АТТГ у сироватці крові навпаки вища експресія *BDNF*, *CBLN1*, а також *PNOС* у 3,4-4,6 рази ( $p \leq 0,03$ ), за зниження такої для *GDNF* і *NTSR1* – у 3,6-21,0 рази ( $p \leq 0,005$ ) відповідно.

Не встановлено змін транскрипційної активності генів *CNTF*, *CRH*, *GALR1*, *GALR2*, *HCRT*, *NPFF* і *NPY* у всіх групах спостереження.

2. Експресія окремих генів-регуляторів нейрогенезу зменшена у всіх хворих, незалежно від патології ЩЗ: *NGFR*, *NRG1* і *NTF3* – у 4,43-17,4 рази ( $p \leq 0,015$ ), тоді як гени *ARTN*, *PSPN*, *TFG*, *MT3*, *NELL1* не змінили своєї транскрипційної активності ( $p > 0,05$ ).

Установили додатково нижчу експресію за первинного гіпотиреозу (АІТ з Г та ПОГ) для гена *FGF2* – у 20,1-20,8 рази ( $p < 0,001$ ), а у хворих на АІТ без гіпотиреозу – для генів *GFRA3*, *NTRK1* і *NTRK2* у 6,4-10,5 рази ( $p \leq 0,002$ ).

3. Рівні мРНК окремих генів нейротрофінів та їх рецепторів статистично значимо знижені у всіх хворих попри вид захворювання ЩЗ: *GFRA2*, *NGF*, *NRG2*, *NTF4* – у 3,58-7,84 рази ( $p \leq 0,002$ ). За гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г) додатково нижчу експресію виявили в генів *CRHBP*, *GMFB*, *VGF* – у 4,54-5,96 рази ( $p \leq 0,014$ ). Натомість за АІТ на тлі зростання сироваткових рівнів АТПО і АТТГ попередньо зазначені гени проявляють вищу транскрипційну активність (*CRHBP*, *GMFB*, *VGF*, а також *NRG4* і *TRO*) у 6,03-14,41 рази ( $p \leq 0,013$ ).

Гени нейротрофінів *ADCYAP1R1*, *CRHR1*, *CRHR2*, *FUS*, *GMFG* і *MAGED1* не змінюють своєї експресії у хворих на патологію ЩЗ.



4. Диференційна транскрипційна активність генів-нейропептидів та їх рецепторів засвідчила вірогідне зростання рівня мРНК для *NPY1R*, *NTSR1* і *NPY4R* у хворих на ПОГ у 3,0-3,73 раза ( $p < 0,05$ ), за різноспрямованої активності за АІТ з Г (збільшення експресії *NPY1R* у 5,5 раза ( $p < 0,001$ ) і, навпаки, зниження такої для *NTSR1* – у 3,71 раза ( $p = 0,007$ )). У пацієнтів із АІТ без гіпотиреозу гени *NPY1R* і *NTSR1* проявляли низьку активність ( $p \leq 0,005$ ), на тлі зростання експресії *PNOG* у 4,63 раза ( $p = 0,004$ ). Експресія інших генів-нейропептидів і їх рецепторів (*CCKAR*, *CRH*, *GRPR*, *HCRT*, *MC2R*, *NPFF*, *NPFFR2*, *NPY*, *TACR1* і *UCN*) не змінювалась під впливом патології ЩЗ.

5. Аналіз експресії генів-регуляторів окремих шляхів апоптозу і клітинного циклу встановив зниження транскрипційної активності проапоптотичних генів *BAX*, *FAS* і *TP53* у хворих на АІТ без та із гіпотиреозом – у 23,22-66,87 раза ( $p < 0,001$ ), на тлі зростання експресії *CD40* – у 6,32 і 9,96 раза ( $p < 0,05$ ), за зменшення такої для *TGFBI* – у 21,81 і 38,51 раза ( $p \leq 0,02$ ). У пацієнтів із гіпотиреозом (ПОГ і АІТ з Г) знижувалась експресія гена *HSPB1* у 11,83 і 11,18 раза ( $p < 0,001$ ) за її збільшення в гена *BCL2* – у 3,21 і 6,59 раза відповідно. Додатково за ПОГ зростав рівень мРНК генів *TGFA*, *TGFBI* і *TP53* у 2,06-4,87 ( $p \leq 0,05$ ).

6. Активність генів, що кодують фактори транскрипції та шляхи імунорегуляції *FOS*, *NR1I2*, *STAT4* і *TP53*, вірогідно зросла у хворих на ПОГ у 1,19-11,41 раза ( $p \leq 0,02$ ) за зниження такої для *STAT1*, *STAT2* і *STAT3* у 3,08-4,57 раза ( $p \leq 0,001$ ). У пацієнтів із АІТ і гіпотиреозом установили підвищену експресію генів *NR1I2*, *STAT2* і *STAT3* у 2,44-3,37 раза ( $p \leq 0,02$ ), з її зменшенням для *STAT1* та *TP53* у 22,83 і 66,87 раза ( $p < 0,001$ ) відповідно. Тоді як за АІТ без гіпотиреозу знизилась експресія *FOS*, *NR1I2* і *TP53*, а рівень мРНК гена *STAT3* зріс у 2,71 раза ( $p = 0,02$ ). Змін транскрипційної активності *MYC* не встановили у жодній групі спостереження.

7. Експресія генів цитокінів та їх рецепторних шляхів у пацієнтів із післяопераційним гіпотиреозом та гіпотиреозом, спричиненим АІТ, –

*CX3CR1*, *CXCR4*, *IL6* та *IL6R* вагомо знижена у 2,8-16,1 раза ( $p \leq 0,01$ ), тоді як експресія *IL6ST* та *IL10RA* навпаки зросла у 2,7-16,5 раза ( $p \leq 0,04$ ). У хворих на АІТ із- та без гіпотиреозу збільшувались рівні мРНК *IL1 $\beta$*  і *IL1R1* на тлі зменшення експресії *IL10* – у 3,3-10,4 та у 27,03-28,6 раза відповідно ( $p \leq 0,04$ ). Додатково у осіб із АІТ без гіпотиреозу за високих рівнів сироваткових АТПО, АТТГ вірогідно зростає транскрипційна активність *CXCR4*, *IL6* і *IL6R*, однак знижується мРНК *IL10RA* та *IL6ST* – у 3,1-10,9 і 6,6-12,7 раза відповідно ( $p \leq 0,05$ ). Зміни експресії генів *LIF* і *LIFR* не встановили.

Наведені в розділі результати опубліковано в наукових працях автора [47, 48, 49, 52, 240, 241, 242, 251, 252, 254, 260, 263].

## РОЗДІЛ 6

### ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ТРИВОЖНИХ РОЗЛАДІВ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

У численних дослідженнях встановлено, що ЩЗ має значний вплив на когнітивні функції та настрої людини. Явний гіпотиреоз тісно пов'язаний з численними нейропсихологічними та психічними розладами, такими як дефіцит уваги, недостатня концентрація та проблеми з пам'яттю, психомоторна затримка, депресивний настрої та тривога [138, 464]. Оскільки зв'язок між дисфункцією ЩЗ та психоневрологічними наслідками був відомий протягом багатьох років [316], лише за останні кілька років різні дослідження виявили зв'язок між АІТ та когнітивними й афективними розладами при еутиреоїдному стані. Дослідження показало значну коморбідність між тривожними розладами та захворюваннями ЩЗ [168].

Ми проаналізували асоціації поліморфізму гена *BDNF* (rs6265), поліморфізму гена *VDR* (rs2228570) та поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) з тривожністю в пацієнтів з АІТ та гіпотиреозом і спрогнозували розвиток тривожних розладів у цих пацієнтів.

Аналіз тривоги за шкалою Гамільтона, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) наведений у таблиці 6.1.

Згідно з даними, отриманими при порівнянні тривожності за шкалою Гамільтона, не були виявлені статистично значущі відмінності залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265) ( $p=0,236$ ). Серед носіїв *CC* та *CT* генотипів у 81 % та 84,4 % хворих були діагностовані тривожні розлади, а серед носіїв *TT* генотипу тривожність була виявлена у всіх пацієнтів.

Порівнюючи тривожність за шкалою Гамільтона залежно від поліморфізму гена *VDR* (rs2228570), поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213), статистично значущих відмінностей також не було виявлено ( $p=0,563$ ,  $p=0,653$  відповідно).

Таблиця 6.1 – Наявність тривожних розладів, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)

Ген	Генотип	Тривожні розлади		$\chi^2$ p
		норма n (%)	є n (%)	
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	23 (19,0)	98 (81,0)	$\chi^2=2,887$ p=0,236
	<i>CT</i>	7 (15,6)	38 (84,4)	
	<i>TT</i>	0 (0)	12 (100,0)	
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	12 (17,6)	56 (82,4)	$\chi^2=1,149$ p=0,563
	<i>AG</i>	10 (13,7)	63 (86,3)	
	<i>GG</i>	8 (21,6)	29 (78,4)	
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	7 (13,0)	47 (87,0)	$\chi^2=0,852$ p=0,653
	<i>CT</i>	16 (18,8)	69 (81,2)	
	<i>TT</i>	7 (17,9)	32 (82,1)	

Згідно з даними, наведеними в таблиці 6.2, у всіх носіїв *TT* генотипу *BDNF* (rs6265) виявлені ознаки тривоги за шкалою Гамільтона. Так, у 50 % пацієнтів з генотипом *TT* виявлені тривожні розлади, та ще у половини пацієнтів діагностовано наявність тривоги. Відповідно, у носіїв *CC* генотипу в 18,2 % обстежуваних симптомів тривоги немає, у 68,6 % діагностовані тривожні розлади та в 13,2 % виявлена тривога. У той же час у 15,6 % носіїв *CT* генотипу тривоги не виявлено. У 37,8 % носіїв *CT* генотипу діагностовані тривожні розлади та у 46,7 % – тривога. При порівнянні тривоги за шкалою Гамільтона залежно від *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213), статистично значущих відмінностей не виявлено.

Аналіз рівня тривоги за шкалою Гамільтона (в балах) залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) в обстежених групах наведений у таблиці 6.3.

Таблиця 6.2 – Аналіз тривожних розладів, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)

Ген	Генотип	Наявність тривоги за шкалою Гамільтона			$\chi^2$ p
		симптомів тривоги немає n (%)	тривожні розлади n (%)	тривога n (%)	
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	22 (18,2)	83 (68,6)	16 (13,2)	$\chi^2=24,719$ p<0,001
	<i>CT</i>	7 (15,6)	17 (37,8)	21 (46,7)	$\chi^2=17,446$ p<0,001
	<i>TT</i>	0 (0,0)	6 (50,0)	6 (50,0)	$\chi^2=5,851$ p=0,054
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	12 (17,6)	40 (58,8)	16 (23,5)	$\chi^2=0,152$ p=0,927
	<i>AG</i>	9 (12,3)	45 (61,6)	19 (26,0)	$\chi^2=1,463$ p=0,482
	<i>GG</i>	8 (21,6)	21 (56,8)	8 (21,6)	$\chi^2=1,000$ p=0,607
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	6 (11,1)	32 (59,3)	16 (29,6)	$\chi^2=2,239$ p=0,327
	<i>CT</i>	16 (18,8)	50 (58,8)	19 (22,4)	$\chi^2=0,874$ p=0,647
	<i>TT</i>	7 (17,9)	24 (61,5)	8 (20,5)	$\chi^2=0,392$ p=0,823

При аналізі тривоги за шкалою Гамільтона (табл. 6.3) спостерігалось ймовірне збільшення балів в основній групі в носіїв усіх генотипів *BDNF* (rs6265), порівняно з контрольною групою. Так, засвідчено збільшення кількості балів у 2,3 раза (p<0,001) у носіїв генотипу *CC*, в 2,78 раза (p<0,001) у носіїв генотипу *CT* і в 2,1 раза (p<0,001) у носіїв генотипу *TT*, порівняно з контрольною групою.

Таблиця 6.3 – Показники рівня тривоги (в балах) за шкалою Гамільтона в пацієнтів з різною тиреоїдною патологією залежно від варіантів генотипу за поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265)

Показник рівня тривоги (в балах) за шкалою Гамільтона (M±m)						
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	P5	P6	P7
Контроль	4,65 ± 1,0	5,17 ± 0,75	7,0 ± 1,0	0,208	<0,05	<0,001
Дослідна група	10,78 ± 3,3	14,31 ± 3,71	14,81 ± 3,43	<0,001	0,0047	0,308
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
ПОГ	12,75 ± 3,28 (8)	14,51 ± 2,17 (6)	15,51 ± 0,71 (2)	0,254	0,06	0,061
P1	<0,001	<0,001	0,037			
P2	0,886	0,011	0,021			
АІТ з Г	12,56 ± 3,28	17,94 ± 0,77	19,0 ± 1,0	<0,001	<0,001	<0,001
P1	<0,001	<0,001	0,0023			
P3	<0,001	<0,001	<0,001			
АІТ	8,82 ± 1,98	10,82 ± 2,16	12,0 ± 1,58	0,68	0,21	0,44
P1	<0,001	<0,001	0,002			
P4	0,011	0,006	0,012			

Примітка. P1 – р-значення між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – р-значення між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – р-значення між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – р-значення між групами ПОГ та АІТ; P5 – р-значення між генотипами *CC* і *CT*; P6 – р-значення між генотипами *CC* і *TT*; P7 – р-значення між генотипами *CT* і *TT*.

Аналізуючи рівень тривоги за шкалою Гамільтона залежно від тиреоїдної патології, також виявлені статистично значущі відмінності в носіїв різних генотипів. Так, у пацієнтів з ПОГ виявлено зростання рівня тривоги за шкалою Гамільтона (в балах) серед носіїв *CC* генотипу в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ) та *CT* генотипу – в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ). Крім того, було засвідчено збільшення рівня тривоги серед носіїв *TT* генотипу з ПОГ (в 2,2 раза,  $p = 0,037$ ), порівняно з контрольною групою.

У хворих на АІТ з гіпотиреозом також було виявлено збільшення рівня тривоги за шкалою Гамільтона (в балах) у 2,7 раза ( $p < 0,001$ ) у носіїв *CC* генотипу, в 3,47 раза ( $p < 0,001$ ) у носіїв *CT* генотипу та *TT* генотипу (в 2,7 раза,  $p = 0,0023$ ), порівняно з контрольною групою.

Згідно з нашим дослідженням, у хворих на АІТ засвідчено збільшення рівня тривоги за шкалою Гамільтона (в балах) серед носіїв *CC* генотипу в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ), *CT* генотипу в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ). Також встановлено, що рівень тривоги був найвищим серед носіїв *TT* генотипу (в 1,7 раза,  $p = 0,002$ ), порівняно з контрольною групою.

У 47,37 % пацієнтів із патологією ЩЗ носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) діагностовано найвищий рівень тривожності – «тривогу» за шкалою Гамільтона, що було в 3,59 раза частіше, ніж в осіб із *CC*-генотипом ( $p < 0,001$ ). При цьому рівень тривоги за бальною шкалою у хворих із *T*-алелем перевищував такий у носіїв *CC*-генотипу на 32,75 % і 37,29 % ( $p < 0,001$ ), найсильніше за гіпотиреозу, особливо за АІТ з Г, – на 42,83 % і 51,27 % відповідно ( $p < 0,001$ ).

Дослідження тривоги (в балах) у пацієнтів з різною патологією ЩЗ, залежно від генотипу поліморфізму rs6265 (табл. 6.3) засвідчило, що у хворих на АІТ з гіпотиреозом також було зростання рівня тривоги за шкалою Гамільтона, залежно від варіантів генотипу за поліморфізмом генів *BDNF* (rs6265). Так, у носіїв *CT* генотипу кількість балів була вищою в 1,43 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з *CC* генотипом. У пацієнтів з генотипом *TT* також засвідчено зростання рівня тривоги в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з носіями *CC* генотипу. У пацієнтів з ПОГ та АІТ показники тривоги за шкалою Гамільтона були високими в носіїв усіх трьох генотипів і вірогідно не відрізнялися один від одного.

Ми дослідили прогностичну цінність рівнів ряду гормонів та білків у плазмі крові як потенційних маркерів тривожних розладів. Наступна крива була отримана при оцінці залежності виникнення тривоги від вмісту *BDNF* з використанням ROC-аналізу (рис. 6.1).

Відображена крива була отримана в ході оцінки залежності тривоги від BDNF з використанням ROC-аналізу (рис. 6.1, 6.2, табл. 6.4).

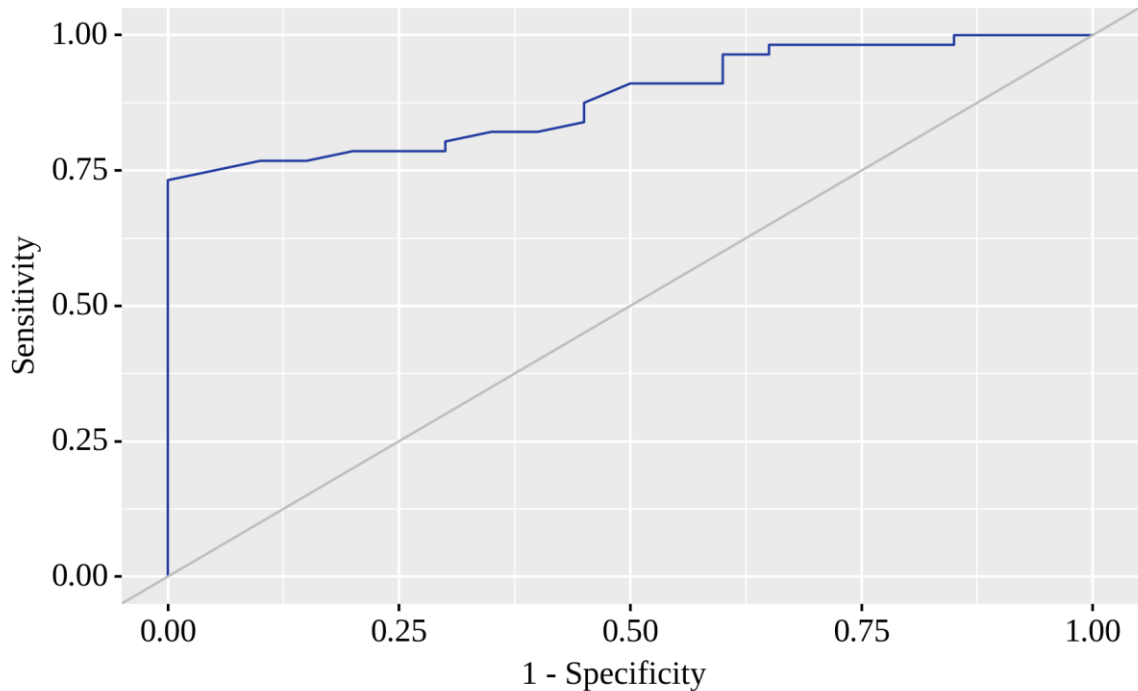


Рисунок 6.1 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від рівня BDNF

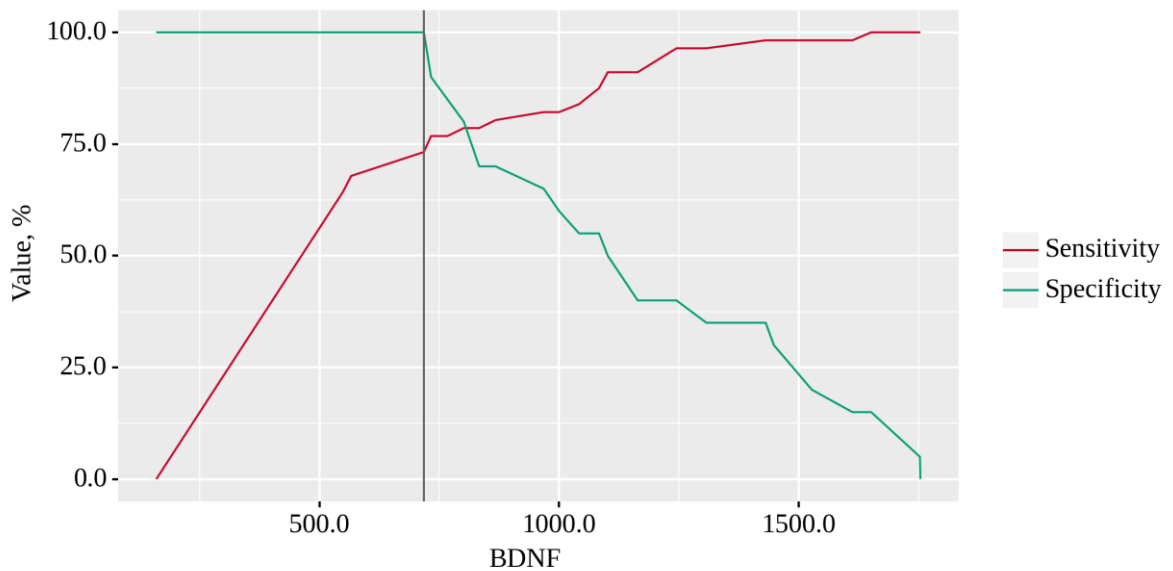


Рисунок 6.2 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від рівня BDNF



Таблиця 6.4 – Порогове значення BDNF

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
1102	91,1	50,0
1083	87,5	55,0
1042	83,9	55,0
1000	82,1	60,0
968	82,1	65,0
868	80,4	70,0
833	78,6	70,0
801	78,6	80,0
767	76,8	85,0
733	76,8	90,0
<b>718</b>	<b>73,2</b>	<b>100,0</b>
566	67,9	100,0
549	64,3	100,0

Площа під кривою ROC становила ( $0,884 \pm 0,051$ ) з 95 % ДІ: 0,784 – 0,985. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення BDNF, яке відповідає найвищій статистиці J Юдена, становить 717,950. Якщо BDNF був меншим або дорівнював цьому значенню, передбачали наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 73,2 і 100,0 % відповідно.

Наступну криву було отримано при оцінці залежності тривожних розладів від GRIN2B за допомогою аналізу ROC (рис. 6.3, 6.4, табл. 6.5).

Площа під кривою ROC становила ( $0,646 \pm 0,066$ ) з 95 % ДІ: 0,517 – 0,776. Отримана модель була статистично значущою ( $p = 0,045$ ).

Граничне значення GRIN2B, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 7,770. Якщо GRIN2B був більшим або дорівнював цьому значенню, передбачено наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 59,6 і 72,7 % відповідно.

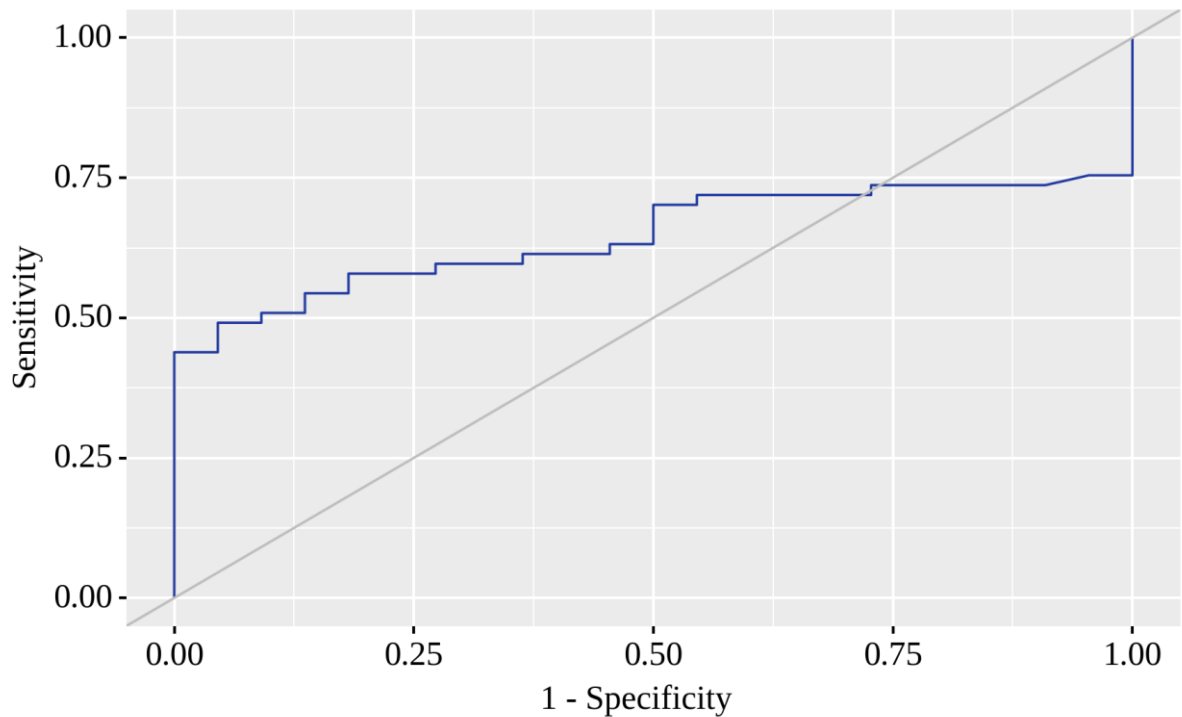


Рисунок 6.3 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від GRIN2B

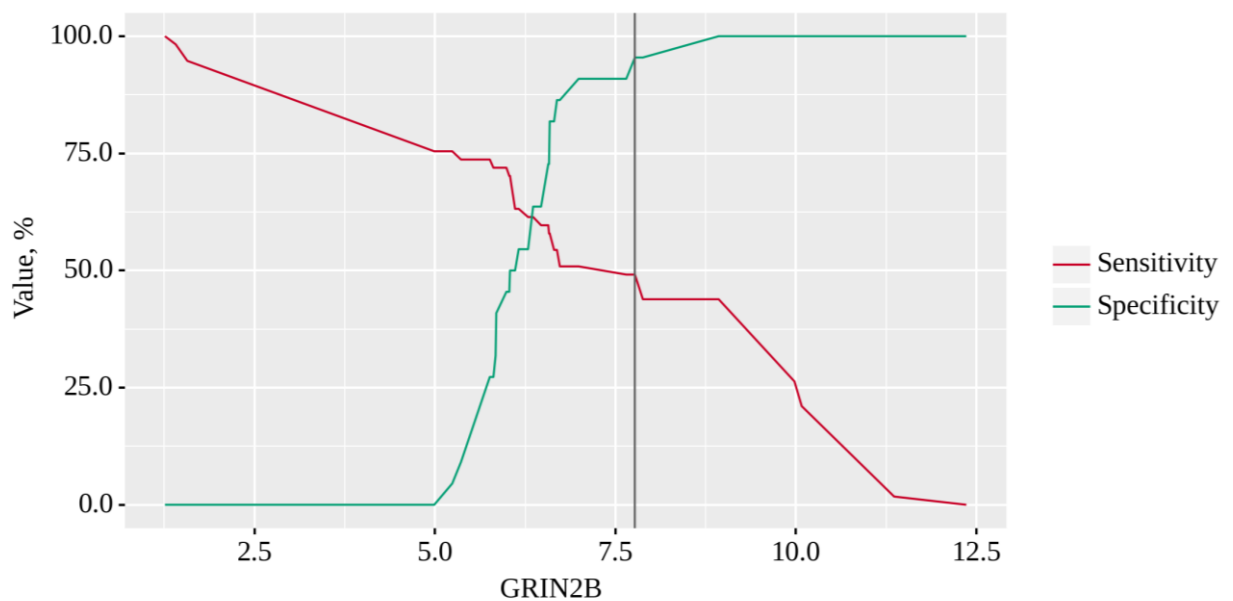


Рисунок 6.4 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від GRIN2B

При оцінці залежності виявлення тривожного обумовлення від ТТГ за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 6.5, 6.6, табл. 6.6).

Таблиця 6.5 – Порогове значення GRIN2B

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
7	50,9	90,9
7	50,9	86,4
7	54,4	86,4
7	54,4	81,8
7	57,9	81,8
7	57,9	72,7
<b>7</b>	<b>59,6</b>	<b>72,7</b>
6	59,6	63,6
6	61,4	63,6
6	61,4	54,5
6	63,2	54,5
6	63,2	50,0
6	70,2	50,0

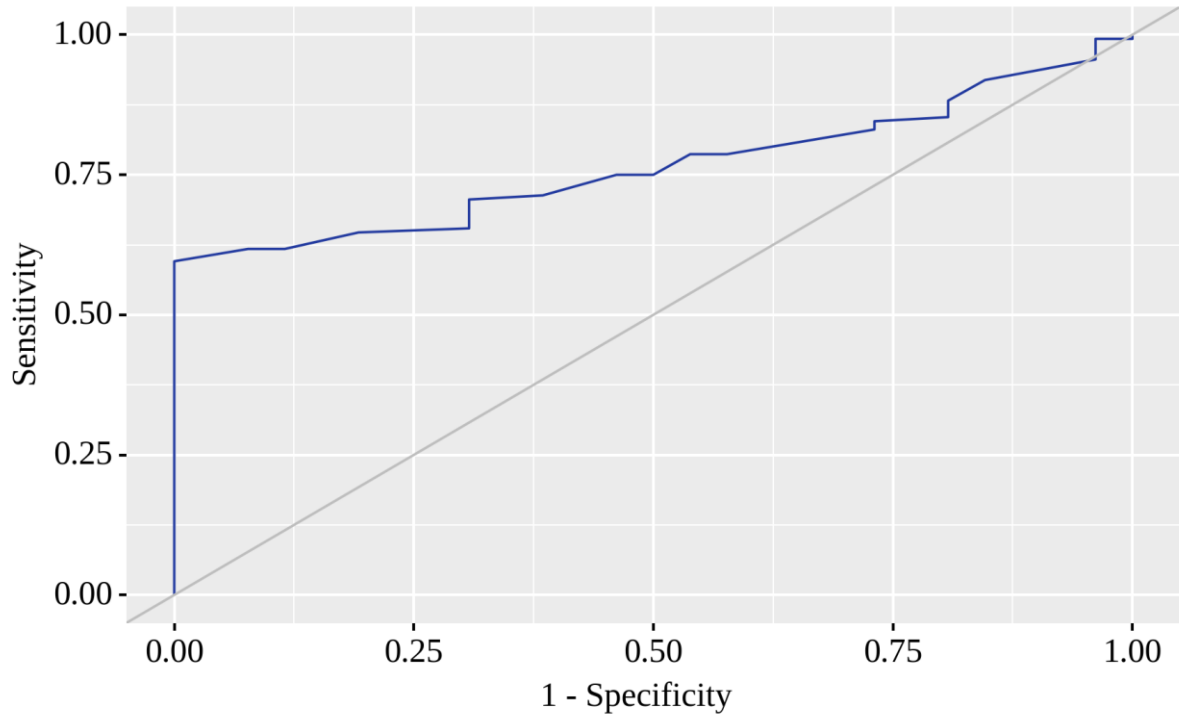


Рисунок 6.5 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від ТТГ

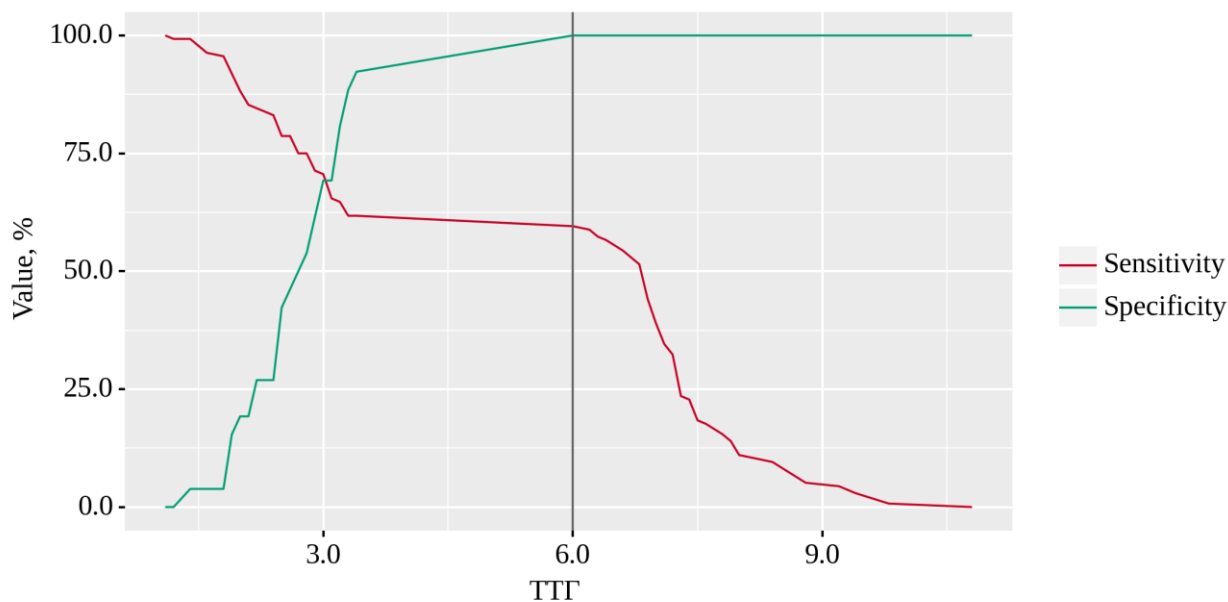


Рисунок 6.6 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від ТТГ

Таблиця 6.6 – Порогове значення ТТГ

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
7	51,5	100,0
7	54,4	100,0
6	56,6	100,0
6	57,4	100,0
6	58,8	100,0
<b>6</b>	<b>59,6</b>	<b>100,0</b>
3	61,8	92,3
3	61,8	88,5
3	64,7	80,8
3	65,4	69,2
3	70,6	69,2
3	71,3	61,5
3	75,0	53,8
3	75,0	50,0

Площа під кривою ROC становила  $(0,764 \pm 0,044)$  з 95 % ДІ: 0,679 – 0,850. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення ТТГ, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 6. Якщо ТТГ був більшим або дорівнював цьому значенню, прогнозували наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 59,6 і 100,0 % відповідно.

При оцінці залежності виявлення тривожного обумовлення від вТ4 за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 6.7, 6.8, табл. 6.7).

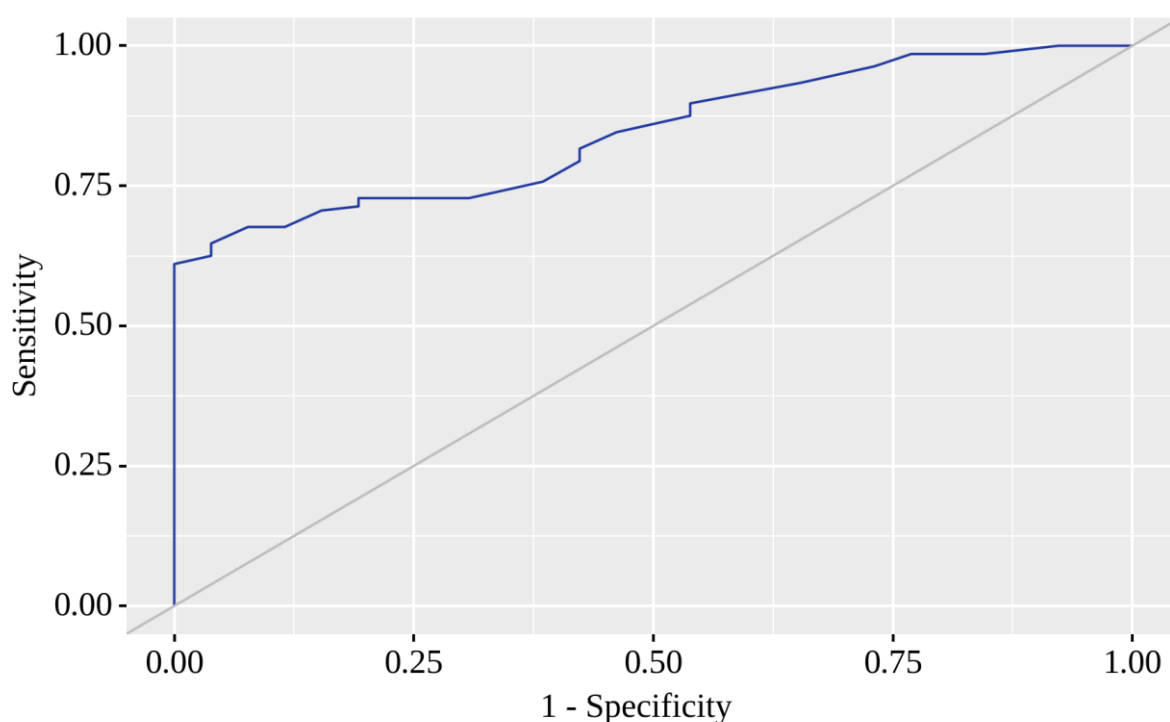


Рисунок 6.7 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від вТ4

Площа під кривою ROC становила  $(0,843 \pm 0,050)$  з 95 % ДІ: 0,746 – 0,941. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення вТ4, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 7,2. Якщо вТ4 було менше або дорівнювало цьому значенню, передбачали наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 61,0 і 100,0 % відповідно.

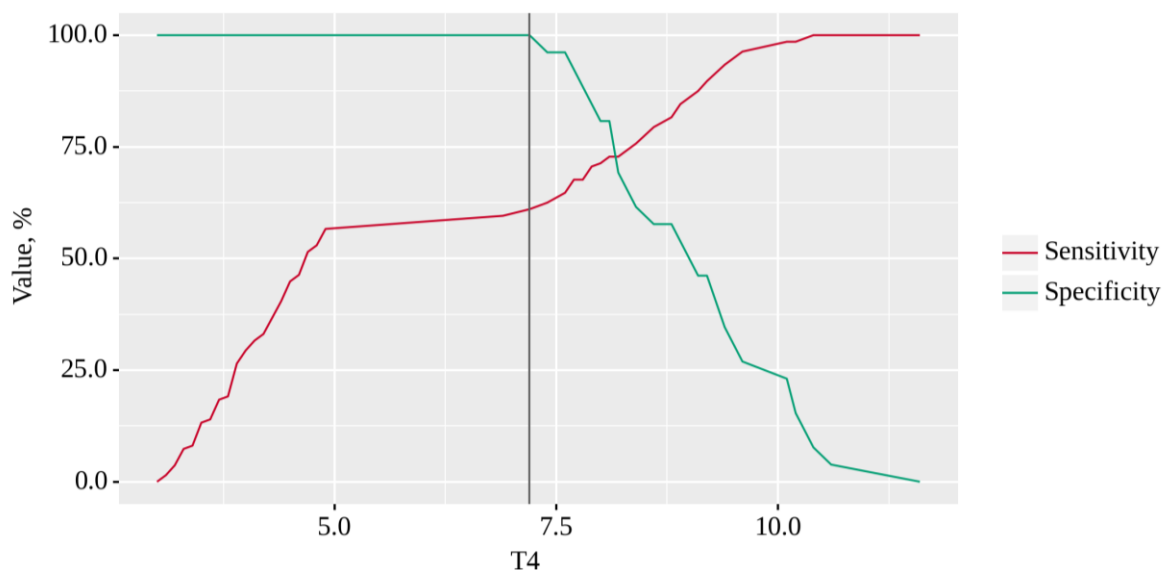


Рисунок 6.8 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від вТ4

Таблиця 6.7 – Порогове значення вТ4

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
9	84,6	53,8
9	81,6	57,7
9	79,4	57,7
8	75,7	61,5
8	72,8	69,2
8	72,8	80,8
8	71,3	80,8
8	70,6	84,6
8	67,6	88,5
8	67,6	92,3
8	64,7	96,2
7	62,5	96,2
<b>7</b>	<b>61,0</b>	<b>100,0</b>
7	59,6	100,0
5	56,6	100,0
5	52,9	100,0
5	51,5	100,0

При оцінці залежності виявлення тривожного обумовлення від АТПО за допомогою ROC-аналізу отримано наступну криву (рис. 6.9, 6.10, табл. 6.8).

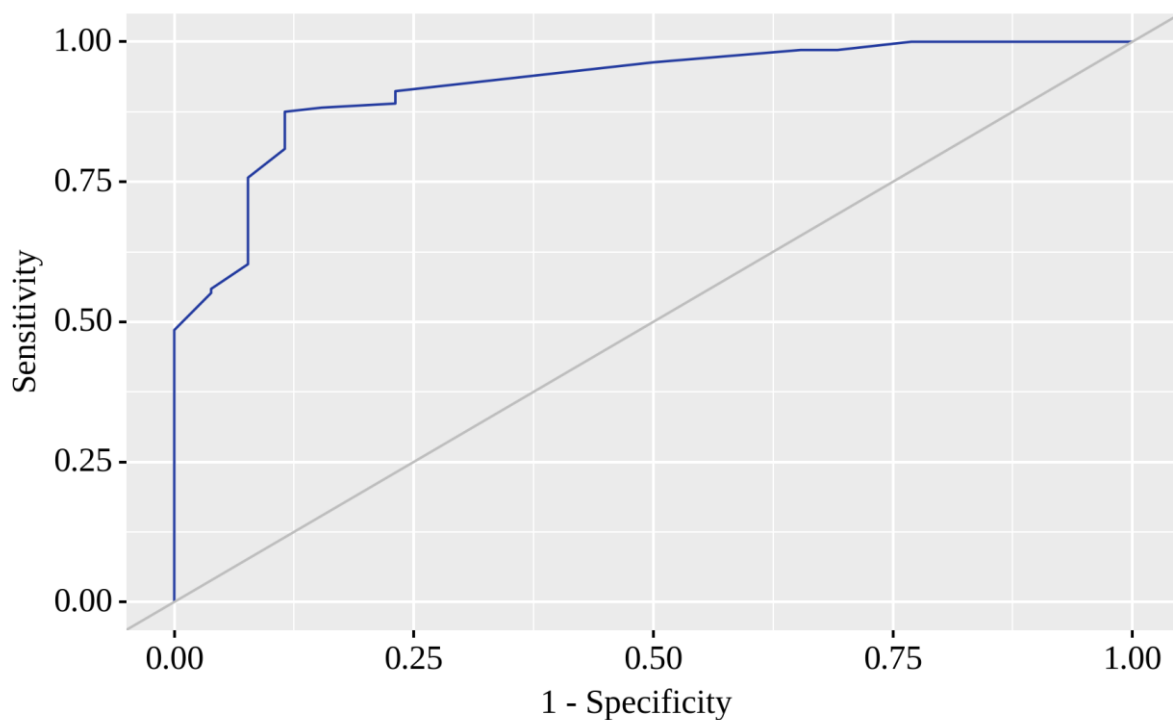


Рисунок 6.9 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від АТПО

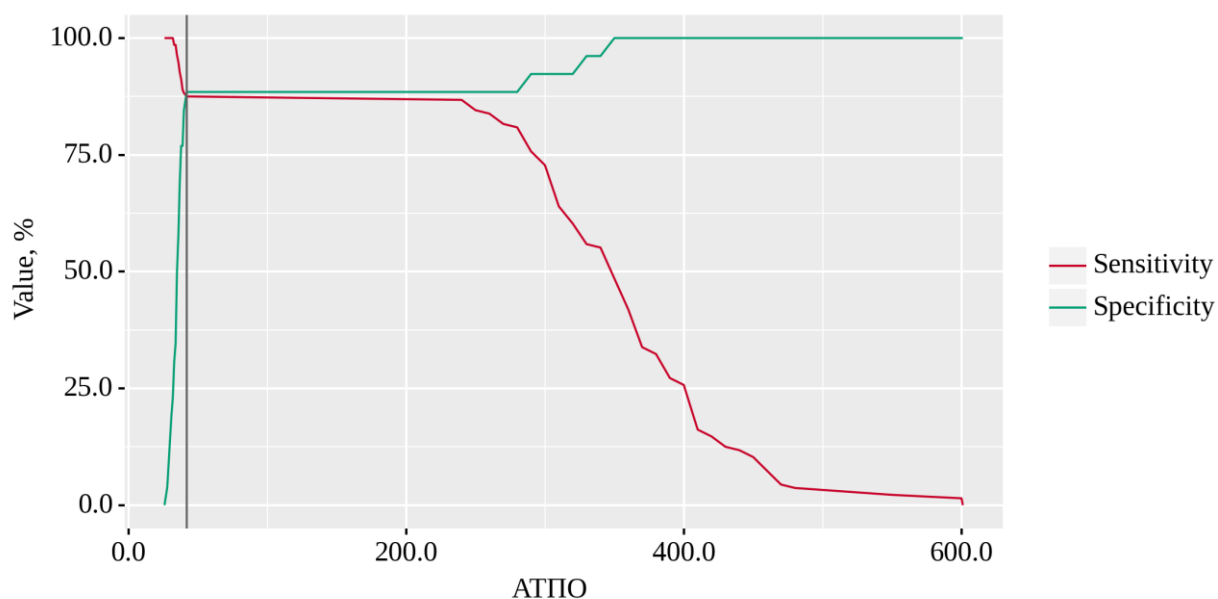


Рисунок 6.10 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від АТПО

Таблиця 6.8 – Порогове значення АТПО

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
340	55,1	96,2
330	55,9	96,2
320	60,3	92,3
310	64,0	92,3
300	72,8	92,3
290	75,7	92,3
280	80,9	88,5
270	81,6	88,5
260	83,8	88,5
250	84,6	88,5
240	86,8	88,5
<b>42</b>	<b>87,5</b>	<b>88,5</b>
40	88,2	84,6
39	89,0	76,9
38	91,2	76,9
37	92,6	69,2
36	94,9	57,7
35	96,3	50,0

Площа під кривою ROC становила  $(0,922 \pm 0,022)$  з 95 % ДІ: 0,879 – 0,964. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення АТПО, що відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 42,0. Якщо АТПО було більше або дорівнювало цьому значенню, то передбачали наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 87,5 і 88,5 % відповідно.

При оцінці залежності виявлення тривожного обумовлення від АТТГ за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 6.11, 6.12, табл. 6.9).

Площа під кривою ROC становила  $(0,894 \pm 0,026)$  з 95 % ДІ: 0,842 – 0,945. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).



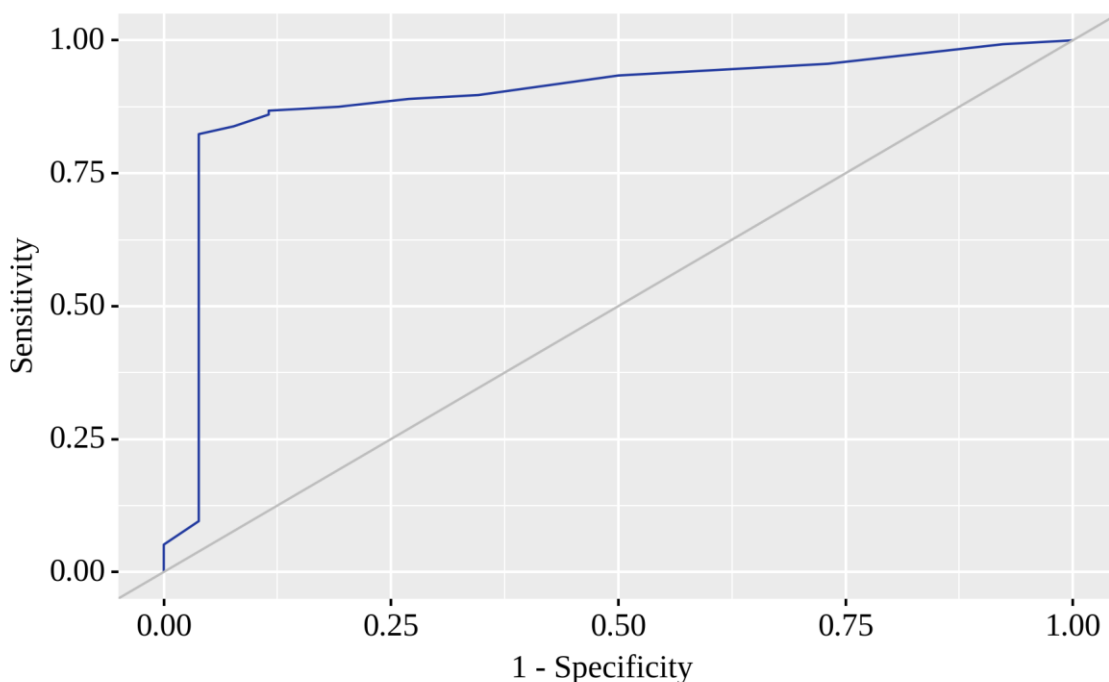


Рисунок 6.11 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від АТТГ

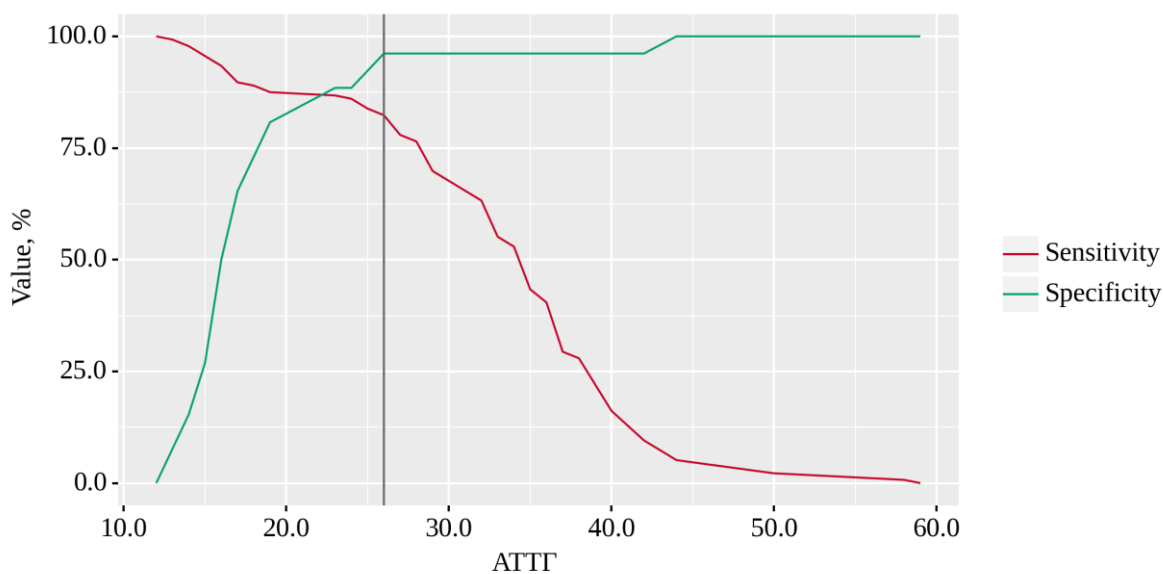


Рисунок 6.12 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від АТТГ

Граничне значення АТТГ, яке відповідає найвищому показнику  $J$  Юдена, становить 26,0. Якщо АТТГ був більшим або дорівнював цьому значенню, передбачали наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 82,4 і 96,2 % відповідно.

Таблиця 6.9 – Порогове значення АТТГ

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
34	52,9	96,2
33	55,1	96,2
32	63,2	96,2
31	65,4	96,2
29	69,9	96,2
28	76,5	96,2
27	77,9	96,2
<b>26</b>	<b>82,4</b>	<b>96,2</b>
25	83,8	92,3
24	86,0	88,5
23	86,8	88,5
19	87,5	80,8
18	89,0	73,1
17	89,7	65,4
16	93,4	50,0

При оцінці залежності виявлення тривожного обумовлення від 25(OH)D за допомогою ROC-аналізу була отримана наступна крива (рис. 6.13, 6.14, табл. 6.10).

Площа під кривою ROC становила  $(0,900 \pm 0,039)$  з 95 % ДІ: 0,825 – 0,976. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення 25(OH)D, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 30,0. Якщо показник 25(OH)D був меншим або дорівнював цьому значенню, прогнозували наявність тривоги. Чутливість і специфічність методу становили 98,6 і 76,7 % відповідно.

Кореляційний аналіз зв'язку між рівнем гормонів та білків і тривожністю наведений в таблиці 6.11.

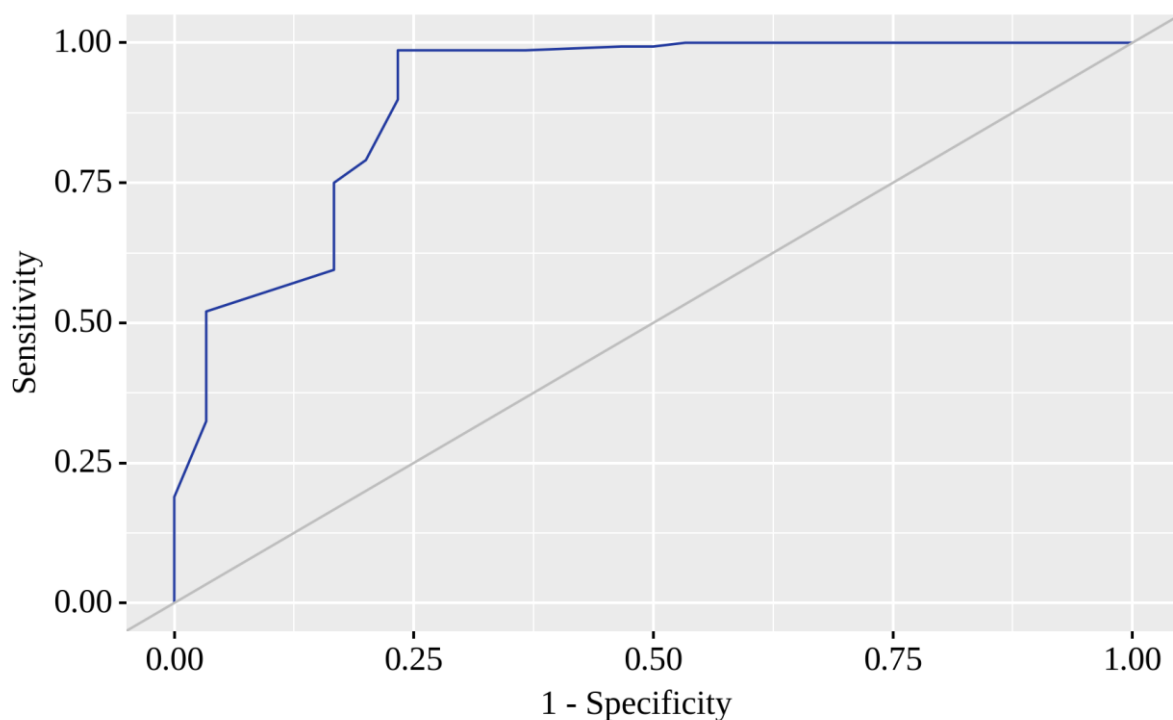


Рисунок 6.13 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності тривоги від 25(OH)D

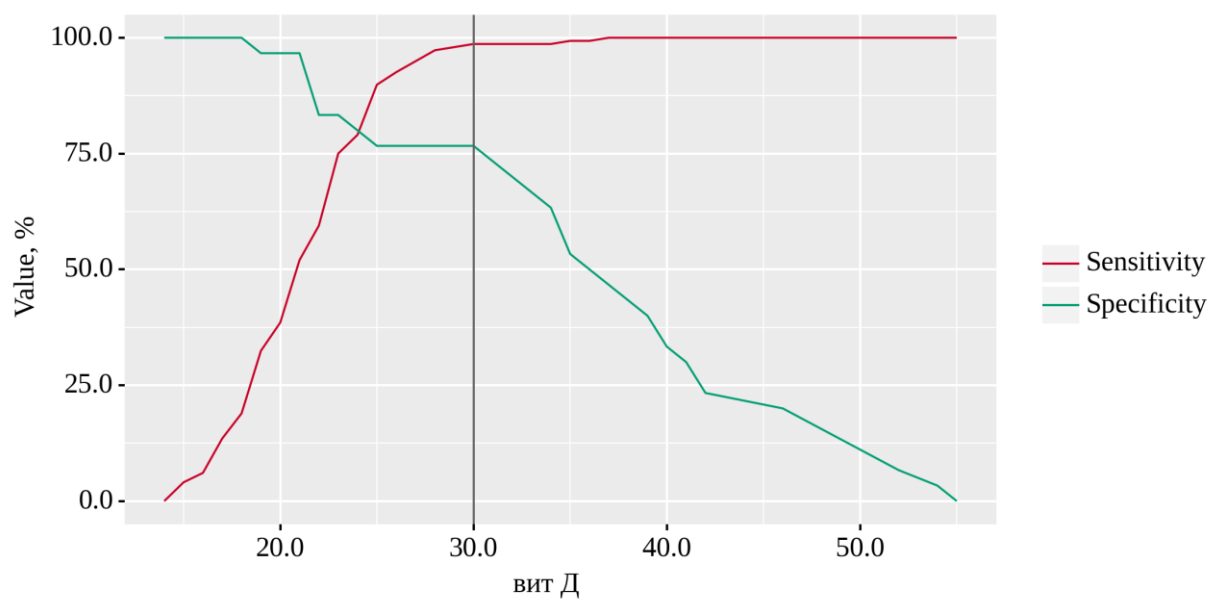


Рисунок 6.14 – Аналіз чутливості та специфічності тривоги, залежно від 25(OH)D

Аналіз кореляції між тривогою і рівнями ТТГ, вТ4, АТТГ і АТПО, 25(OH)D і рівнями BDNF та GRIN2B показує сильний зворотний зв'язок між тривогою і рівнями BDNF ( $r=-0,783$ ;  $p<0,001$ ) і вТ4 ( $r=-0,620$ ;  $p<0,001$ ) та

зворотну помірну кореляцію між тривогою і рівнями 25(OH)D ( $r=-0,407$ ;  $p<0,001$ ). Крім того, виявили пряму тісну кореляцію між тривогою і ТТГ в крові ( $r=0,582$ ;  $p<0,001$ ) і помірний прямий зв'язок між тривогою і АТПО ( $r=0,352$ ;  $p<0,001$ ) і GRIN2B ( $r=0,472$ ;  $p<0,001$ ). Також засвідчили слабку кореляцію між тривогою і АТТГ ( $r=0,201$ ;  $p=0,01$ ).

Таблиця 6.10 – Порогове значення 25(OH)D

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
36	99,3	50,0
35	99,3	53,3
34	98,6	63,3
<b>30</b>	<b>98,6</b>	<b>76,7</b>
28	97,3	76,7
26	92,6	76,7
25	89,9	76,7
24	79,1	80,0
23	75,0	83,3
22	59,5	83,3
21	52,0	96,7

Таблиця 6.11 – Результати кореляційного аналізу зв'язку між рівнем гормонів та білків і тривогою

Показник	Характеристика кореляційного зв'язку		
	R	тіснота зв'язку за шкалою Чеддока	P
BDNF – Тривога	-0,783	сильна кореляція	<0,001
GRIN2B – Тривога	0,472	помірна кореляція	<0,001
ТТГ – Тривога	0,582	помірна кореляція	<0,001
вТ4 – Тривога	-0,620	помірна кореляція	<0,001
АТПО – Тривога	0,352	помірна кореляція	<0,001
АТТГ – Тривога	0,201	слабка кореляція	0,010
25(OH)D – Тривога	-0,407	помірна кореляція	<0,001

Спостережувана залежність тривоги від BDNF описується рівнянням лінійної регресії:

$$Y_{\text{тривога}} = -0,009 \times X_{\text{BDNF}} + 17,982.$$

При збільшенні BDNF на 1 слід очікувати зміни тривожності на -0,009.

Відповідно до коефіцієнта детермінації  $R^2$ , в отриманій моделі враховано 59,7 % факторів, що впливають на значення показника «Тривога» (рис. 6.15).

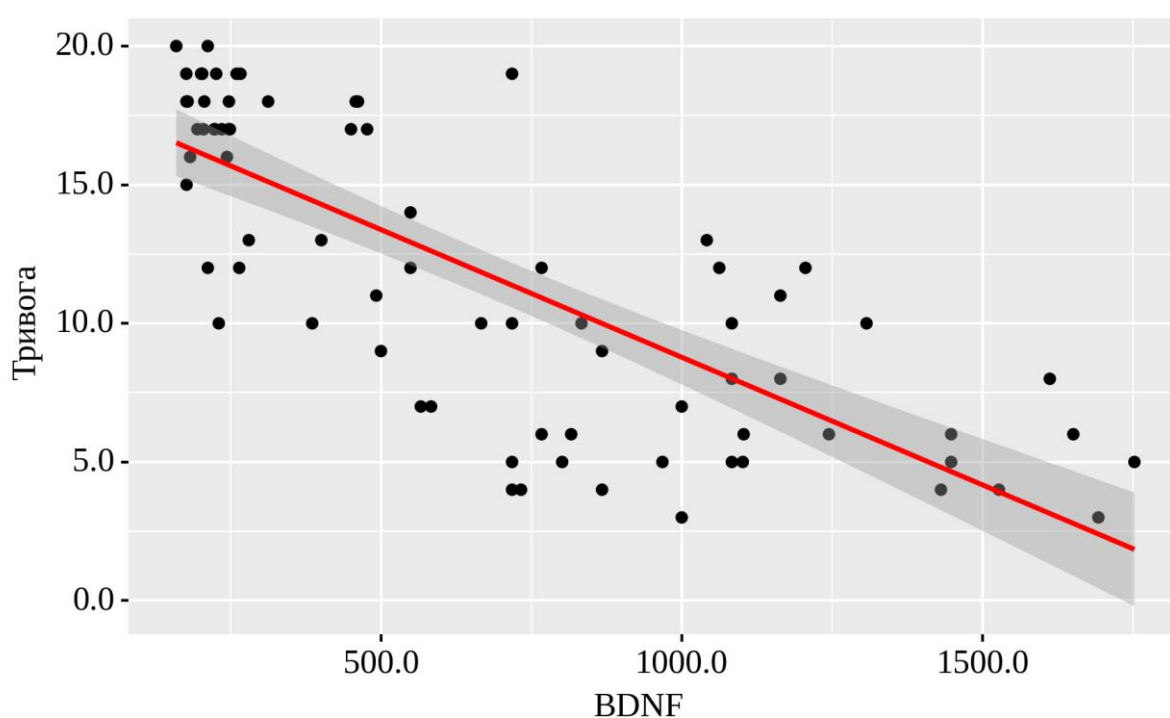


Рисунок 6.15 – Графік регресійної функції, що характеризує залежність показника «Тривога» від показника «BDNF»

За даними, отриманими при порівнянні тривожності (табл. 6.12), виявлено статистично значущі відмінності залежно від рівнів BDNF, GRIN2, 25(OH)D ( $p=0,004$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  відповідно).

Наявність симптомів тривоги виявлена в 98,7 % ( $p<0,001$ ) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 92,1 % хворих із субоптимальним рівнем 25(OH)D ( $p<0,001$ ). Також прояви тривоги виявлені в 90,6 % ( $p=0,004$ ) хворих зі зниженим рівнем BDNF. Засвідчено, що в 93,8 % ( $p=0,002$ ) хворих зі

зниженим рівнем GRIN2B та у всіх пацієнтів з підвищеним рівнем GRIN2B ( $p < 0,001$ ) спостерігались прояви тривоги, порівняно з нормальним рівнем.

Таблиця 6.12 – Аналіз тривожних розладів від рівнів BDNF, GRIN2B та 25(OH)D

Показник	Категорія	Тривожні розлади		$\chi^2$ p
		немає	є	
Рівень BDNF	Нормальний рівень	17 (38,6)	27 (61,4)	$\chi^2=8,181$ p=0,005
	Знижений рівень	3 (9,4)	29 (90,6)	
Рівень GRIN2B	Нормальний рівень	21 (55,3)	17 (44,7)	$\chi^2=11,203$ p<0,001
	Знижений рівень	1 (6,2)	15 (93,8)	
	Підвищений рівень	0 (0)	25 (100,0)	$\chi^2=20,724$ p<0,001
Рівень 25(OH)D	Норма	23 (92,0)	2 (8,0)	$\chi^2=86,288$ p<0,001
	Дефіцит	1 (1,3)	76 (98,7)	
	Недостатність	6 (7,9)	70 (92,1)	$\chi^2=65,012$ p<0,001

Шанси тривоги були в 6,086 рази більші в групі зі зниженим рівнем 25(OH)D, порівняно з нормальним рівнем, відносна різниця в шансах була статистично значущою [95 % ДІ: 1,602 – 23,119].

Тривога (табл. 6.13) виявлена в 32,5 % ( $p < 0,001$ ) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 23,7 % хворих із субоптимальним рівнем 25(OH)D ( $p < 0,001$ ). Засвідчені тривожні розлади за шкалою Гамільтона у 66,2 % ( $p < 0,001$ ) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 69,7 % хворих із субоптимальним рівнем 25(OH)D ( $p < 0,001$ ). Також тривога виявлена в 25 % ( $p < 0,001$ ), а тривожні розлади діагностовані в 65,6 % ( $p < 0,001$ ) хворих зі зниженим рівнем BDNF. Тривога діагностована в 37,5 % ( $p = 0,002$ ) хворих зі зниженим рівнем GRIN2B, а у 56,2 % – тривожні розлади. Було засвідчено, що в 84 % пацієнтів з підвищеним рівнем GRIN2B ( $p = 0,008$ ) була тривога, а в 16 % – тривожні розлади ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 6.13 – Наявність тривоги залежно від рівнів BDNF, GRIN2B та 25(OH)D

Показник	Рівні BDNF, GRIN2B та 25(OH)D	Наявність тривоги за шкалою Гамільтона			$\chi^2$ p
		симптомів тривоги немає	тривожні розлади	тривога	
Рівень BDNF	Нормальний	17 (38,6)	5 (11,4)	22 (50,0)	$\chi^2=24,906$ p<0,001
	Знижений	3 (9,4)	21 (65,6)	8 (25,0)	
Рівень GRIN2B	Нормальний	21 (55,3)	14 (36,8)	3 (7,9)	$\chi^2=13,556$ p<0,002
	Знижений	1 (6,2)	9 (56,2)	6 (37,5)	
	Підвищений	0 (0)	4 (16,0)	21 (84,0)	$\chi^2=39,035$ p<0,001
Рівень 25(OH)D	Норма	23 (92,0)	2 (8,0)	0 (0)	$\chi^2=83,743$ p<0,001
	Дефіцит	1 (1,3)	51 (66,2)	25 (32,5)	
	Недостатність	5 (6,6)	53 (69,7)	18 (23,7)	$\chi^2=68,602$ p<0,001

Відповідно до представленої таблиці 6.14, при порівнянні тривоги виявлено статистично значущі відмінності, залежно від наявності гіпотиреозу (p<0,001) та АІТ (p<0,001).

Таблиця 6.14 – Аналіз виникнення тривоги від тиреоїдної патології

Тиреоїдна патологія	Категорія	Прояви тривоги		$\chi^2$ p
		немає	Є	
Гіпотиреоз	Відсутність	30 (30,9)	67 (69,1)	$\chi^2=30,130$ p<0,001
	Наявність	0 (0)	81 (100,0)	
АІТ	Відсутність	23 (56,1)	18 (43,9)	$\chi^2=58,543$ p<0,001
	Наявність	7 (5,1)	130 (94,9)	

Шанси тривоги були в п'ять разів більші в групі «наявність гіпотиреозу», порівняно з «відсутністю гіпотиреозу», відносна різниця в шансах не була статистично значущою.

Шанси тривоги були в 23,730 разів більші в групі з наявністю АІТ, порівняно з відсутністю АІТ, відносна різниця в шансах була статистично значущою (95 % ДІ: 8,914 – 63,175).

Залежність тривожності від кількісних змінних оцінювалася за допомогою множинної лінійної регресії (табл. 6.15).

Таблиця 6.15 – Аналіз виникнення тривоги залежно від BDNF, GRIN2B, вТ4, АТТГ, 25(ОН)D

	B	std error	T	P
Intercept	18,132	1,538	11,793	<0,001
BDNF	-0,005	0,001	-6,322	<0,001*
GRIN2B	0,269	0,118	2,276	0,026
вТ4	-0,764	0,150	-5,099	<0,001
АТТГ	0,104	0,042	2,501	0,015
25(ОН)D	-0,116	0,046	-2,516	0,014

Спостережуваний зв'язок тривожності з BDNF, GRIN2B, вТ4, АТТГ, 25(ОН)D представлений рівнянням лінійної регресії:

$$Y_{\text{тривога}} = 18,132 - 0,005 \times X_{\text{BDNF}} + 0,269 \times X_{\text{GRIN2B}} - 0,764 \times X_{\text{вТ4}} + 0,104 \times X_{\text{АТТГ}} - 0,116 \times X_{\text{25(ОН)D}}.$$

При збільшенні BDNF на 1 слід очікувати зміну показника тривоги на 0,005, при збільшенні GRIN2B на 1 – на 0,269, при збільшенні вТ4 на 1 – на 0,764, при збільшенні АТТГ на 1 слід очікувати зміну занепокоєння на 0,104, а при збільшенні 25(ОН)D на 1 – на 0,116.

Отримана регресійна модель характеризується коефіцієнтом кореляції  $r_{xy}=0,9$ , що відповідає функціональному взаємозв'язку за шкалою Чеддока.



Ця модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ). Грунтуючись на значенні коефіцієнта детермінації  $R^2$ , модель враховує 84,7 % дисперсії тривожності.

### *Висновки*

1. Майже в половини пацієнтів із патологією ЩЗ (47,37 %) носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) діагностовано найвищий рівень тривожності – «тривогу» за шкалою Гамільтона, що було в 3,59 раза частіше, ніж в осіб із *CC*-генотипом ( $p < 0,001$ ). При цьому рівень тривоги за бальною шкалою у хворих із *T*-алелем перевищував такий у носіїв *CC*-генотипу на 32,75 % і 37,29 % ( $p < 0,001$ ), найсильніше за гіпотиреозу, особливо за АІТ з Г, – на 42,83 % і 51,27 % відповідно ( $p < 0,001$ ).

2. Рівень тривоги сильно зворотно корелює з вмістом *BDNF* крові ( $r = -0,783$ ;  $p < 0,001$ ) та помірно залежить від концентрації вільного Т4 і холекальциферолу 25(OH)D ( $r = -0,620$ ;  $p < 0,001$  і  $r = -0,407$ ;  $p < 0,001$ , відповідно). Окрім того, встановили прямий помірної сили зв'язок тривожності з вмістом у сироватці GRIN2B, ТТГ, АТПО ( $r = 0,352-0,582$ ;  $p < 0,001$ ) і, дещо слабше, із АТТГ ( $r = 0,201$ ;  $p = 0,01$ ).

3. ROC-аналіз підтвердив високу чутливість і специфічність показника тривожності залежно від рівнів *BDNF* (Se-73,2 %, Sp-100 %; площа під кривою ROC (AUC):  $0,884 \pm 0,051$ ; 95 % ДІ: 0,784-0,985;  $p < 0,001$ ), GRIN2B (Se-59,6 %, Sp-72,7 %; AUC:  $0,646 \pm 0,066$ ; 95 % ДІ: 0,517-0,776;  $p = 0,045$ ), ТТГ (Se-59,6 %, Sp-100,0 %; AUC:  $0,764 \pm 0,044$ ; 95 % ДІ: 0,679-0,850;  $p < 0,001$ ), вільного Т4 (Se-61,0 %, Sp-100,0 %; AUC:  $0,843 \pm 0,050$ ; 95 % ДІ: 0,746-0,941;  $p < 0,001$ ), АТПО (Se-87,5 %, Sp-88,5 %; AUC:  $0,922 \pm 0,022$ ; 95 % ДІ: 0,879-0,964;  $p < 0,001$ ), АТТГ (Se-82,4 %, Sp-96,2 %; AUC:  $0,894 \pm 0,026$ ; 95 % ДІ: 0,842-0,945;  $p < 0,001$ ) і 25(OH)D (Se-98,6 %, Sp-76,7 %; AUC:  $0,900 \pm 0,039$ ; 95 % ДІ: 0,825-0,976;  $p < 0,001$ ).

В моделі багатофакторного множинного лінійного регресійного аналізу додатково підтверджено вірогідний прогностичний вплив сироваткових концентрацій *BDNF*, GRIN2, вільного Т4, АТТГ і 25(OH)D на рівень

«тривоги» із коефіцієнтами детермінації  $R^2=84,7\%$ , кореляції  $r_{xy}=0,9$  ( $p<0,001$ ):

$$Y_{\text{тривога}}=18,132 - 0,005 \times X_{\text{BDNF}} + 0,269 \times X_{\text{GRIN2B}} - 0,764 \times X_{\text{fT4}} + 0,104 \times X_{\text{ATTG}} - 0,116 \times X_{25(\text{OH})\text{D}}.$$

4. Гіповітаміноз 25(OH)D на рівні «недостатність» і «дефіцит», а також знижений рівень BDNF супроводжуються розвитком тривожності в 92,1 %, 98,7 % ( $p<0,001$ ) та 90,6 % ( $p=0,004$ ) пацієнтів із патологією ЩЗ, відповідно. Тривожність з'являється незалежно від концентрації GRIN2B крові: за зниженого рівня – в 93,8 % хворих, за підвищеного – в 100 % обстежених. Шанси тривоги зростають у понад 23 рази за наявності АІТ (95 % ДІ: 8,914-63,175;  $p<0,001$ ).

Наведені в розділі результати опубліковано в наукових працях автора [249, 256].

## РОЗДІЛ 7

### ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ДЕПРЕСІЇ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Гіпотиреоз часто супроводжується симптомами депресії [109, 197]. Дефіцит мозкового нейротрофічного фактора (BDNF) вважається одним із нейробиологічних механізмів, тісно пов'язаних із розвитком депресії [213]. Нещодавно дані показали, що низькі рівні вітаміну D пов'язані з проявами депресії та тривоги в загальній популяції [153].

Аутоімунні захворювання щитоподібної залози впливають на транскрипційну активність генів, що регулюють нейрогенез і нейротрофіни, і можуть призвести до депресії та неврологічних ускладнень. Вважається, що різні поліморфізми рецепторів вітаміну D є важливими для розвитку ризику АІТ [301]. Також відомо, що нейронні рецептори N-метил-D-аспартату (NMDAR) відіграють важливу роль у патофізіології депресії та неврологічних і психічних розладів відповідно [374, 441].

У нашому дослідженні вивчили зв'язок між поліморфізмом генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) і *NMDA* (rs4880213) з депресією в пацієнтів з АІТ та гіпотиреозом.

Аналіз депресії за шкалою Гамільтона, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) наведений у таблиці 7.1.

Згідно з даними, отриманими при порівнянні депресії за шкалою Гамільтона, були виявлені статистично значущі відмінності залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265). Серед носіїв *CC* та *CT* генотипів у 59,5 % ( $p < 0,001$ ) та 86,7 % ( $p = 0,003$ ) хворих були діагностовані депресивні розлади.

Порівнюючи депресію за шкалою Гамільтона залежно від поліморфізму гена *VDR* (rs2228570), поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213), статистично значущих відмінностей не було виявлено ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 7.1 – Наявність депресивних розладів, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)

Ген	Генотип	Депресія		$\chi^2$ p
		норма n (%)	ε n (%)	
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	49 (40,5)	72 (59,5)	$\chi^2=14,305$ p<0,001
	<i>CT</i>	6 (13,3)	39 (86,7)	$\chi^2=9,178$ p=0,003
	<i>TT</i>	1 (8,3)	11 (91,7)	$\chi^2=3,192$ p=0,075
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	25 (36,8)	43 (63,2)	$\chi^2=1,436$ p=0,231
	<i>AG</i>	21 (28,8)	52 (71,2)	$\chi^2=0,416$ p=0,519
	<i>GG</i>	10 (27,0)	27 (73,0)	$\chi^2=0,426$ p=0,515
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	15 (27,8)	39 (72,2)	$\chi^2=0,488$ p=0,486
	<i>CT</i>	30 (35,3)	55 (64,7)	$\chi^2=1,109$ p=0,293
	<i>TT</i>	11 (28,2)	28 (71,8)	$\chi^2=0,245$ p=0,621

Аналіз вираженості депресії за шкалою Гамільтона залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) наведений у таблиці 7.2.

Згідно з даними, отриманими при оцінці депресії за шкалою Гамільтона (табл. 7.2), були виявлені статистично значущі відмінності залежно від поліморфізму гена *BDNF* (rs6265) (p<0,001). Найбільший відсоток депресивних розладів засвідчено серед носіїв генотипів *CT* та *TT* (86,7 % та 91,7 % відповідно) (p<0,001). При оцінці депресії за шкалою Гамільтона серед носіїв генотипу *CC* у 31,4 % обстежуваних спостерігався легкий депресивний розлад, тоді як у носіїв генотипів *CT* і *TT* такі зміни були

виявлені в 11,1 і 8,3 % відповідно ( $p < 0,001$ ). Більш виражена депресія спостерігалась у носіїв генотипів *TT* та *CT*. Так, депресивний розлад середнього ступеня тяжкості спостерігався у 83,3 % носіїв генотипу *TT*, у 75,6 % носіїв генотипу *CT* і тільки у 28,1 % носіїв генотипу *CC* ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 7.2 – Аналіз депресії за шкалою Гамільтона, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) і *NMDA* (rs4880213)

Ген	Гено-тип	Наявність депресії за шкалою Гамільтона			$\chi^2$ p
		норма n (%)	легкий депресивний розлад n (%)	депресивний розлад середнього ступеня тяжкості n (%)	
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	49 (40,5)	38 (31,4)	34 (28,1)	$\chi^2=37,950$ $p < 0,001$
	<i>CT</i>	6 (13,3)	5 (11,1)	34 (75,6)	$\chi^2=24,644$ $p < 0,001$
	<i>TT</i>	1 (8,3)	1 (8,3)	10 (83,3)	$\chi^2=8,170$ $p < 0,001$
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	25 (36,8)	13 (19,1)	30 (44,1)	$\chi^2=2,383$ $p=0,304$
	<i>AG</i>	21 (28,8)	17 (23,3)	35 (47,9)	$\chi^2=0,869$ $p=0,648$
	<i>GG</i>	10 (27,0)	14 (37,8)	13 (35,1)	$\chi^2=4,348$ $p=0,114$
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	15 (27,8)	17 (31,5)	22 (40,7)	$\chi^2=1,936$ $p=0,380$
	<i>CT</i>	30 (35,3)	18 (21,2)	37 (43,5)	$\chi^2=1,589$ $p=0,452$
	<i>TT</i>	11 (28,2)	9 (23,1)	19 (48,7)	$\chi^2=0,496$ $p=0,781$

Аналізуючи наявність депресії за шкалою Гамільтона, залежно від поліморфізму гена *VDR* (rs2228570) і поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213), статистично значущі відмінності не виявлені ( $p=0,246$ ,  $p=0,633$  відповідно).

Аналіз рівня депресії за шкалою Гамільтона (в балах), залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) в обстежених групах наведений у таблиці 7.3.

Таблиця 7.3 – Показники рівня депресії за шкалою Гамільтона (в балах) у пацієнтів з різною патологією щитоподібної залози залежно від генотипу гена *BDNF* (rs6265)

Рівень депресії за шкалою Гамільтона (в балах) ( $M \pm m$ )						
Генотипи гена <i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	P5	P6	P7
Контрольна група	4,24 ± 0,75	6,67 ± 0,516	7,5 ± 0,70	<0,001	<0,001	0,065
Дослідна група	10,26 ± 4,63	15,51 ± 1,57	16,6 ± 1,43	<0,001	<0,001	0,0522
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
ПОГ	16,0 ± 1,07	14,83 ± 0,75	14,5 ± 0,7	0,133	0,119	0,117
P1	<0,001	<0,001	0,01005			
P2	<0,001	0,00832	0,1154			
АІТ з Г	12,93 ± 3,41	16,31 ± 1,14	16,33 ± 1,15	<0,001	0,0103	0,01
P1	<0,001	<0,001	0,0018			
P3	<0,001	0,0206	0,188			
АІТ	6,88 ± 3,25	15,0 ± 1,84	17,6 ± 0,55	<0,001	<0,001	<0,001
P1	<0,001	<0,001	0,0094			
P4	<0,001	0,75	0,053			
Примітка. P1 – р-значення між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – р-значення між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – р-значення між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – р-значення між групами ПОГ та АІТ; P5 – р-значення між генотипами <i>CC</i> і <i>CT</i> ; P6 – р-значення між генотипами <i>CC</i> і <i>TT</i> ; P7 – р-значення між генотипами <i>CT</i> і <i>TT</i> .						

При аналізі депресії за шкалою Гамільтона спостерігалось ймовірне збільшення балів в основній групі в носіїв усіх генотипів *BDNF* (rs6265), порівняно з контрольною групою. Так, засвідчено збільшення кількості балів у 2,42 раза ( $p < 0,001$ ) у носіїв генотипу *CC*, у 2,32 раза ( $p < 0,001$ ) у носіїв генотипу *CT* і в 2,21 раза ( $p < 0,001$ ) у носіїв генотипу *TT* порівняно з контрольною групою.

Аналізуючи рівні депресії за шкалою Гамільтона залежно від тиреоїдної патології, також виявлені статистично значущі відмінності у носіїв різних генотипів. Так, у пацієнтів з ПОГ виявлено зростання рівня депресії за шкалою Гамільтона (в балах) серед носіїв *CC* генотипу в 3,8 раза,  $p = 0,01$  та *CT* генотипу – в 2,2 раза,  $p < 0,001$ . Крім того, було засвідчено збільшення рівня депресії серед носіїв *TT* генотипу з ПОГ (в 1,9 раза,  $p < 0,001$ ), порівняно з контрольною групою.

У хворих на АІТ з гіпотиреозом також було виявлено збільшення показника депресії за шкалою Гамільтона (в балах) у 3 рази ( $p < 0,001$ ) у носіїв *CC* генотипу, в 2,44 раза ( $p < 0,001$ ) у носіїв *CT* генотипу та *TT* генотипу (в 2,2 раза,  $p = 0,0018$ ), порівняно з контрольною групою.

Згідно з нашим дослідженням, у хворих на АІТ засвідчено збільшення рівня депресії за шкалою Гамільтона (в балах) серед носіїв *CC* генотипу в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ), *CT* генотипу в 2,25 раза ( $p < 0,001$ ). Також було встановлено, що рівень депресії був найвищим серед носіїв *TT* генотипу (в 2,25 раза,  $p = 0,0094$ ), порівняно з контрольною групою.

Дослідження рівнів депресії (в балах) у пацієнтів з різною патологією ЩЗ залежно від генотипу поліморфізму rs6265 (табл. 7.3) показало найвищі бали за шкалою депресії Гамільтона в носіїв генотипу *TT* в експериментальній групі пацієнтів, порівняно з носіями генотипу *CC*. Так, у групах пацієнтів з генотипом *TT* рівень депресії (в балах) був значно вищим (АІТ з Г: у 1,26 раза і АІТ: у 2,56 раза) порівняно з пацієнтами з генотипом *CC*. Такі результати вказують на те, що носії генотипу *TT* мають вищі

показники депресії за шкалою Гамільтона, які патологія ЩЗ може ще більше погіршити.

У пацієнтів з ПОГ показники депресії за шкалою Гамільтона були високими у носіїв усіх трьох генотипів і вірогідно не відрізнялися один від одного. У хворих на АІТ з гіпотиреозом також було виявлено зростання рівня депресії за шкалою Гамільтона залежно від варіантів генотипу за поліморфізмом генів *BDNF* (rs6265). Так, у носіїв *CT* генотипу кількість балів була вищою в 1,26 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з *CC* генотипом. У пацієнтів з генотипом *TT* також засвідчено зростання рівня депресії в 1,26 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з носіями *CC* генотипу. Водночас у пацієнтів з АІТ шкала оцінки депресії Гамільтона показує, що особи з генотипами *TT* мали значно вищі бали за шкалою депресії, порівняно з особами з генотипами *CT* і *CC*. Так, засвідчено збільшення кількості балів за шкалою депресії Гамільтона в носіїв *TT* генотипу (в 2,56 раза,  $p < 0,001$ ) та *CT* генотипу (в 2,2 раза,  $p < 0,001$ ), порівняно з носіями *CC* генотипу. Депресивні розлади за шкалою Гамільтона вірогідно частіше розвиваються в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), ніж *CC*-генотипу на 28,22 %: 87,72 % проти 59,50 % ( $\chi^2 = 14,31$ ;  $p < 0,001$ ), особливо середньо-тяжкі форми – на 49,09 % (77,19 % випадків проти 28,10 %,  $\chi^2 = 37,93$ ;  $p < 0,001$ ). Було встановлено, що рівень депресії за шкалою Гамільтона вірогідно вище в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) незалежно від групи спостереження: в контролі – на 57,31 % ( $p < 0,001$ ) і 76,89 % ( $p = 0,013$ ), у дослідній групі – на 51,17 % ( $p < 0,001$ ) і 61,79 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наявність патології ЩЗ посилює депресію в 1,62-3,77 раза ( $p \leq 0,009$ ) із найвищими балами за АІТ.

Ми провели дослідження прогностичної цінності рівнів ряду гормонів, рівнів *BDNF* та 25(OH)D у плазмі крові як потенційних маркерів депресивних порушень. Наступна крива була отримана при оцінці залежності виникнення депресивних порушень від вмісту *BDNF* з використанням ROC-аналізу (рис. 7.1, 7.2, табл. 7.4).



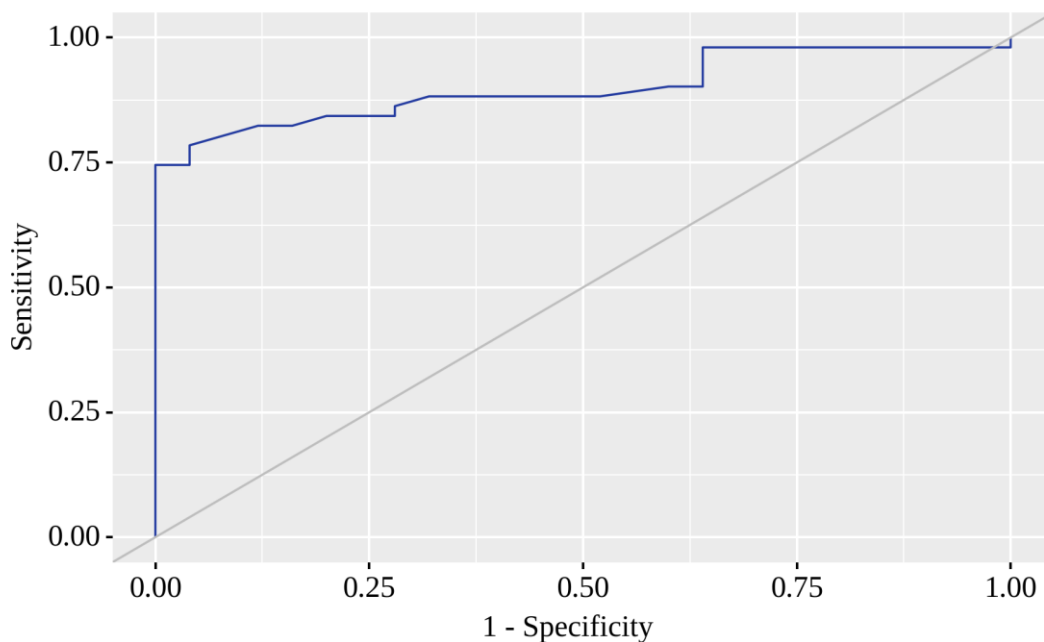


Рисунок 7.1 – ROC-крива залежності ймовірності виникнення депресивних порушень від рівня BDNF

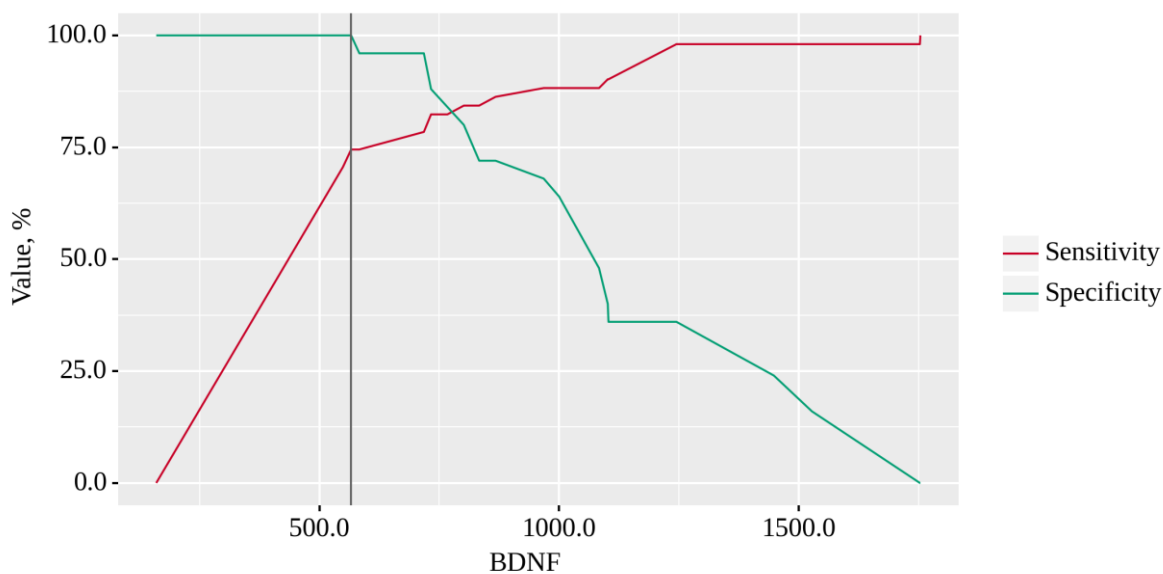


Рисунок 7.2 – Аналіз чутливості та специфічності наявності депресивних порушень залежно від BDNF

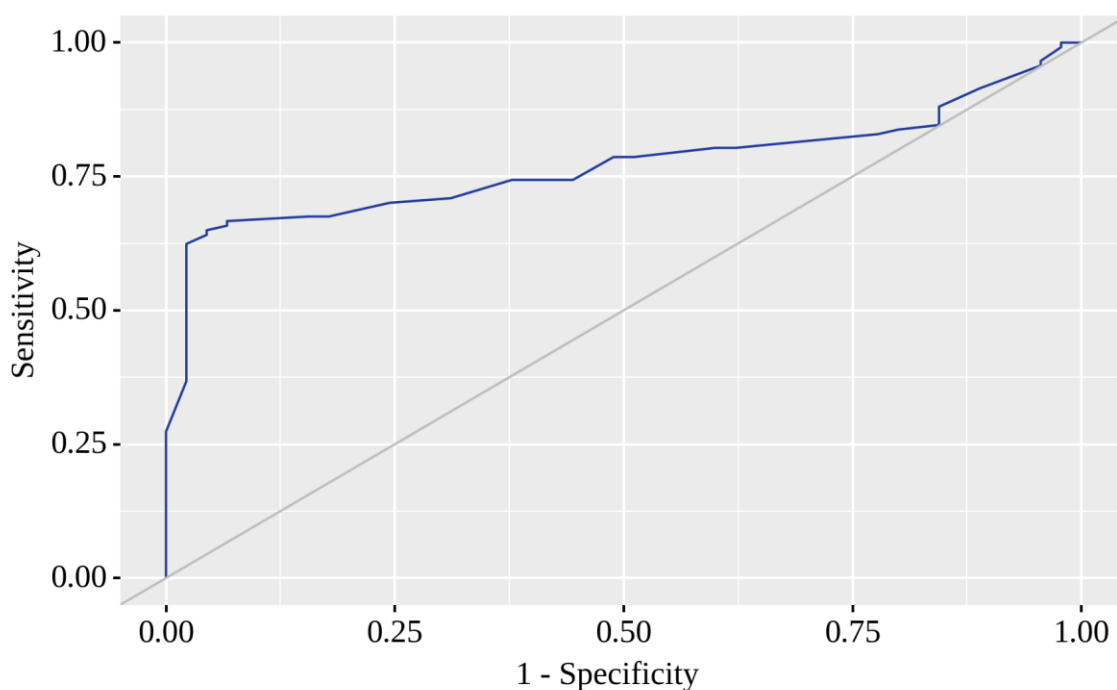
Площа під кривою ROC становила  $(0,900 \pm 0,044)$  з 95 % ДІ: 0,814 – 0,985. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення BDNF, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 566,240. Якщо BDNF був меншим або дорівнював цьому значенню, передбачали наявність депресії. Чутливість і специфічність методу становили 74,5 і 100,0 % відповідно.

Таблиця 7.4 – Порогове значення BDNF

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
1042	88,2	56,0
1000	88,2	64,0
968	88,2	68,0
868	86,3	72,0
833	84,3	72,0
801	84,3	80,0
767	82,4	84,0
733	82,4	88,0
718	78,4	96,0
583	74,5	96,0
<b>566</b>	<b>74,5</b>	<b>100,0</b>
549	70,6	100,0

При оцінці залежності виявлення депресії від ТТГ за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 7.3, 7.4; табл. 7.5).



Рисунк 7.3 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності депресії від ТТГ

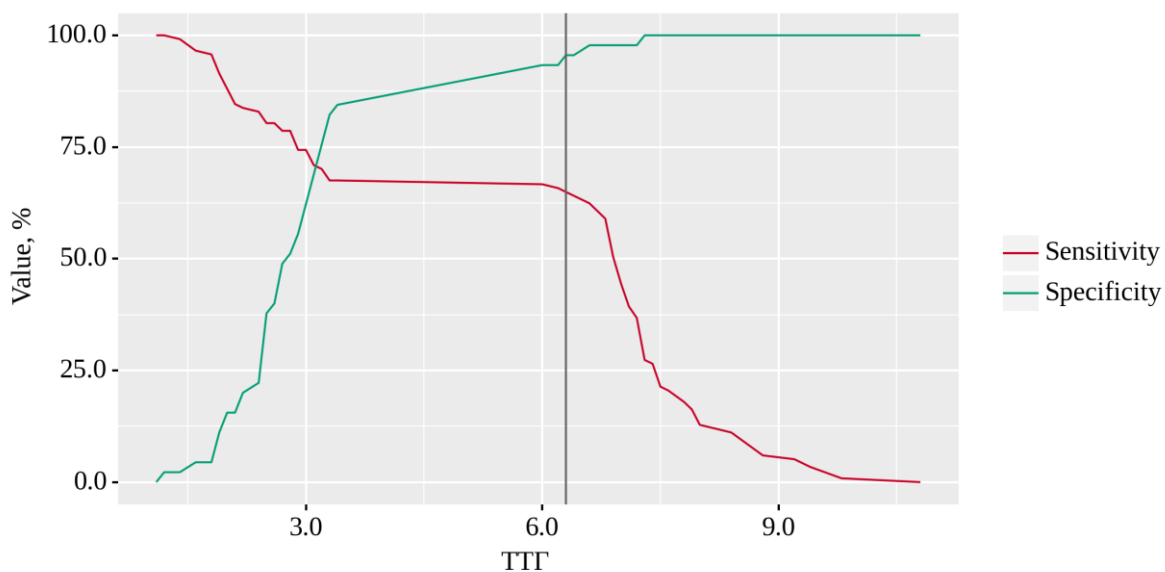


Рисунок 7.4 – Аналіз чутливості та специфічності наявності депресивних порушень залежно від ТТГ

Таблиця 7.5 – Порогове значення ТТГ

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
7	50,4	97,8
7	59,0	97,8
7	62,4	97,8
6	64,1	95,6
<b>6</b>	<b>65,0</b>	<b>95,6</b>
6	65,8	93,3
6	66,7	93,3
3	67,5	84,4
3	67,5	82,2
3	70,1	75,6
3	70,9	68,9
3	74,4	62,2
3	74,4	55,6
3	78,6	51,1

Площа під кривою ROC становила  $(0,770 \pm 0,037)$  з 95 % ДІ: 0,697 – 0,844. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення ТТГ, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 6,300. Якщо ТТГ був більшим або дорівнював цьому значенню, передбачали наявність депресії. Чутливість і специфічність методу становили 65,0 і 95,6 % відповідно.

При оцінці залежності виявлення наявності депресії від вТ4 за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 7.5, 7.6; табл. 7.6).

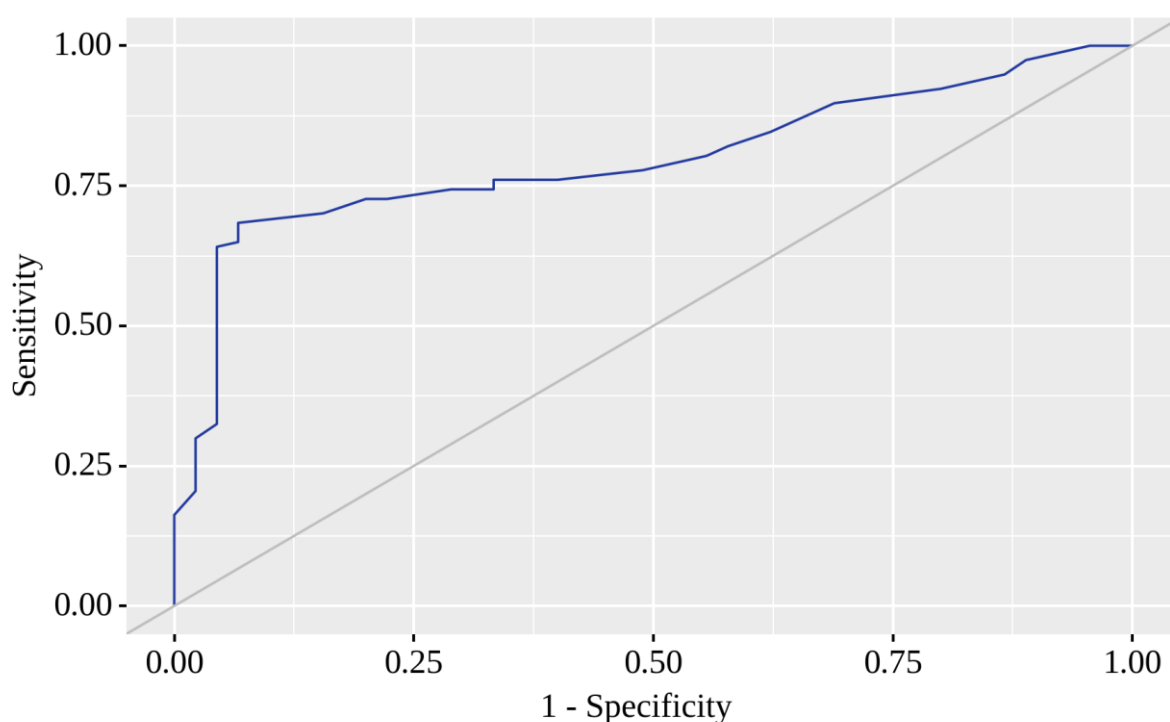


Рисунок 7.5 – ROC-крива залежності ймовірності виникнення депресивних порушень від рівня вТ4

Площа під кривою ROC становила  $(0,797 \pm 0,043)$  з 95 % ДІ: 0,713 – 0,881. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення вТ4, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 7,200. Якщо вТ4 було менше або дорівнювало цьому значенню, передбачали наявність депресії. Чутливість і специфічність методу становили 68,4 % і 93,3 % відповідно.

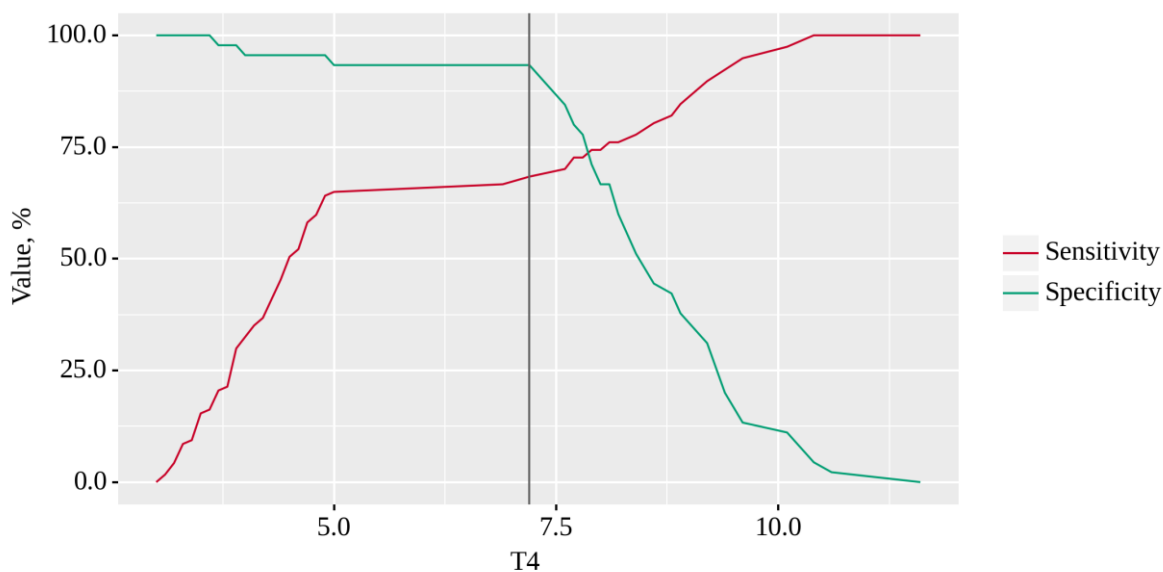


Рисунок 7.6 – Аналіз чутливості та специфічності депресивних порушень, залежно від вТ4

Таблиця 7.6 – Порогове значення вТ4

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
8	76,1	66,7
8	74,4	66,7
8	74,4	71,1
8	72,6	77,8
8	72,6	80,0
8	70,1	84,4
<b>7</b>	<b>68,4</b>	<b>93,3</b>
7	66,7	93,3
5	65,0	93,3
5	64,1	95,6
5	59,8	95,6
5	58,1	95,6
5	52,1	95,6
4	50,4	95,6

При оцінці залежності виявлення депресії від АТІО за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 7.7, 7.8; табл. 7.7).

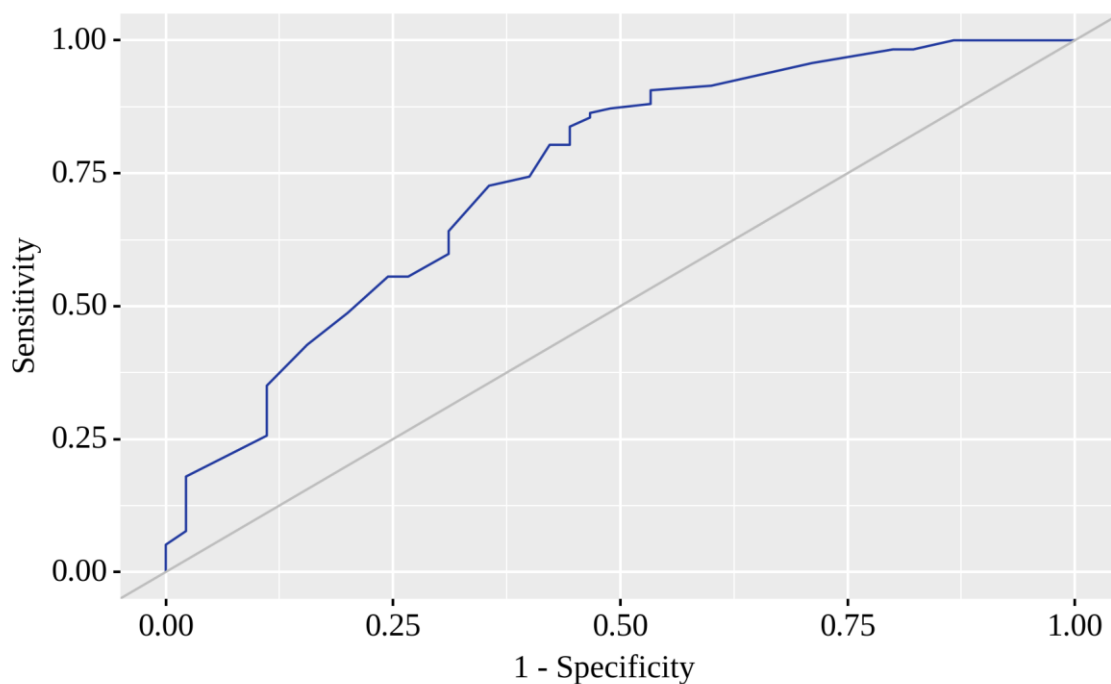


Рисунок 7.7 – ROC-крива залежності ймовірності виникнення депресивних порушень від рівня АТПО

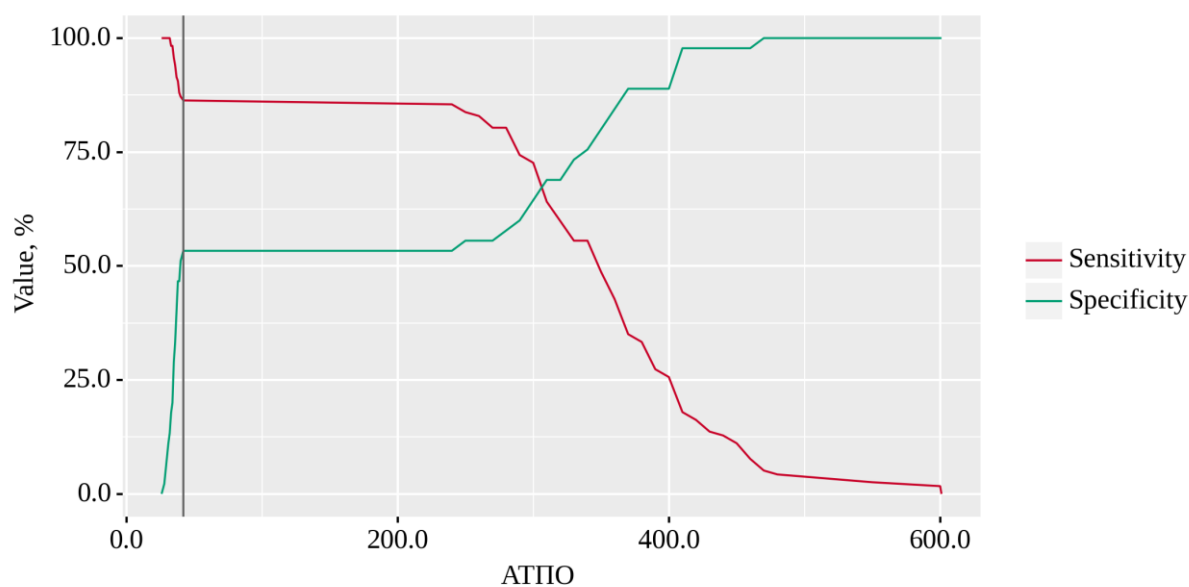


Рисунок 7.8 – Аналіз чутливості та специфічності наявності депресивних порушень, залежно від АТПО

Площа під кривою ROC становила  $(0,745 \pm 0,040)$  з 95 % ДІ: 0,667 – 0,822. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 7.7 – Порогове значення АТПО

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
340	55,6	75,6
330	55,6	73,3
320	59,8	68,9
310	64,1	68,9
300	72,6	64,4
290	74,4	60,0
280	80,3	57,8
270	80,3	55,6
260	82,9	55,6
250	83,8	55,6
240	85,5	53,3
42	86,3	53,3
40	87,2	51,1

Граничне значення АТПО, що відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 42. Якщо АТПО було більше або дорівнювало цьому значенню, прогнозували наявність депресії. Чутливість і специфічність методу становили 86,3 і 53,3 % відповідно.

При оцінці залежності виявлення депресії від 25(OH)D за допомогою ROC аналізу була отримана наступна крива (рис. 7.9, 7.10; табл. 7.8).

Площа під кривою ROC становила  $(0,791 \pm 0,039)$  з 95 % ДІ: 0,714 – 0,868. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення 25(OH)D, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 22. Якщо 25(OH)D був меншим або дорівнював цьому значенню, передбачали наявність депресії. Чутливість і специфічність методу становили 64,8 і 75,0 % відповідно.

Кореляційний аналіз взаємозв'язку між рівнями гормонів та білків і депресією представлений у таблиці 7.9.

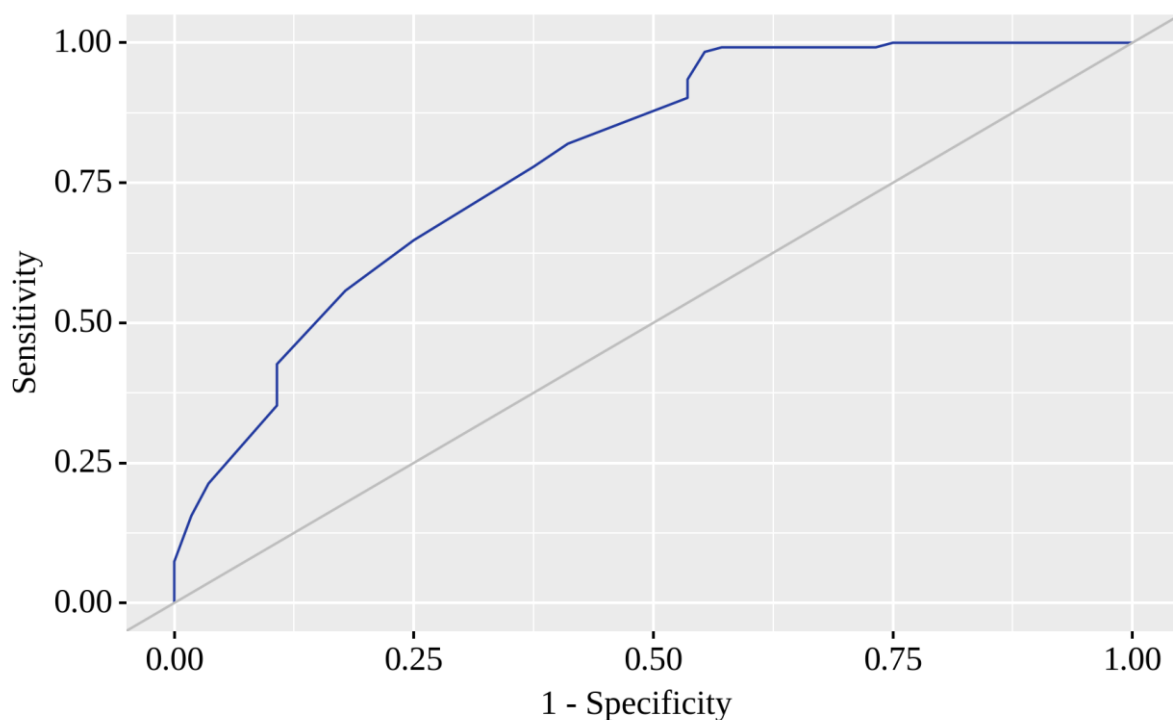


Рисунок 7.9 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності депресії від 25(OH)D

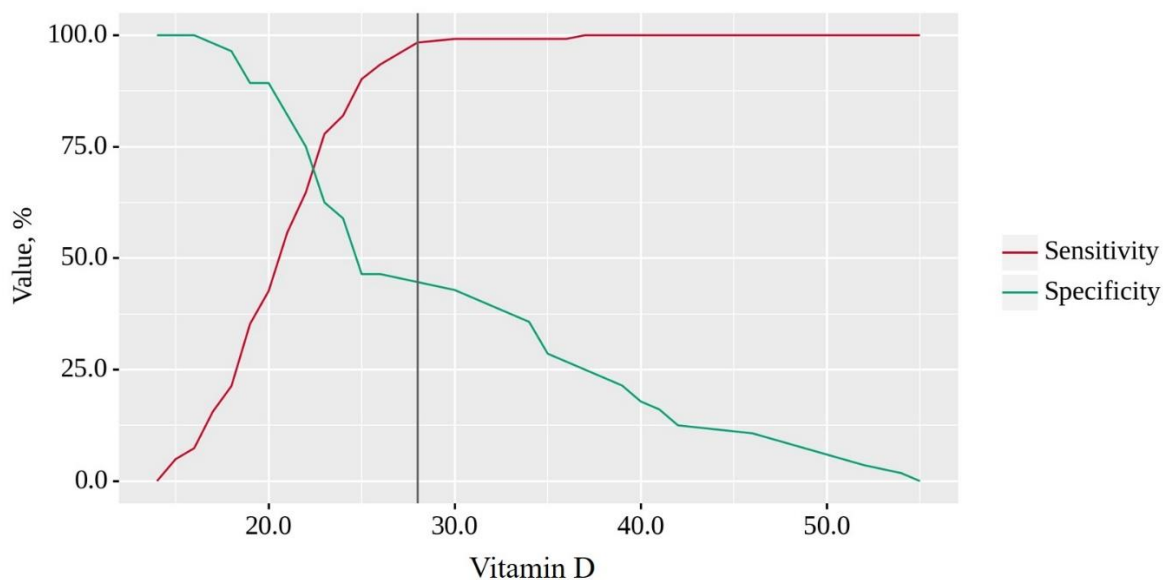


Рисунок 7.10 – Аналіз чутливості та специфічності депресії залежно від 25(OH)D

Аналіз кореляції між депресією і рівнями ТТГ, вТ4, АТТГ і АТПО, 25(OH)D і рівнями BDNF показує помірний зворотний зв'язок між депресією



і рівнями BDNF ( $r=-0,612$ ;  $p<0,001$ ), вТ4 ( $r=-0,442$ ;  $p<0,001$ ) і рівнями 25(OH)D ( $r=-0,376$ ;  $p<0,001$ ). Крім того, ми виявили пряму помірну кореляцію між депресією і ТТГ у крові ( $r=0,434$ ;  $p<0,001$ ) і слабкий прямий зв'язок між депресією і АТПО ( $r=0,284$ ;  $p<0,001$ ), АТТГ ( $r=0,156$ ;  $p=0,048$ ) та GRIN2B ( $r=0,228$ ;  $p=0,043$ ).

Таблиця 7.8 – Порогове значення 25(OH)D

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
24	82,0	58,9
23	77,9	62,5
<b>22</b>	<b>64,8</b>	<b>75,0</b>
21	55,7	82,1

Таблиця 7.9 – Результати кореляційного аналізу між рівнями гормонів та білків і депресією

Показник	Характеристика кореляційного зв'язку		
	R	тіснота зв'язку за шкалою Чеддока	P
BDNF – депресія	-0,612	помірна	<0,001
GRIN2B – депресія	0,228	слабка	0,043
ТТГ – депресія	0,434	помірна	<0,001
вТ4 – депресія	-0,442	помірна	<0,001
АТПО – депресія	0,284	слабка	<0,001
АТТГ – депресія	0,156	слабка	0,048
25(OH)D – депресія	-0,376	помірна	<0,001

Спостережувана залежність депресії від BDNF описується рівнянням лінійної регресії:

$$Y_{\text{Депресія}} = -0,008 \times X_{\text{BDNF}} + 17,693.$$

При збільшенні BDNF на 1 слід очікувати зміни депресії за шкалою Гамільтона на  $-0,008$ . Відповідно до коефіцієнта детермінації  $R^2$ , в отриманій моделі враховано 54,4 % факторів, що впливають на значення показника депресії за шкалою Гамільтона (рис. 7.11).

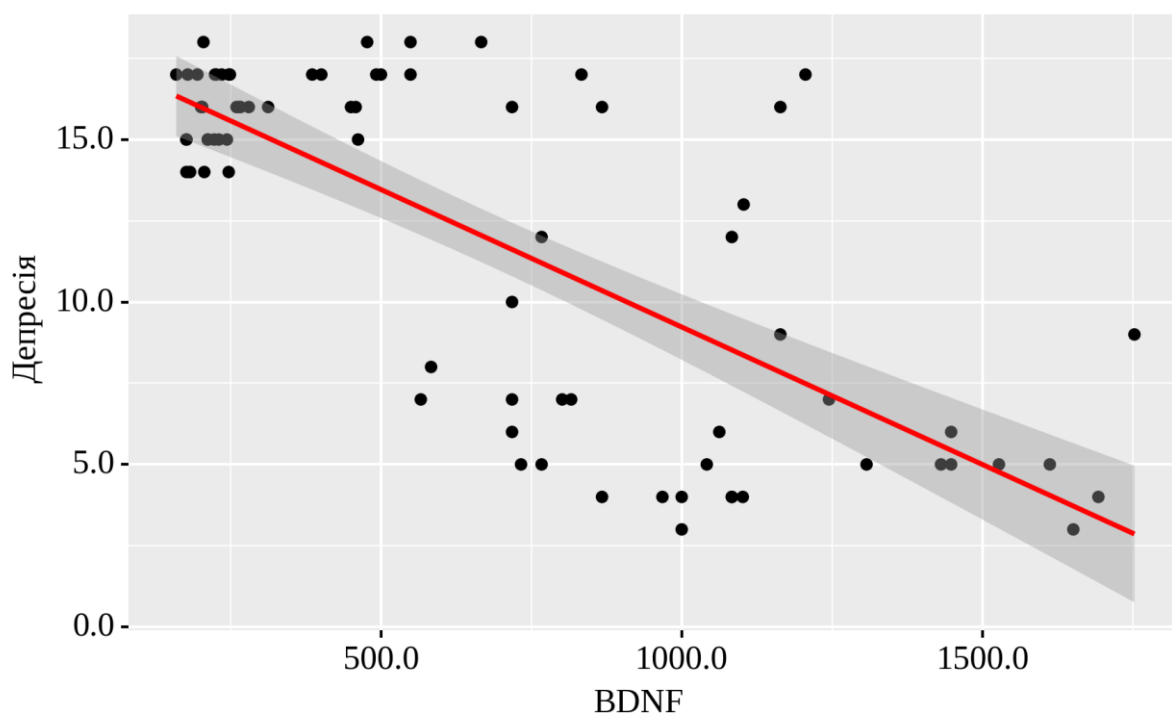


Рисунок 7.11 – Графік регресійної функції, що характеризує залежність депресії від BDNF

Проаналізували виникнення депресії, залежно від захворювання ЩЗ (табл. 7.10).

Таблиця 7.10 – Аналіз виникнення депресії від тиреоїдної патології

Тиреоїдна патологія	Категорія	Депресія		$\chi^2$ р
		немає	є	
Гіпотиреоз	Немає	53 (54,6)	44 (45,4)	$\chi^2=53,109$ р<0,001
	Є	3 (3,7)	78 (96,3)	
АІТ	Немає	24 (58,5)	17 (41,5)	$\chi^2=18,111$ р<0,001
	Є	32 (23,4)	105 (76,6)	

Відповідно до представленої таблиці 7.10, у 45,4 % пацієнтів з гіпотиреозом були виявлені депресивні порушення ( $p < 0,001$ ). Крім того, при порівнянні депресії залежно від наявності АІТ також виявлені статистично значущі відмінності ( $p < 0,001$ ). Так, серед пацієнтів, в яких був діагностований АІТ, депресія була в 76,6 % хворих ( $p < 0,001$ ).

Шанси депресії були в 31,318 разів більші в групі пацієнтів із гіпотиреозом, порівняно з групою хворих, в яких АІТ не було, відносна різниця в шансах була статистично значущою [95 % ДІ: 9,242 – 106,129].

Шанси депресії були в 4,632 разів більші в групі хворих з АІТ, порівняно з відсутністю АІТ, відносна різниця в шансах була статистично значущою [95 % ДІ: 2,218 – 9,677].

Виявлено статистичні значущі відмінності при порівнянні показників депресії за шкалою Гамільтона, залежно від 25(OH)D ( $p < 0,001$ ). Наявність депресії виявлена в 87 % ( $p < 0,001$ ) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 71,1 % хворих із недостатністю 25(OH)D ( $p = 0,015$ ) (табл. 7.11). При порівнянні показників депресії за шкалою Гамільтона, залежно від рівня BDNF також виявлені статистично значущі відмінності ( $p = 0,025$ ). Так, наявність депресії виявлена в 81,2 % ( $p = 0,025$ ) хворих зі зниженим рівнем BDNF.

Таблиця 7.11 – Аналіз впливу BDNF та 25(OH)D на виникнення депресії

Показник	Рівні BDNF та 25(OH)D	Депресія		$\chi^2$ p
		немає n (%)	є n (%)	
BDNF	Нормальний	19 (43,2)	25 (56,8)	$\chi^2=5,01$ p=0,026
	Знижений	6 (18,8)	26 (81,2)	
25(OH)D	Норма	24 (96,0)	1 (4,0)	$\chi^2=61,30$ p<0,001
	Дефіцит <20 нг/мл	10 (13,0)	67 (87,0)	
	Недостатність 20–30 нг/мл	22 (28,9)	54 (71,1)	

Ймовірність депресії в групі зі зниженим рівнем BDNF була в 3,293 рази вища, ніж у групі з нормальним рівнем, відмінності в шансах були статистично значущими (95 % ДІ: 1,130 – 9,597).

Ризик депресії у хворих на патологію ЦЗ на тлі недостатності, чи дефіциту вітаміну D у крові збільшується в понад 90 разів (95 % ДІ: 11,82-696,53;  $p < 0,001$ ), що особливо посилюється на тлі дефіциту 25(OH)D – у 161 раз [95 % ДІ: 19,54-1323,5;  $p < 0,001$ ]. Окрім того, ймовірність депресії зростає у таких пацієнтів за зниження концентрації BDNF крові в 3,29 рази [95 % ДІ: 1,130-9,597;  $p = 0,025$ ].

Відповідно до наведеної таблиці, при порівнянні депресії за шкалою Гамільтона, виявлено статистично значущі відмінності, залежно від рівнів BDNF, 25(OH)D ( $p = 0,011$ ,  $p < 0,001$  відповідно) (табл. 7.12).

Таблиця 7.12 – Депресивні розлади за шкалою Гамільтона, залежно від рівнів BDNF та 25(OH)D

Показник	Рівні BDNF та 25(OH)D	Наявність депресії за шкалою Гамільтона			$\chi^2$ p
		норма n (%)	легкий депресивний розлад n (%)	депресивний розлад середнього ступеня тяжкості n (%)	
Рівень BDNF	Нормальний	19 (43,2)	1 (2,3)	24 (54,5)	$\chi^2 = 9,025$ $p = 0,011$
	Знижений	6 (18,8)	6 (18,8)	20 (62,5)	
25(OH)D	Норма	24 (96,0)	1 (4,0)	0 (0,0)	$\chi^2 = 58,653$ $p < 0,001$
	Дефіцит <20 нг/мл	10 (13,0)	25 (32,5)	42 (54,5)	
	Недостатність 20–30 нг/мл	22 (28,9)	18 (23,7)	36 (47,4)	

Легкий депресивний розлад виявлений у 32,5 % ( $p < 0,001$ ) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 28,9 % хворих із недостатністю 25(OH)D ( $p = 0,047$ ). Депресивний розлад середнього ступеня тяжкості засвідчено в 54,5 % ( $p < 0,001$ ) хворих із дефіцитом 25(OH)D та в 47,4 % хворих із недостатністю 25(OH)D ( $p = 0,047$ ). При порівнянні показників депресії за шкалою Гамільтона, залежно від рівня BDNF, легкий депресивний розлад виявлений у 18,0 % ( $p = 0,011$ ) хворих зі зниженим рівнем BDNF, а депресивний розлад середнього ступеня тяжкості засвідчено в 62,5 % ( $p = 0,011$ ) хворих зі зниженим рівнем BDNF.

### Висновки

1. Депресивні розлади за шкалою Гамільтона вірогідно частіше розвиваються в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), ніж *CC*-генотипу на 28,22 %: 87,72 % проти 59,50 % ( $\chi^2 = 14,31$ ;  $p < 0,001$ ), особливо середньо-тяжкі форми – на 49,10 % (77,19 % випадків проти 28,10 %,  $\chi^2 = 37,93$ ;  $p < 0,001$ ). Поява депресії не асоціює з алельним станом генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).

2. Рівень депресії за шкалою Гамільтона вірогідно вище в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) незалежно від групи спостереження: в контролі – на 57,31 % ( $p < 0,001$ ) і 76,89 % ( $p = 0,013$ ), у дослідній групі – на 51,17 % ( $p < 0,001$ ) і 61,79 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наявність патології ЩЗ посилює депресію в 1,62-3,77 рази ( $p \leq 0,009$ ) із найвищими балами за АІТ.

3. ROC-аналіз підтвердив в якості прогностичних предикторів появи депресивних порушень наступні серологічні маркери: рівні BDNF (Se-74,5 %, Sp-100 %; площа під кривою ROC (AUC):  $0,900 \pm 0,044$ ; 95 % ДІ: 0,814-0,985;  $p < 0,001$ ), ТТГ (Se-65,0 %, Sp-95,6 %; AUC:  $0,770 \pm 0,037$ ; 95 % ДІ: 0,697-0,844;  $p < 0,001$ ), вільного Т4 (Se-68,4 %, Sp-93,3 %; AUC:  $0,797 \pm 0,043$ ; 95 % ДІ: 0,713-0,881;  $p < 0,001$ ), АТПО (Se-86,3 %, Sp-53,3 %; AUC:  $0,745 \pm 0,040$ ; 95 % ДІ: 0,667-0,822;  $p < 0,001$ ) та 25(OH)D (Se-64,8 %, Sp-75,0 %; AUC:  $0,791 \pm 0,039$ ; 95 % ДІ: 0,714-0,868;  $p < 0,001$ ).

4. Рівень депресії зворотно помірно корелює з концентрацією в крові BDNF, вільного T4 та 25(OH)D ( $r=-0,612$ –/ $-0,376$ /;  $p<0,001$ ), прямо слабко залежить від рівнів GRIN2B, АТПО, АТТГ ( $r=0,156$ – $0,284$ ;  $p\leq 0,043$ – $0,001$ ) і, дещо сильніше, від вмісту ТТГ ( $r=0,434$ ;  $p<0,001$ ).

5. Шанси депресії зростають за гіпотиреозу в 31,3 раза [95 % ДІ: 9,242–106,129;  $p<0,001$ ], за АІТ – у 4,63 раза [95 % ДІ: 2,218–9,677] відповідно.

6. У хворих на патологію ЩЗ на тлі недостатності, чи дефіциту вітаміну D у крові ризик депресії збільшується в понад 90 разів [95 % ДІ: 11,82–696,53;  $p<0,001$ ], що особливо посилюється на тлі дефіциту 25(OH)D – у 161 раз [95 % ДІ: 19,54–1323,5;  $p<0,001$ ]. Окрім того, ймовірність депресії зростає у таких пацієнтів за зниження концентрації BDNF крові в 3,29 раза [95 % ДІ: 1,130–9,597;  $p=0,025$ ].

Наведені в розділі результати опубліковано в наукових працях автора [244, 259].

## РОЗДІЛ 8

### ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ КОГНІТИВНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Порушення функції ЩЗ викликає когнітивні порушення [138]. Докази свідчать про те, що гіпофункція ЩЗ може негативно впливати на настрій і певні когнітивні функції (зменшення швидкості обробки інформації, зниження ефективності виконавчих функцій), а лікування гіпотиреозу та нормалізація до еутиреоїдного стану, як правило, покращує нейропсихологічні симптоми [235, 292]. Зростає потреба у вивченні факторів ризику, що впливають на наявність когнітивних порушень у пацієнтів з ТХ, оскільки когнітивні порушення пов'язані з високим ризиком депресії і порушенням якості повсякденного життя у пацієнтів із захворюваннями ЩЗ [313].

У роботі ми визначали фактори ризику, які можуть вплинути на наявність когнітивних порушень, та аналізували асоціації поліморфізмів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) з когнітивними порушеннями у пацієнтів з тиреоїдною патологією. Крім того, ми прогнозували розвиток когнітивних розладів у цих осіб.

Аналіз наявності когнітивних порушень за результатами MMSE тесту, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), наведений у таблиці 8.1.

При порівнянні когнітивних порушень за тестом MMSE виявлено статистично значущу різницю ( $p < 0,001$ ) за поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265). Так, вірогідні зміни спостерігалися серед носіїв генотипів *CT* і *TT*, порівняно з носіями генотипу *CC* ( $p < 0,001$ ). У нашому дослідженні 62,2 % носіїв генотипу *CT* мали когнітивні порушення за даними тесту MMSE ( $p < 0,001$ ). Однак найбільший відсоток когнітивних порушень виявлено в носіїв генотипу *TT* – 75 % ( $p < 0,001$ ).

При оцінці когнітивних порушень не виявлено статистично значущих відмінностей між генотипами за поліморфізмом генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) за тестом MMSE ( $p=0,898$ ,  $p=0,555$  відповідно).

Таблиця 8.1 – Аналіз когнітивних порушень, залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)

Досліджуваний ген	Генотип	Когнітивні порушення		$\chi^2$ p
		немає n (%)	є n (%)	
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	105 (86,8)	16 (13,2)	$\chi^2=49,510$ $p<0,001$
	<i>CT</i>	17 (37,8)	28 (62,2)	$\chi^2=30,324$ $p<0,001$
	<i>TT</i>	3 (25,0)	9 (75,0)	$\chi^2=12,586$ $p<0,001$
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	49 (72,1)	19 (27,9)	$\chi^2=0,177$ $p=0,674$
	<i>AG</i>	50 (68,5)	23 (31,5)	$\chi^2=0,177$ $p=0,674$
	<i>GG</i>	26 (70,3)	11 (29,7)	$\chi^2=0,007$ $p=0,995$
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	36 (66,7)	18 (33,3)	$\chi^2=0,469$ $p=0,494$
	<i>CT</i>	63 (74,1)	22 (25,9)	$\chi^2=1,179$ $p=0,278$
	<i>TT</i>	26 (66,7)	13 (33,3)	$\chi^2=0,302$ $p=0,583$

Згідно з даними, отриманими при порівнянні когнітивних порушень за шкалою MMSE (табл. 8.2), лише 9,1 % носіїв генотипу *CC* мали помірні (переддементні) когнітивні порушення, порівняно з 51,1 % та 33,3 % носіїв генотипів *CT* і *TT* відповідно ( $p<0,001$ ). Легка деменція спостерігалась тільки в 4,1 % носіїв генотипу *CC* ( $p<0,001$ ) та 11,1 % носіїв генотипу *CT*.



Серед носіїв генотипу *TT* була найбільша частка пацієнтів із діагностованою деменцією легкого ступеня, яка становила 41,7 % ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 8.2 – Когнітивні порушення залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213)

Досліджу- ваний ген	Генотип	Когнітивні порушення за даними MMSE тесту			$\chi^2$ p
		немає, n (%)	помірні (переддементні) n (%)	деменція легкого ступеня, n (%)	
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	105 (86,8)	11 (9,1)	5 (4,1)	$\chi^2=49,605$ p<0,001
	<i>CT</i>	17 (37,8)	23 (51,1)	5 (11,1)	$\chi^2=34,534$ p<0,001
	<i>TT</i>	3 (25,0)	4 (33,3)	5 (41,7)	$\chi^2=21,484$ p<0,001
<i>VDR</i> (rs2228570)	<i>AA</i>	49 (72,1)	12 (17,6)	7 (10,3)	$\chi^2=1,214$ p=0,545
	<i>AG</i>	50 (68,5)	19 (26,0)	4 (5,5)	$\chi^2=2,598$ p=0,273
	<i>GG</i>	26 (70,3)	7 (18,9)	4 (10,8)	$\chi^2=0,444$ p=0,801
<i>NMDA</i> (rs4880213)	<i>CC</i>	36 (66,7)	12 (22,2)	6 (11,1)	$\chi^2=0,830$ p=0,661
	<i>CT</i>	63 (74,1)	16 (18,8)	6 (7,1)	$\chi^2=0,156$ p=0,925
	<i>TT</i>	26 (66,7)	10 (25,6)	3 (7,7)	$\chi^2=0,553$ p=0,759

При оцінці ступеня когнітивних порушень, за даними тесту MMSE, залежно від поліморфізму генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), статистично значущих відмінностей між генотипами не було ( $p=0,621$ ,  $p=0,802$  відповідно).

У носіїв *T*-алеля когнітивна функція порушується частіше загалом на 51,69 % і глибше за даними MMSE тесту (помірні переддементні зміни трапляються частіше на 38,28 %, деменція легкого ступеня – на 13,44 %), ніж у таких із *CC*-генотипом (64,91 % проти 13,22 %,  $\chi^2=49,51$ ;  $p<0,001$ ).

Аналіз когнітивних порушень, за даними MMSE тесту (в балах) залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) в обстежених групах, наведений у таблиці 8.3.

При порівнянні даних MMSE тесту в носіїв усіх генотипів показники в дослідній групі були вірогідно нижчими, порівняно з контролем. Так, серед носіїв *CC* генотипу цей показник був нижчим на 5,74 % ( $p<0,001$ ), *CT* генотипу – на 8,41 % ( $p<0,001$ ). Згідно з нашими даними, показник MMSE тесту був найнижчим серед носіїв *TT* генотипу (на 15,36 %,  $p<0,001$ ), порівняно з контрольною групою.

При аналізі рівня когнітивних порушень залежно від тиреоїдної патології в пацієнтів із ПОГ виявлено зниження MMSE тесту (в балах) серед носіїв *CC* генотипу на 5,84 % ( $p<0,001$ ), *CT* генотипу – на 8,8 % ( $p<0,001$ ). Крім того, найнижчим показник був серед носіїв *TT* генотипу (на 23,2 %,  $p<0,001$ ), порівняно з контрольною групою. У хворих на АІТ з гіпотиреозом також було зниження когнітивних функцій на 8,25 % ( $p<0,001$ ), у носіїв *CC* генотипу та на 12,6 % ( $p<0,001$ ) у носіїв *CT* генотипу. Також було встановлено, що показник MMSE тесту був найнижчим серед носіїв *TT* генотипу (на 25 %,  $p<0,001$ ), порівняно з контрольною групою.

Згідно з нашим дослідженням, у хворих з АІТ засвідчено зниження MMSE тесту (в балах) серед носіїв *CC* генотипу на 3,43 % ( $p<0,001$ ), *CT*

генотипу на 4,4 % ( $p < 0,001$ ), та *TT* генотипу на 6,43 %, ( $p < 0,001$ ), порівняно з контрольною групою.

Таблиця 8.3 – Показники рівня когнітивних порушень за даними MMSE тесту (в балах) у пацієнтів з різною тиреоїдною патологією, залежно від варіантів генотипу за поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265)

Показник MMSE тесту (в балах) (M±m)						
<i>BDNF</i> (rs6265)	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	P5	P6	P7
Контроль	29,47 ± 0,52	28,17 ± 0,41	28,0 ± 0	<0,001	<0,001	0,356
Дослідна група	27,78 ± 1,299	25,81 ± 1,56	23,70 ± 2,71	<0,001	<0,001	<0,001
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
ПОГ	27,75 ± 1,28	25,7 ± 1,03	21,5 ± 0,71	0,006	<0,001	0,0026
P1	0,0063	0,0011	0,0489			
P2	0,1887	0,0759	0,56			
АІТ з Г	27,04 ± 1,47	24,63 ± 1,31	21,0 ± 1,1	<0,001	<0,001	0,004
P1	<0,001	<0,001	0,0067			
P3	<0,001	<0,001	0,0067			
АІТ	28,46 ± 0,58	26,94 ± 1,03	26,2 ± 0,44	<0,001	<0,001	0,0329
P1	<0,001	<0,001	<0,001			
P4	0,164	0,019	0,04			
Примітка 1. Статистична значущість відмінностей; $p < 0,05$ .						
Примітка 2. P1 – між контрольною групою та досліджуваними групами; P2 – між ПОГ та АІТ з гіпотиреозом; P3 – між АІТ та АІТ з гіпотиреозом; P4 – між групами ПОГ та АІТ; P5 – між генотипами <i>CC</i> і <i>CT</i> ; P6 – між генотипами <i>CC</i> і <i>TT</i> ; P7 – між генотипами <i>CT</i> і <i>TT</i> .						

При аналізі даних MMSE тесту в балах найнижчий показник був у дослідній групі в носіїв *TT* генотипу (на 14,7 %,  $p < 0,001$ ) та *CT* генотипу (на 7,1 %,  $p < 0,001$ ) порівняно з носіями *CC* генотипу.

У пацієнтів з ПОГ кількість балів MMSE тесту була нижчою в носіїв *TT* генотипу (на 22,6 %,  $p < 0,001$ ) та *CT* генотипу (на 7,4 %,  $p < 0,001$ ), порівняно з носіями *CC* генотипу.

У хворих на АІТ з гіпотиреозом також було виявлено зниження рівня когнітивних функцій залежно від варіантів генотипу за поліморфізмом генів *BDNF* (rs6265). Так, у носіїв *CT* та *TT* кількість балів була нижчою на 9 % ( $p < 0,001$ ) та на 22,3 % ( $p < 0,001$ ) відповідно, порівняно з носіями *CC* генотипу.

Крім того, у хворих на АІТ також засвідчено зниження кількості балів за MMSE тестом у носіїв *TT* генотипу (на 8 %,  $p < 0,001$ ) та *CT* генотипу (на 5,3 %,  $p < 0,001$ ), порівняно з носіями *CC* генотипу.

Дослідили прогностичну цінність рівнів ряду гормонів у плазмі крові як потенційних маркерів когнітивних порушень. Відображена крива була отримана при оцінці залежності визначення когнітивних порушень від рівня *BDNF* з використанням ROC-аналізу. Наступна крива була отримана при оцінці залежності виявлення когнітивних порушень від вмісту *BDNF* з використанням ROC-аналізу (рис. 8.1, 8.2; табл. 8.4).

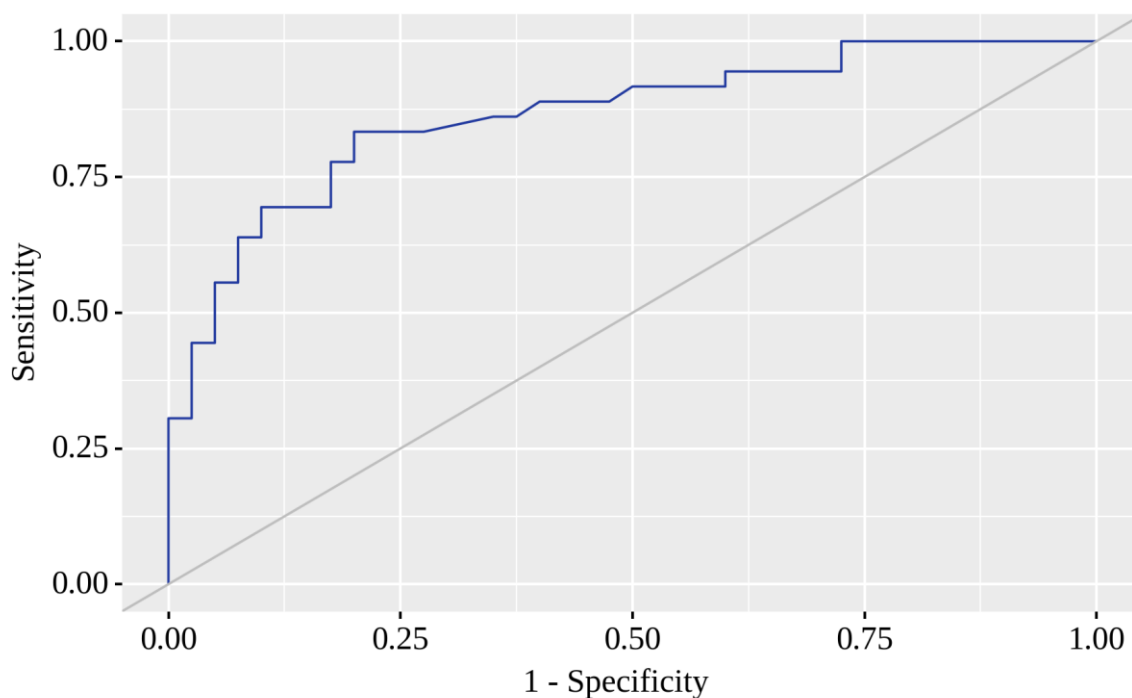


Рисунок 8.1 – ROC-крива залежності ймовірної наявності когнітивних порушень від рівня *BDNF*

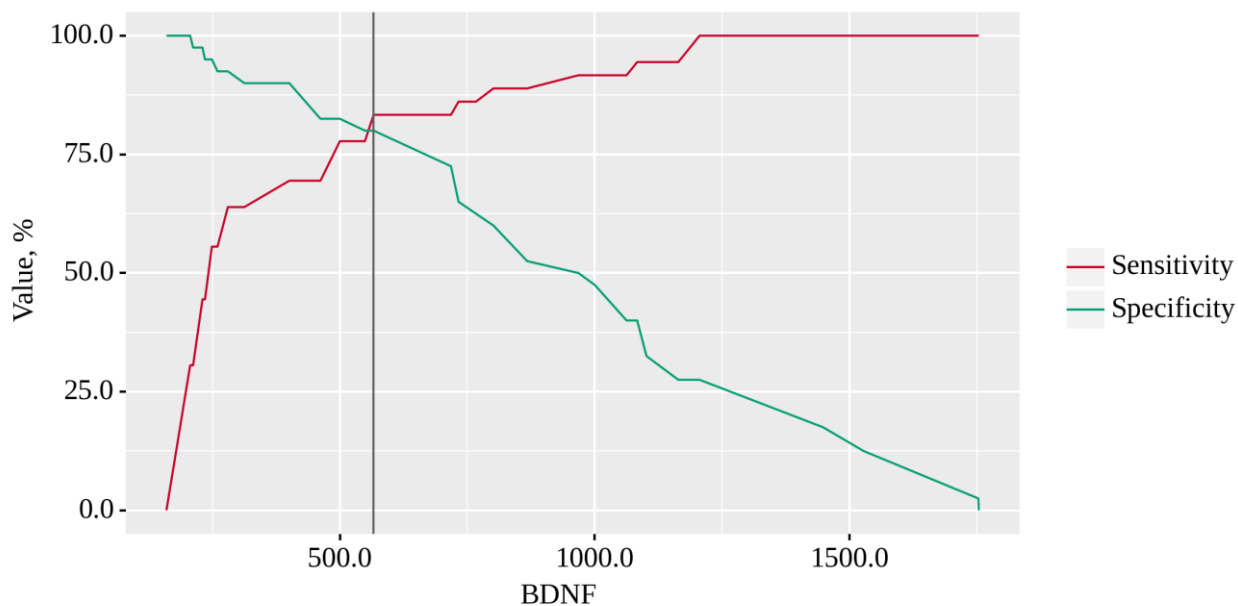


Рисунок 8.2 – Аналіз чутливості та специфічності когнітивних порушень, залежно від BDNF

Таблиця 8.4 – Порогове значення BDNF

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
968	91,7	50,0
868	88,9	52,5
801	88,9	60,0
767	86,1	62,5
733	86,1	65,0
718	83,3	72,5
<b>566</b>	<b>83,3</b>	<b>80,0</b>
549	77,8	80,0
500	77,8	82,5
462	69,4	82,5
401	69,4	90,0
312	63,9	90,0
280	63,9	92,5
260	55,6	92,5
249	55,6	95,0

Площа під кривою ROC становила ( $0,864 \pm 0,042$ ) при 95 % ДІ: 0,781 – 0,947. Отримана модель була статистично достовірною ( $p < 0,001$ ). Порогове значення BDNF, яке відповідає найвищому індексу J Юдена, становить 566,240. Якщо BDNF був нижчим або рівним цьому значенню, було передбачено виявлення когнітивних порушень. Чутливість і специфічність методу становили 83,3 і 80,0 % відповідно.

Наступна крива була отримана при оцінці залежності виявлення когнітивних порушень від вмісту ТТГ з використанням ROC-аналізу (рис. 8.3, 8.4; табл. 8.5).

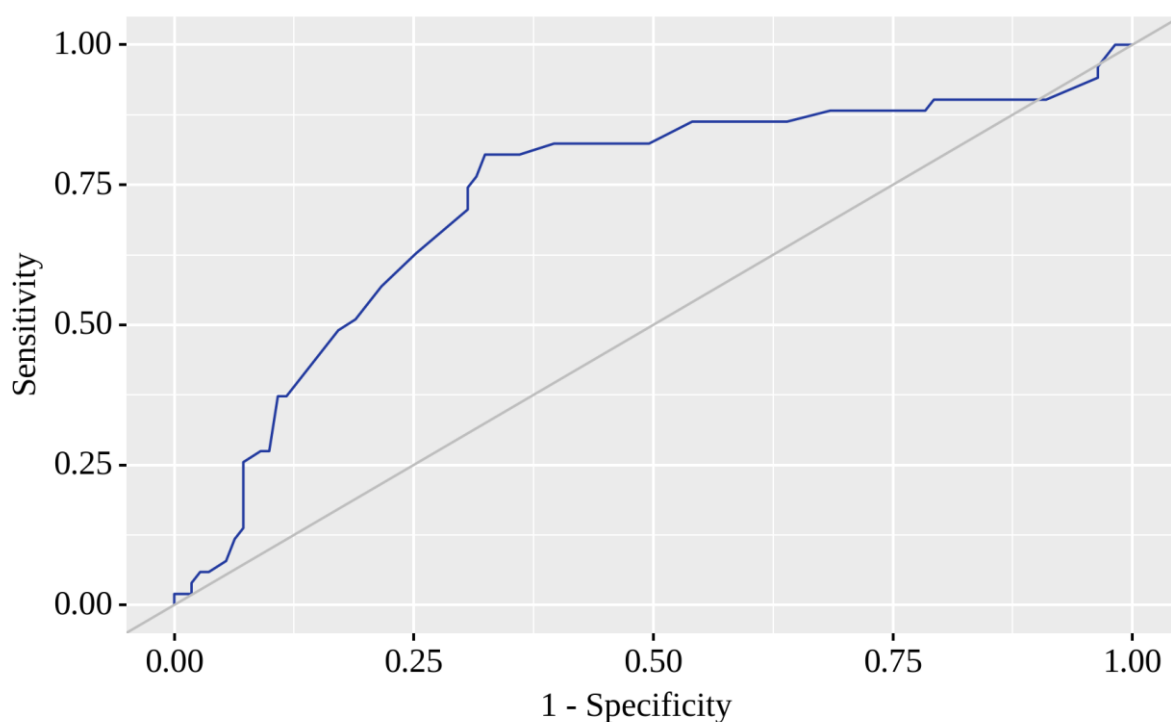


Рисунок 8.3 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності когнітивних порушень від ТТГ

Площа під кривою ROC становила ( $0,726 \pm 0,045$ ) з 95 % ДІ: 0,637 – 0,814. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення ТТГ, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 6,400. Якщо ТТГ був більшим або дорівнює цьому значенню, то прогнозували когнітивні пошкодження. Чутливість і специфічність методу становили 80,4 і 67,6 % відповідно.

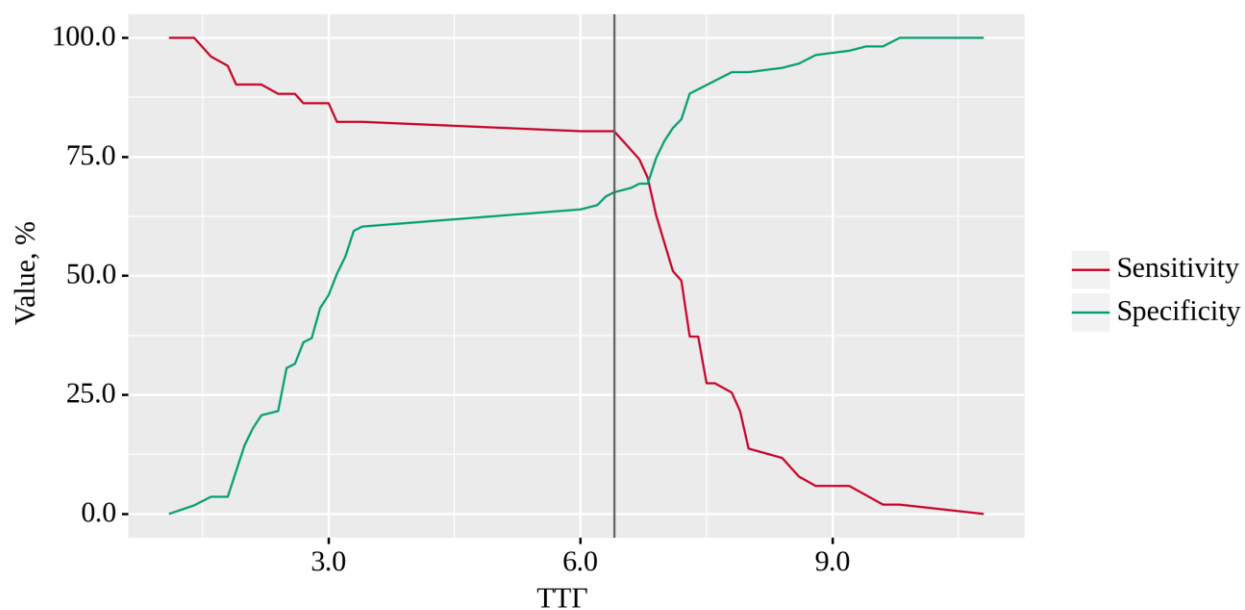


Рисунок 8.4 – Аналіз чутливості та специфічності когнітивних порушень, залежно від ТТГ

Таблиця 8.5 – Порогове значення ТТГ

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
7	51,0	81,1
7	56,9	78,4
7	62,7	74,8
7	70,6	69,4
7	74,5	69,4
7	76,5	68,5
<b>6</b>	<b>80,4</b>	<b>67,6</b>
6	80,4	66,7
6	80,4	64,9
6	80,4	64,0
3	82,4	60,4
3	82,4	59,5
3	82,4	54,1
3	82,4	50,5

Наступна крива була отримана при оцінці залежності виявлення когнітивних порушень від вмісту вТ4 з використанням ROC-аналізу (рис. 8.5, 8.6; табл. 8.6).

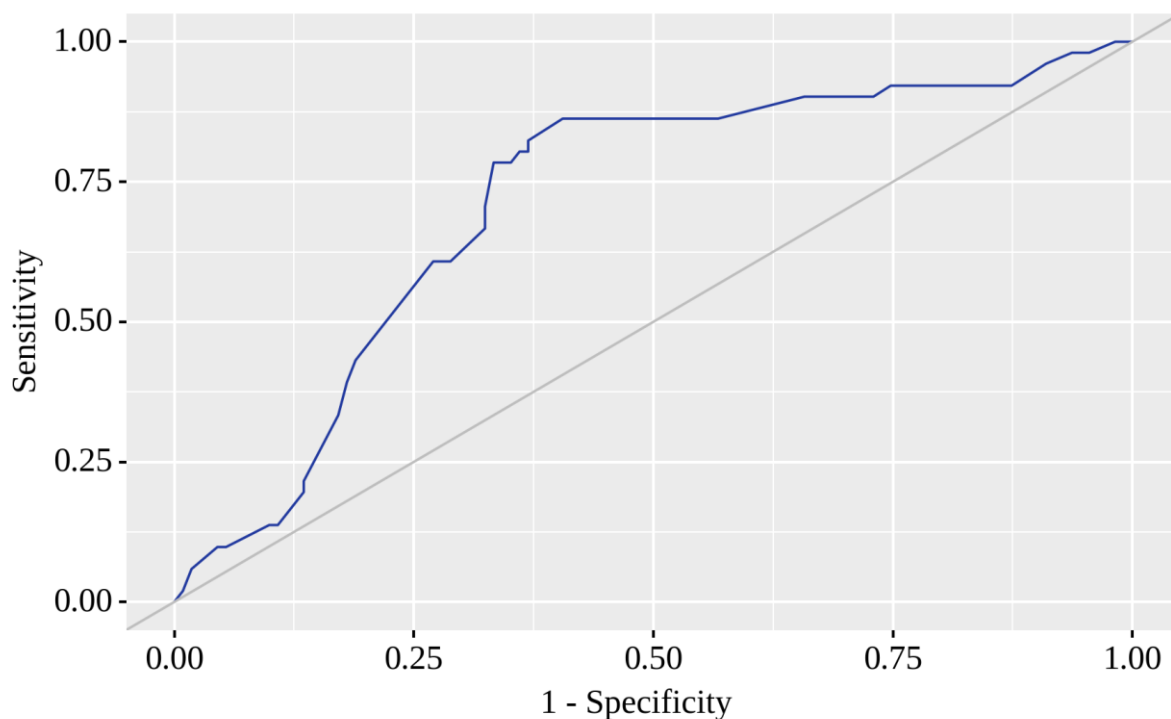


Рисунок 8.5 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності когнітивних порушень від вТ4

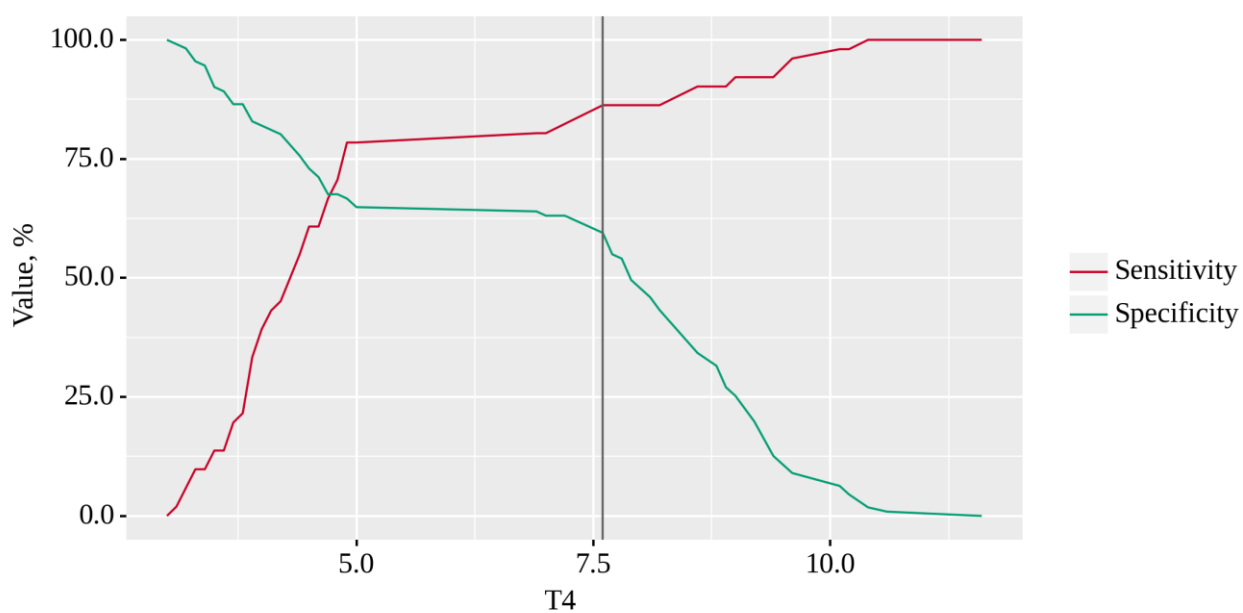


Рисунок 8.6 – Аналіз чутливості та специфічності когнітивних порушень, залежно від вТ4



Таблиця 8.6 – Порогове значення вТ4

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
8	86,3	54,1
8	86,3	55,0
<b>8</b>	<b>86,3</b>	<b>59,5</b>
7	82,4	63,1
7	80,4	63,1
7	80,4	64,0
5	78,4	64,9
5	78,4	66,7
5	70,6	67,6
5	66,7	67,6
5	60,8	71,2
4	60,8	73,0
4	54,9	75,7

Площа під ROC кривою становила  $(0,713 \pm 0,041)$  з 95 % ДІ: 0,632 – 0,793. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ).

Граничне значення вТ4, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 7,600. Якщо вТ4 було менше або дорівнює цьому значенню, то прогнозували когнітивні пошкодження. Чутливість і специфічність методу становили 86,3 і 59,5 % відповідно.

Наступна крива була отримана при оцінці залежності виявлення когнітивних порушень від вмісту 25(OH)D з використанням ROC-аналізу (рис. 8.7, 8.8; табл. 8.7).

Площа під кривою ROC становила  $(0,622 \pm 0,044)$  з 95 % ДІ: 0,536 – 0,709. Отримана модель була статистично значущою ( $p = 0,010$ ).

Граничне значення 25(OH)D, яке відповідає найвищому показнику J Юдена, становить 21,0. Якщо показник 25(OH)D був меншим або дорівнював

цьому значенню, прогнозували когнітивні пошкодження. Чутливість і специфічність методу становили 54,7 і 60,8 % відповідно.

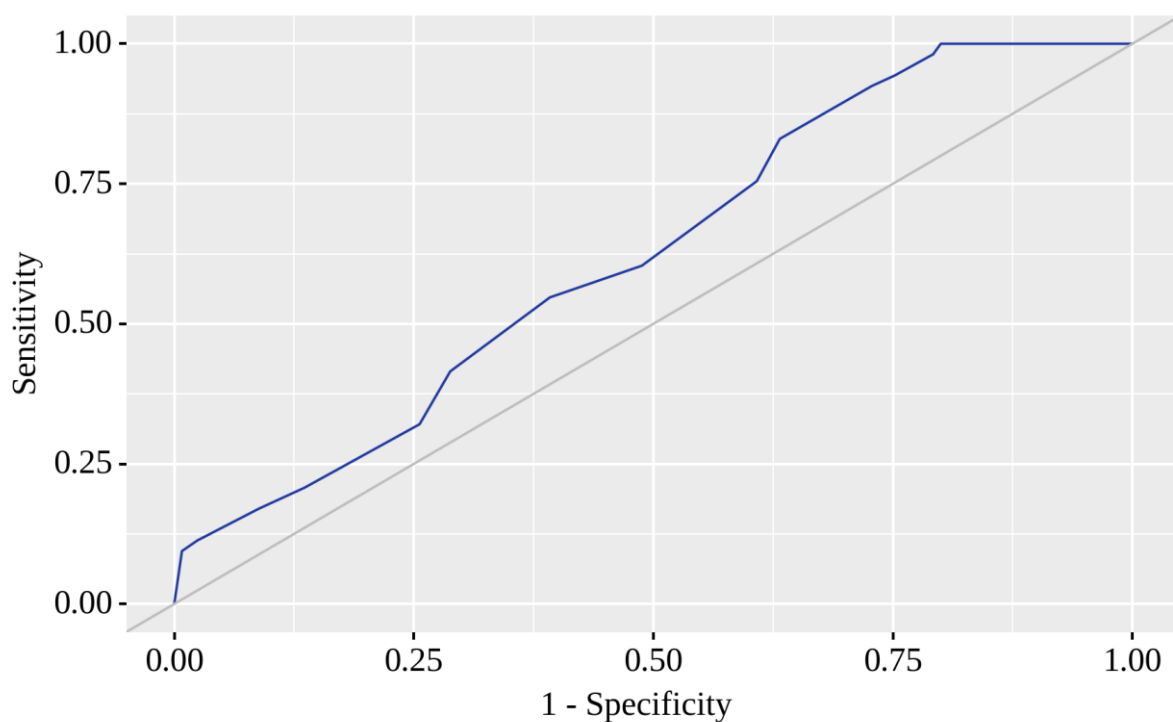


Рисунок 8.7 – ROC-крива, що характеризує залежність ймовірності когнітивних порушень від рівня 25(OH)D

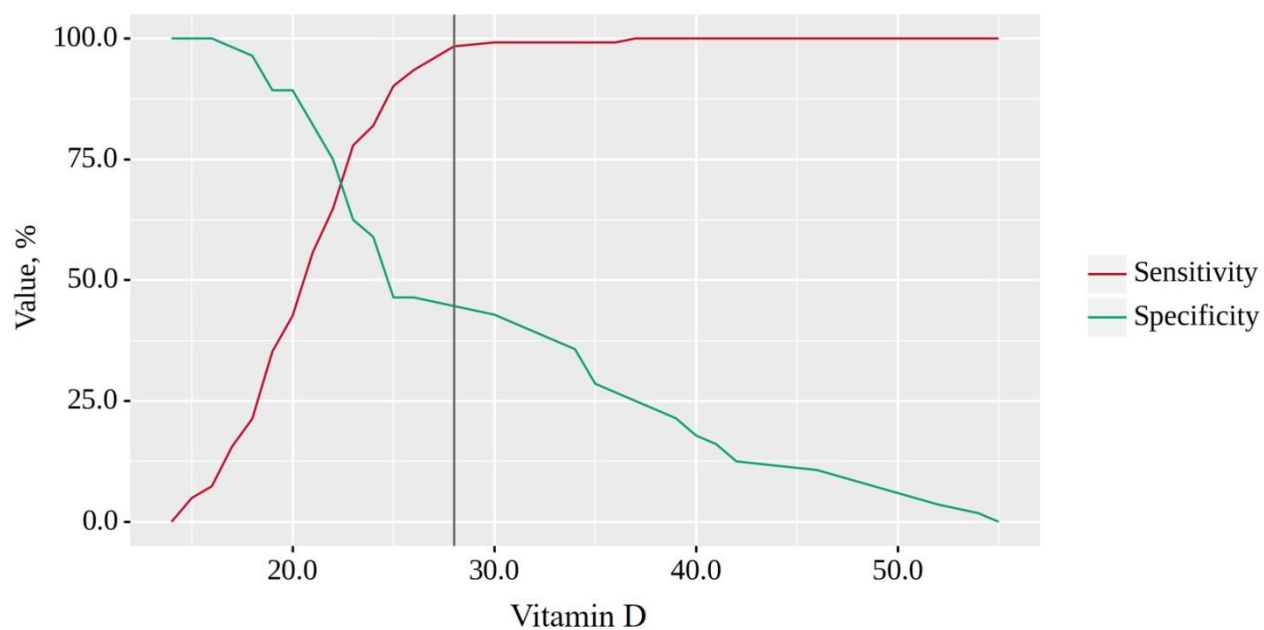


Рисунок 8.8 – Аналіз чутливості та специфічності когнітивних порушень, залежно від рівня 25(OH)D

Таблиця 8.7 – Порогове значення 25(OH)D

Threshold	Sensitivity (Se), %	Specificity (Sp), %
22	60,4	51,2
<b>21</b>	<b>54,7</b>	<b>60,8</b>

Був виконаний кореляційний аналіз взаємозв'язку між рівнями гормонів та білків і когнітивними порушеннями, за даними MMSE тесту (табл. 8.8).

Таблиця 8.8 – Результати кореляційного аналізу рівнів гормонів та білків і когнітивних порушень, за даними MMSE тесту

Показник	Характеристика кореляційного зв'язку		
	R	сила зв'язку за шкалою Чеддока	P
BDNF – MMSE	0,714	Сильний	<0,001*
GRIN2B – MMSE	-0,332	Помірний	0,003*
ТТГ – MMSE	-0,455	Помірний	<0,001*
вТ4 – MMSE	0,428	Помірний	<0,001*
АТПО – MMSE	-0,296	Слабкий	<0,001*
АТТГ – MMSE	-0,166	Слабкий	0,035*
25(OH)D – MMSE	0,275	Слабкий	<0,001*

Примітка. \* – відмінності статистично значущі (p<0,05).

Аналіз кореляції між когнітивними порушеннями, за даними тесту MMSE і рівнями ТТГ, вТ4, АТТГ і АТПО, 25(OH)D і рівнями BDNF, показує сильну пряму кореляцію між показниками MMSE тесту і рівнями BDNF ( $r=0,714$ ;  $p<0,001$ ) та пряму помірну кореляцію між когнітивними порушеннями і вТ4 ( $r=0,428$ ;  $p<0,001$ ), а також слабку пряму кореляцію з рівнем 25(OH)D ( $r=0,275$ ;  $p<0,001$ ). Крім того, ми виявили помірну зворотну кореляцію між тестом MMSE і рівнем ТТГ у крові ( $r=-0,455$ ;  $p<0,001$ ) і

GRIN2B ( $r=-0,332$ ;  $p=0,003$ ). У той же час ми виявили слабкий зворотний зв'язок між когнітивними порушеннями, за даними тесту MMSE і АТПО ( $r=-0,296$ ;  $p<0,001$ ) і АТТГ ( $r=-0,166$ ;  $p=0,035$ ).

Залежність показника «MMSE» від показника «BDNF» описується рівнянням парної лінійної регресії:

$$Y_{\text{MMSE}}=0,003 \times X_{\text{BDNF}} + 24,278.$$

При збільшенні показника BDNF на 1 слід очікувати збільшення показника MMSE на 0,003. Відповідно до коефіцієнта детермінації  $R^2$  в отриманій моделі враховано 41,6 % факторів, що впливають на значення показника «MMSE» (рис. 8.9).

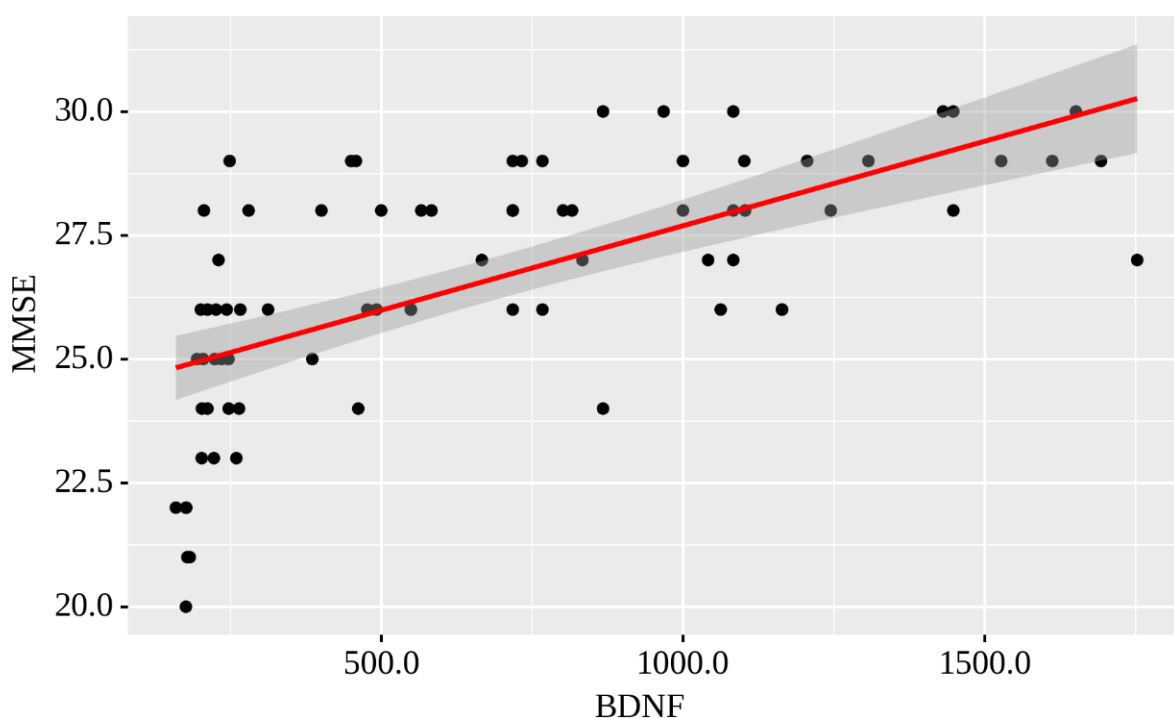


Рисунок 8.9 – Графік регресійної функції, що характеризує залежність показника «MMSE» від показника «BDNF»

Аналіз наявності когнітивних порушень, зумовлених захворюваннями ЩЗ, представлений у таблиці 8.9.

Таблиця 8.9 – Аналіз когнітивних порушень, зумовлених захворюваннями ЩЗ

Захворювання ЩЗ	Категорія	Когнітивні порушення		$\chi^2$ р
		немає	є	
Гіпотиреоз	Відсутність	85 (87,6)	12 (12,4)	$\chi^2=30,879$ р<0,001
	Наявність	40 (49,4)	41 (50,6)	
АІТ	Відсутність	33 (80,5)	8 (19,5)	$\chi^2=2,683$ р=0,101
	Наявність	92 (67,2)	45 (32,8)	

Відповідно до представленої таблиці, при порівнянні когнітивних порушень виявлено статистично значущі відмінності залежно від наявності гіпотиреозу (р<0,001). Так, у 50,6 % пацієнтів з ГТ були виявлені когнітивні порушення (р<0,001). При порівнянні когнітивних порушень залежно від АІТ статистично значущих відмінностей не було (р=0,101).

Шанси когнітивних порушень були в 7,260 раза більші в групі пацієнтів з гіпотиреозом, порівняно з хворими, в яких ГТ не було, відносна різниця в шансах статистично значуща [95 % ДІ: 3,447 – 15,294].

Шанси когнітивних порушень були в 2,018 раза більші в групі хворих з АІТ, порівняно з пацієнтами без АІТ, відносна різниця в шансах не була статистично значущою [95 % ДІ: 0,862 – 4,724].

Аналіз наявності когнітивних порушень від рівнів BDNF та 25(OH)D представлений у таблиці 8.10

Відповідно до представленої таблиці 8.10, при порівнянні наявності когнітивних порушень виявлено статистично значущі відмінності, залежно від 25(OH)D (р=0,001). Так, когнітивні порушення були в 37,7 % (р<0,001) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 31,6 % (р=0,003) пацієнтів із недостатністю 25(OH)D. При порівнянні когнітивних порушень залежно від рівня BDNF статистично значущих відмінностей не було (р=0,590) (табл. 8.11).

Таблиця 8.10 – Аналіз наявності когнітивних порушень від рівнів BDNF та 25(OH)D

Показник	Рівень BDNF та 25(OH)D	Когнітивні порушення		$\chi^2$ p
		немає n (%)	є n (%)	
Рівень BDNF	Нормальний	22 (50,0)	22 (50,0)	$\chi^2=0,290$ p=0,590
	Знижений	18 (56,2)	14 (43,8)	
25(OH)D	Норма	25 (100,0)	0 (0)	$\chi^2=13,156$ p<0,001
	Дефіцит	48 (62,3)	29 (37,7)	
	Недостатність	52 (68,4)	24 (31,6)	$\chi^2=10,355$ p=0,003

Таблиця 8.11 – Аналіз когнітивних порушень за шкалою MMSE залежно від рівнів BDNF та 25(OH)D

Показник	Рівні BDNF та 25(OH)D	Когнітивні порушення за даними MMSE тесту			$\chi^2$ p
		немає n (%)	помірні (переддементні) n (%)	деменція легкого ступеня n (%)	
Рівень BDNF	Нормальний	22 (50,0)	11 (25,0)	11 (25,0)	$\chi^2=2,970$ p=0,206
	Понижений	18 (56,2)	11 (34,4)	3 (9,4)	
Рівень 25(OH)D	Норма	25 (100,0)	0 (0)	0 (0)	$\chi^2=13,156$ p=0,004
	Дефіцит	48 (62,3)	21 (27,3)	8 (10,4)	
	Недостатність	52 (68,4)	17 (22,4)	7 (9,2)	$\chi^2=10,355$ p=0,011

Шанси виявлення когнітивних порушень були в 1,286 раза вищі в групі зі зниженим рівнем 25(OH)D, ніж у групі з нормальним рівнем, відносна різниця в шансах не була статистично значущою (OR=0,778; 95 % ДІ: 0,312 – 1,942).

Виявлено статистичні значущі відмінності при порівнянні когнітивних порушень за шкалою MMSE залежно від 25(OH)D ( $p=0,011$ ) (застосований тест  $\chi^2$  Пірсона). Помірні (переддементні) когнітивні порушення виявлені в 27,3 % ( $p=0,004$ ) хворих з дефіцитом 25(OH)D та в 22,4 % хворих із недостатністю 25(OH)D. При порівнянні когнітивних порушень за шкалою MMSE залежно від рівня BDNF не виявлено статистично значущих відмінностей ( $p=0,206$ ).

Оцінка залежності показників MMSE тесту від кількісних факторів була виконана за допомогою методу множинної лінійної регресії (табл. 8.12).

Таблиця 8.12 – Аналіз залежності показників MMSE тесту від рівнів BDNF, ТТГ та АТТГ

Показник	B	Стандартна похибка	T	P
Intercept	28,507	1,038	27,459	<0,001
BDNF	0,002	0,001	3,674	<0,001
ТТГ	-0,269	0,101	-2,654	0,010
АТТГ	-0,076	0,019	-3,920	<0,001

Зазначена залежність MMSE від BDNF, ТТГ та АТТГ описується рівнянням лінійної регресії:

$$Y_{\text{MMSE}} = 28,507 + 0,002 \times X_{\text{BDNF}} - 0,269 \times X_{\text{ТТГ}} - 0,076 \times X_{\text{АТТГ}}$$

При збільшенні показника «BDNF» на 1 слід очікувати збільшення показника «MMSE» на 0,002, при збільшенні показника «ТТГ» на 1 слід очікувати зниження показника «MMSE» на 0,269, при збільшенні показника «АТТГ» на 1, слід очікувати зниження показника «MMSE» на 0,076. Отримана регресійна модель характеризується коефіцієнтом кореляції  $r_{xy}=0,7$ , що відповідає високій кореляції за шкалою Чеддока. Модель була статистично достовірною ( $p<0,001$ ). Виходячи із значення коефіцієнта

детермінації  $R^2$ , модель враховує 55,2 % факторів, що визначають зміну показника «MMSE».

Була розроблена прогностична модель для визначення ймовірності когнітивних порушень, залежно від показника «VDR», показника NMDA, показника «Рівень GRIN2B», показника BDNF, показника «Наявність депресії за шкалою Гамільтона», показника «Наявність тривоги за шкалою Гамільтона» методом бінарної логістичної регресії. Залежність, що спостерігається, описується рівнянням:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100 \%$$

$$z = -7,162 + 0,365X_{AG} - 1,170X_{GG} + 0,310X_{CT} + 0,942X_{TT} + 1,843X_{GRIN2B} + 3,215X_{CT} + 3,079X_{TT} + 2,365X_{\text{Легкий депресивний розлад}} + 1,575X_{\text{Помірний депресивний розлад}} + 1,746X_{\text{Наявність тривоги за шкалою Гамільтона}},$$

де  $P$  – ймовірність когнітивних порушень,  $X_{AG}$  – VDR (0 – AA, 1 – AG),  $X_{GG}$  – VDR (0 – AA, 1 – GG),  $X_{CT}$  – (NMDA) (0 – CC, 1 – CT),  $X_{TT}$  – (NMDA) (0 – CC, 1 – TT),  $X_{\text{рівень GRIN2B}}$  – рівень GRIN2B),  $X_{CT}$  – BDNF (0 – CC, 1 – CT),  $X_{TT}$  – BDNF (0 – CC, 1 – TT),  $X_{\text{Легкий депресивний розлад}}$  – наявність депресії за шкалою Гамільтона (0 – норма, 1 – легкий депресивний розлад),  $X_{\text{Депресивний розлад середнього ступеня тяжкості}}$  – наявність депресії за шкалою Гамільтона (0 – норма, 1 – депресивний розлад середнього ступеня тяжкості),  $X_{\text{Наявність тривоги}}$  – наявність тривоги за шкалою Гамільтона.

Отримана регресійна модель є статистично значущою ( $p < 0,001$ ). Грунтуючись на значенні коефіцієнта детермінації Найджелкірка, модель пояснює 77,1 % дисперсії, що спостерігається при когнітивних порушеннях.

При оцінці комплексної моделі на основі значень коефіцієнтів регресії була встановлена пряма залежність між індексом «Рівень GRIN2B» і когнітивними порушеннями (табл. 8.13). Таким чином, ймовірність когнітивних порушень збільшилася на 6,317 ( $p = 0,006$ ). При оцінці впливу генотипу *CT* гена *BDNF* (rs6265) також було виявлено збільшення ймовірності когнітивних порушень у 24,898 разів ( $p = 0,012$ ). Крім того, був встановлений прямий зв'язок між впливом генотипу *TT* гена *BDNF* (rs6265) і



збільшенням ймовірності когнітивних порушень у 21,734 раза ( $p=0,024$ ) (рис. 8.10).

Таблиця 8.13 – Характеристики зв'язку предикторів моделі з вірогідністю виникнення когнітивних порушень

Предиктор	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95 % ДІ	P	AOR; 95 % ДІ	P
VDR: AG	1,667; 0,647 – 4,297	0,290	1,440; 0,200 – 10,381	0,718
VDR: GG	0,689; 0,218 – 2,173	0,525	0,310; 0,033 – 2,936	0,308
(rs4880213): CT	0,596; 0,240 – 1,481	0,266	1,363; 0,120 – 15,456	0,802
(rs4880213): TT	1,619; 0,502 – 5,223	0,420	2,565; 0,131 – 49,999	0,534
Рівень GRIN2B	5,750; 2,790 – 11,858	<0,001	6,317; 1,696 – 23,524	0,006
rs6265 : CT	3,082; 1,146 – 8,290	0,026	24,898; 2,050 – 302,475	0,012
rs6265 : TT	3,524; 0,856 – 14,498	0,081	21,734; 1,499 – 315,135	0,024
Легкий депресивний розлад	0,818; 0,170 – 3,931	0,802	10,645; 0,326 – 347,930	0,184
Депресивний розлад середнього ступеня тяжкості	18,666; 5,403 – 64,522	<0,001	4,830; 0,245 – 95,393	0,301
Наявність тривоги за шкалою Гамільтона	15,596; 5,028 – 48,376	<0,001	5,734; 0,845 – 38,900	0,074

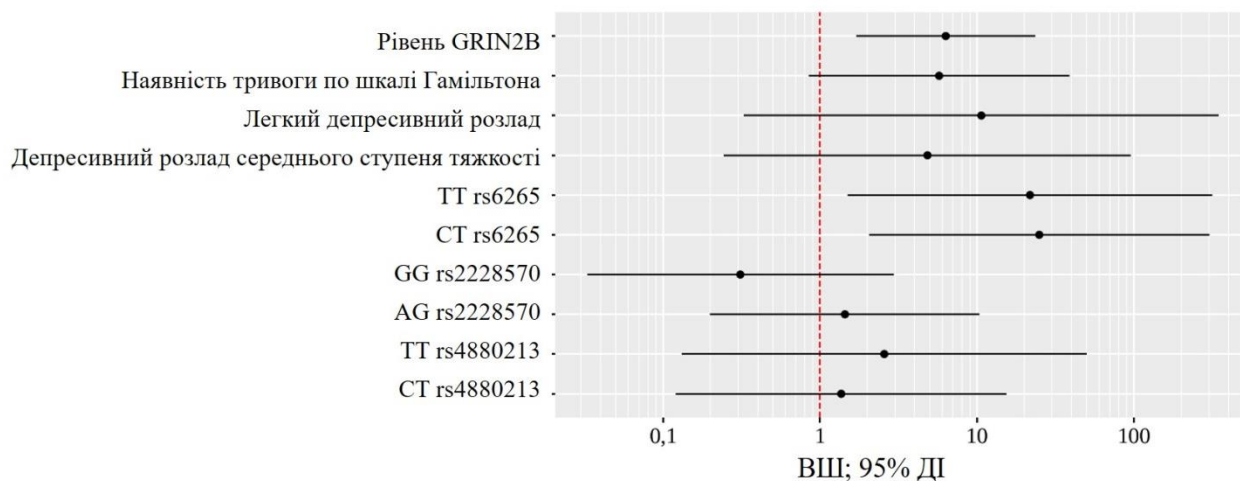


Рисунок 8.10 – Оцінка відношення шансів з 95 % ДІ для вивчення предикторів виникнення когнітивних порушень

При оцінці залежності ймовірності когнітивних порушень від значення логістичної функції  $P$  з використанням ROC-аналізу була отримана наступна крива (рис. 8.11).

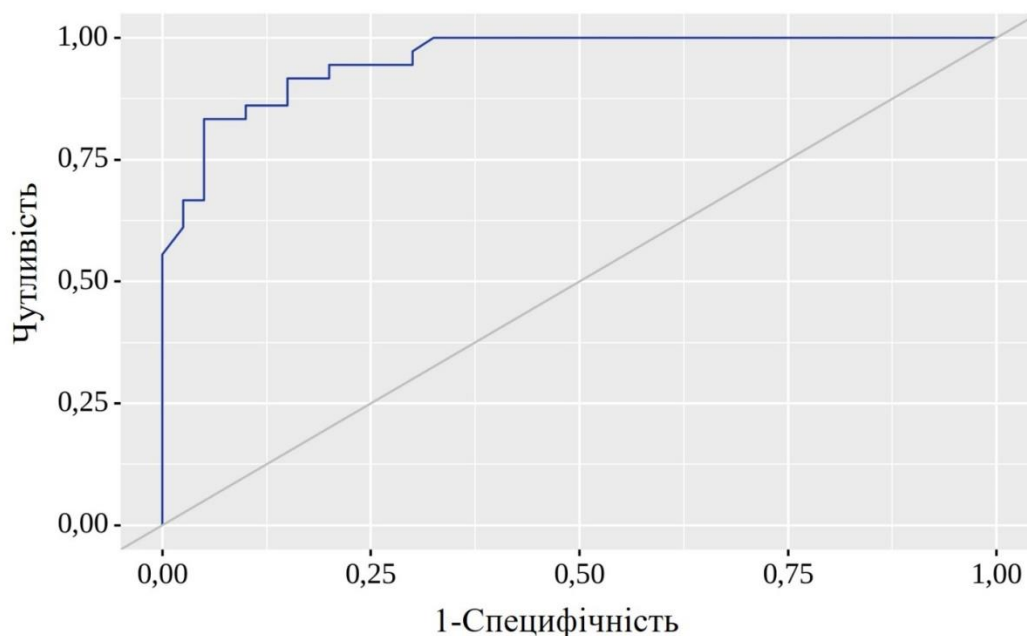


Рисунок 8.11 – ROC-крива, яка характеризує залежність вірогідності когнітивних порушень від значення логістичної функції  $P$

Площа під кривою ROC становить  $(0,956 \pm 0,025)$  при 95 % ДІ: 0,907 – 1,000. Отримана модель була статистично значущою ( $p < 0,001$ ) (рис. 8.12, табл. 8.14).

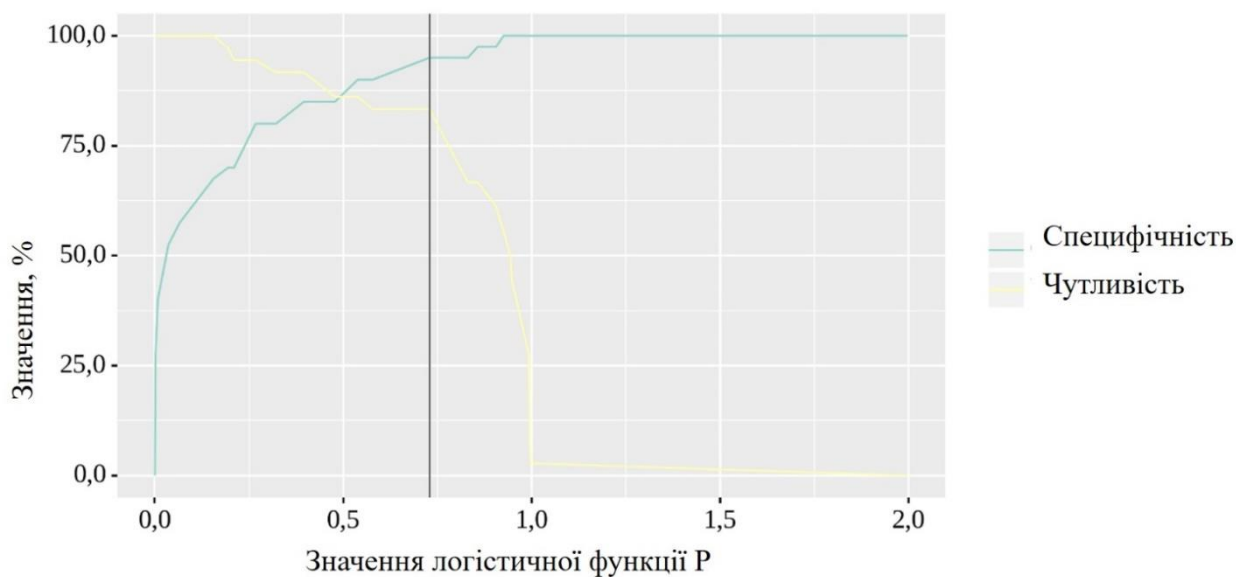


Рисунок 8.12 – Аналіз чутливості та специфічності моделі залежно від порогових значень логістичної функції P

Таблиця 8.14 – Порогові значення логістичної функції P

Поріг	Чутливість (Se), %	Специфічність (Sp), %
1	2	3
0,944	50,0	100,0
0,926	55,6	100,0
0,906	61,1	97,5
0,858	66,7	97,5
0,831	66,7	95,0
<b>0,729</b>	<b>83,3</b>	<b>95,0</b>
0,578	83,3	90,0
0,539	86,1	90,0
0,478	86,1	85,0

Продовження 8.14

1	2	3
0,396	91,7	85,0
0,322	91,7	80,0
0,268	94,4	80,0
0,210	94,4	70,0
0,195	97,2	70,0
0,156	100,0	67,5
0,066	100,0	57,5
0,037	100,0	52,5

Порогове значення логістичної функції  $P$  у точці відсікання, яке відповідало найвищому значенню індексу Юдена, становило 0,729. Поява когнітивних порушень була передбачена, коли значення логістичної функції  $P$  було вище або дорівнювало цьому значенню. Чутливість і специфічність моделі становлять 83,3 і 95,0 % відповідно.

#### Висновки

1. Когнітивні порушення у хворих на патологію ЦЗ асоціюють із SNP поліморфізмом (rs6265) гена *BDNF*: у носіїв *T*-алеля когнітивна функція порушується частіше загалом на 51,69 % і глибше за даними MMSE тесту (помірні переддементні зміни трапляються частіше на 38,28 %, деменція легкого ступеня – на 13,44 %), ніж у таких із *CC*-генотипом (64,91 % проти 13,22 %,  $\chi^2=49,51$ ;  $p<0,001$ ). Частота і ступінь когнітивних девіацій не залежать від алельного стану генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).

2. Клінічний перебіг патології ЦЗ за гіпотиреозу (післяопераційного, чи автоімунного) супроводжується гіршими/нижчими показниками когнітивної функції, ніж у хворих із АІТ без гіпотиреозу, особливо в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), на 5,60-19,23 % ( $p<0,05$ ). Ризик когнітивних порушень за гіпотиреозу зростає в 7,26 раза (95 % ДІ: 3,447-15,294;  $p<0,001$ ).

3. Прогностичними предикторами появи когнітивної дисфункції заданими ROC-аналізу є наступні серологічні маркери: вміст у крові BDNF (Se-83,3 %, Sp-80 %; площа під кривою ROC (AUC):  $0,864 \pm 0,042$ ; 95 % ДІ: 0,781-0,947;  $p < 0,001$ ), ТТГ (Se-80,4 %, Sp-67,6 %; AUC:  $0,726 \pm 0,045$ ; 95 % ДІ: 0,637-0,814;  $p < 0,001$ ), вільного Т4 (Se-86,3 %, Sp-59,5 %; AUC:  $0,713 \pm 0,041$ ; 95 % ДІ: 0,632-0,793;  $p < 0,001$ ) та 25(OH)D (Se-54,7 %, Sp-60,8 %; AUC:  $0,622 \pm 0,044$ ; 95 % ДІ: 0,536-0,709;  $p = 0,01$ ).

4. Тяжкість когнітивних порушень у хворих на патологію ЩЗ зворотно помірно корелює з концентрацією в крові GRIN2B, ТТГ і, дещо слабше, з АТПО та АТТГ ( $r = -0,455$ – $-0,166$ ;  $p \leq 0,035$ – $0,001$ ), прямо сильно залежить від рівнів BDNF ( $r = 0,714$ ;  $p < 0,001$ ), помірно і слабо – від вмісту вільного Т4 та 25(OH)D ( $r = 0,428$  і  $r = 0,275$ ;  $p < 0,001$ ), відповідно.

5. У моделі множинної логістичної лінійної регресії підтверджується додатково прогностичний вплив сироваткових концентрацій BDNF, ТТГ і АТТГ на появу когнітивної дисфункції у хворих на патологію ЩЗ із коефіцієнтом детермінації Найджелкерка  $R^2 = 77,1$  % ( $p < 0,001$ ):

$$Y_{MMSE} = 28,507 + 0,002 \times X_{BDNF} - 0,269 \times X_{TTG} - 0,076 \times X_{ATTG}.$$

6. Багатофакторний регресійний аналіз підтвердив збільшення шансів на когнітивні розлади в обстежених за зростання вмісту GRIN2B у крові та наявності у хворих *CT*-, чи *TT*-генотипу гена *BDNF* (rs6265) – у 6,32 раза [95 % ДІ: 1,696-23,524;  $p = 0,006$ ], 24,9 [95 % ДІ: 2,05-302,475;  $p = 0,012$ ] і 21,73 раза [95 % ДІ: 1,499-315,135;  $p = 0,024$ ] відповідно.

Наведені в розділі результати опубліковано в таких працях [257, 258, 262].

## РОЗДІЛ 9

### РОЛЬ ВІТАМІНУ D У ЛІКУВАННІ ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА АВТОІМУННИЙ ТИРЕОЇДИТ І ГІПОТИРЕОЗ

Депресивні стани, пов'язані з дисфункцією ЩЗ, як правило, принаймні частково стійкі до лікування антидепресантами, причому ключовим тут є причинно-наслідкове лікування. Тиреоїдні гормони також зазвичай рекомендуються як допоміжна терапія при лікуванні депресії в алгоритмах лікування [35]. Взаємозалежність розладів ЩЗ та депресії, а також їх співіснування мають велике клінічне значення, але знання про це дуже обмежені [291]. Клінічні дослідження демонструють сильний взаємозв'язок між рівнями вітаміну D у сироватці крові та когнітивними порушеннями у пацієнтів із ТХ [527]. Дослідження типу «випадок-контроль» продемонструвало зниження рівня вітаміну D у пацієнтів із ТХ [342]. Як свідчать дані деяких досліджень, прийом вітаміну D протягом п'яти років зменшив автоімунні захворювання на 22 % [205]. Крім того, в дослідженнях розглядається потенційна роль вітаміну D у менеджменті тривоги та депресії [80].

Наступним етапом нашої роботи було дослідження впливу холекальциферолу на гуморальні маркери нейротрансмісії, гормональну активність щитоподібної залози, когнітивні функції, депресію та тривожність у хворих на АІТ із гіпотиреозом.

Для оцінки впливу холекальциферолу 56 хворих на АІТ з гіпотиреозом були розділені на дві групи. Перша група пацієнтів (n=28) отримувала холекальциферол у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) і L-тироксин (75-100 мкг/добу). Друга група пацієнтів (n=28) приймала лише L-тироксин (75-100 мкг/добу). Обстеження проводили на початку та в кінці 12-тижневого періоду лікування.

## 9.1 Вплив холекальциферолу на гормональну активність щитоподібної залози у хворих на аутоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом

Проаналізували рівні ТТГ і вТ4 до і після лікування холекальциферолом (рис. 9.1, 9.2).

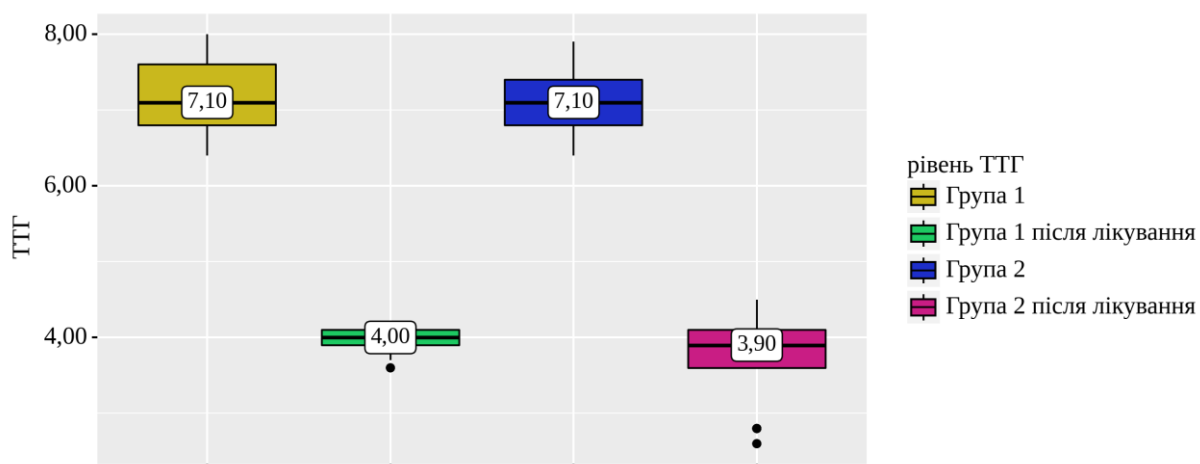


Рисунок 9.1 – Аналіз рівня тиреотропного гормону до та після лікування

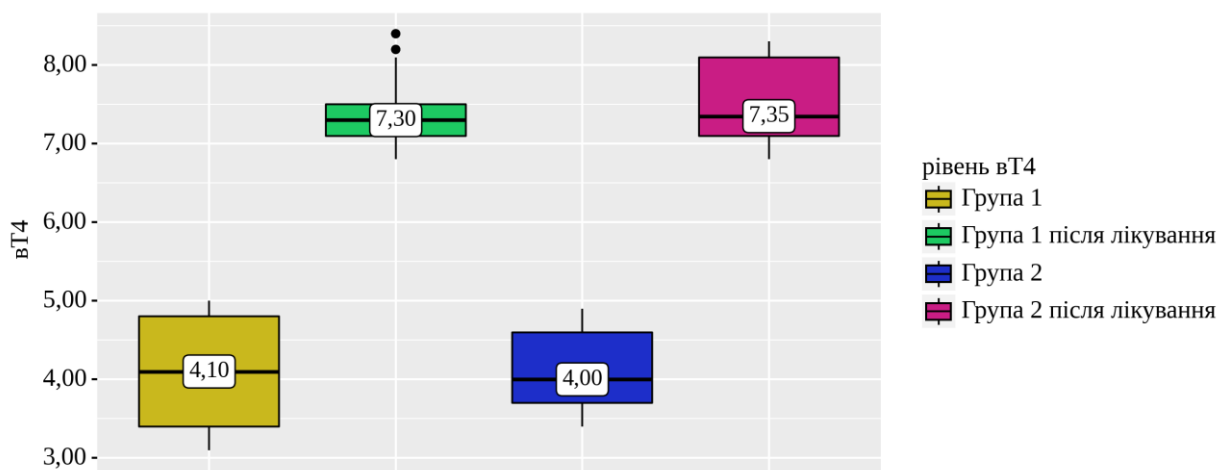


Рисунок 9.2 – Аналіз рівня тироксину до та після лікування

При порівнянні рівня ТТГ було виявлено статистично значуще зниження рівня ТТГ ( $p < 0,05$ ) в обох групах пацієнтів після проведеної терапії. Так, рівень ТТГ знизився в групі 1 в 1,78 раза ( $p < 0,05$ ) та в 1,82 раза в групі 2 ( $p < 0,05$ ) після проведеного лікування (рис. 9.1).

Крім того, згідно рисунку 9.2, після проведеного лікування відмічалось збільшення та нормалізація рівня вТ4 у групі 1 та в групі 2 ( $p < 0,05$ ).

Проаналізували рівні АТПО та АТТГ до і після лікування (рис. 9.3, 9.4). У нашому дослідженні після лікування спостерігалось зниження рівня АТПО у пацієнтів, які приймали холекальциферол і L-тироксин, на 31,25 % ( $p < 0,05$ ), тоді як у пацієнтів 2 групи, які отримували тільки L-тироксин, рівень АТПО знизився лише на 14,1 % ( $p < 0,05$ ).

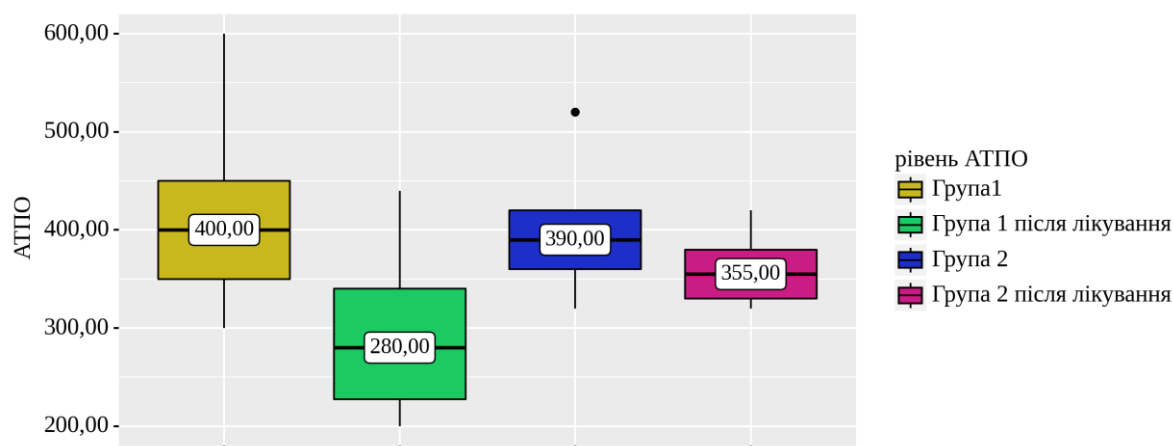


Рисунок 9.3 – Аналіз рівнів антитіл до тиреопероксидази до і після лікування

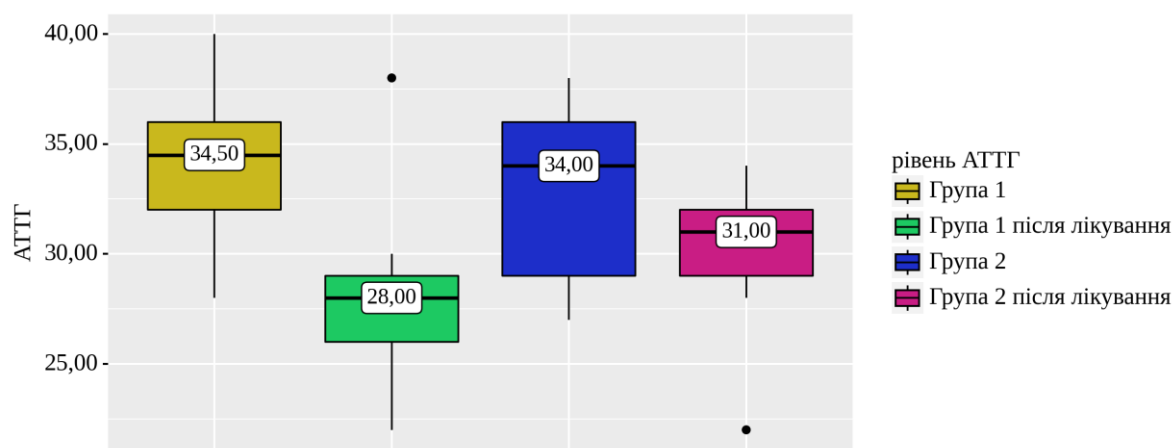


Рисунок 9.4 – Аналіз рівнів антитіл до тиреоглобуліну до і після лікування

За даними, отриманими при порівнянні АТТГ після лікування, спостерігалось ймовірне зниження рівня АТТГ у пацієнтів, які отримували холекальциферол і L-тироксин, на 18,84 % ( $p < 0,05$ ), тоді як у пацієнтів



2 групи, які отримували тільки L-тироксин, рівні АТТГ знизилися лише на 8,82 % ( $p>0,05$ ) (рис. 9.4).

Також у нашій роботі визначали рівень 25(OH)D до і після лікування (рис. 9.5).

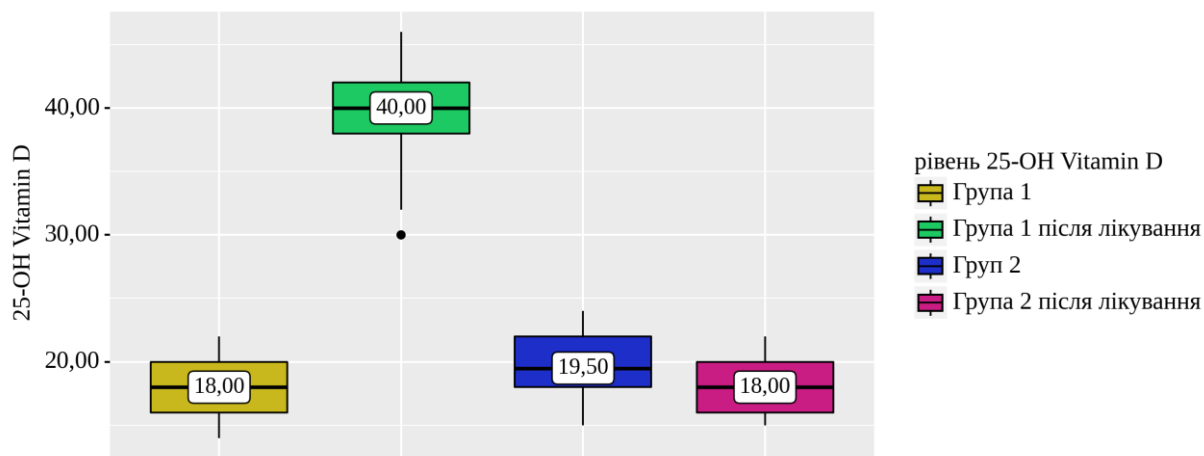


Рисунок 9.5 – Аналіз рівнів 25-гідроксिवітаміну D до і після лікування

Після лікування в пацієнтів 1 групи відбулося збільшення рівня 25(OH)D в 2,22 раза ( $p<0,001$ ), тоді як у пацієнтів 2 групи рівень 25(OH)D знизився.

При порівнянні рівня BDNF до лікування в пацієнтів першої та другої групи не виявлено статистично значущих відмінностей ( $p>0,05$ ) (рис. 9.5).

Після лікування в пацієнтів, які отримували холекальциферол та L-тироксин, відзначали вірогідне збільшення рівня BDNF у 7,4 раза ( $p<0,001$ ). У групі хворих, які приймали тільки L-тироксин, вміст BDNF у сироватці крові виріс у 2,1 раза ( $p<0,05$ ).

При порівнянні рівня BDNF після лікування між пацієнтів досліджуваних груп були виявлені статистично значущі відмінності ( $p<0,05$ ) (табл. 9.1). Так, рівень BDNF у сироватці крові після одночасного призначення холекальциферолу та L-тироксину виявився вищим у 2,48 раза, порівняно з пацієнтами, які приймали тільки L-тироксин. Тобто лікування з

додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину виявилось ефективнішим, ніж терапія тільки L-тироксином ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 9.1 – Рівень мозкового нейротрофічного фактора в пацієнтів до та після лікування

Категорія	Рівень BDNF (pg/ml)		
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	P
Група 1 до лікування	209,19	201,51 – 413,04	P1>0,05
Група 2 до лікування	295,99	225,71 – 449,75	P2<0,001
Група 1 після лікування	1538,29	1332,68 – 1651,04	P3<0,05
Група 2 після лікування	620,95	536,67 – 678,04	P4<0,05

Примітка. P1 – р-значення між групою 1 та групою 2 до лікування; P2 – р-значення між групою 1 до лікування та групою 1 після лікування; P3 – р-значення між групою 2 до лікування та групою 2 після лікування; P4 – р-значення між групою 1 та групою 2 після лікування.

9.2 Вплив холекальциферолу на експресію генів нейротрофінів та їх рецепторів, нейропептидів, транскрипційних факторів, цитокінів та генів-регуляторів апоптозу в крові хворих на гіпотиреоз з АІТ

Результати аналізу експресії генів, орієнтованих на нейротрофіни і шляхи рецепторів, у пацієнтів з первинним гіпотиреозом у результаті АІТ після лікування холекальциферолом і L-тироксином наведені в таблиці 9.2. У ній показані ті фактори транскрипції і гени, які орієнтовані на шлях регуляторів, експресія яких вірогідно змінилася.

Ми виявили зміни в експресії генів цитокінів і їх рецепторів, у пацієнтів з АІТ з Г після лікування холекальциферолом і L-тироксином. Аналіз експресії генів показав, що експресія *IL10* збільшилася в 29,78 рази,  $p=0,000032$ , тоді як експресія *IL1B* знизилася (в 6,85 рази,  $p=0,006074$ ) (рис. 9.6).

Таблиця 9.2 – Гени, експресія яких змінилася після додавання вітаміну D до стандартної терапії

Номер в Unigene	Номер в Refseq	Символ	Назва гена	Кратність регуляції, к.р. (Fold Regulation)	p-value
1	2	3	4	5	6
Hs.502182	NM_001709	<i>BDNF</i>	Brain-derived neurotrophic factor	24,02	0,016160
Hs.667309	NM_000043	<i>FAS</i>	Fas (TNF receptor superfamily, member 6)	12,78	0,011407
Hs.284244	NM_002006	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor receptor substrate 2	11,39	0,000004
Hs.520973	NM_001540	<i>HSPB1</i>	Heat shock 27kDa protein 1	16,91	0,004734
Hs.193717	NM_000572	<i>IL10</i>	Interleukin 10	29,78	0,000032
Hs.2561	NM_002506	<i>NGF</i>	Nerve growth factor (beta polypeptide)	7,57	0,002776
Hs.415768	NM_002507	<i>NGFR</i>	Nerve growth factor receptor	9,47	0,001834
Hs.453951	NM_013957	<i>NRG1</i>	Neuregulin 1	3,68	0,008191
Hs.99171	NM_002527	<i>NTF3</i>	Neurotrophin 3	5,42	0,024310
Hs.266902	NM_006179	<i>NTF4</i>	Neurotrophin 4	3,93	0,039421
Hs.645227	NM_000660	<i>TGFB1</i>	Transforming growth factor, beta 1	37,96	0,000039
Hs.437460	NM_000546	<i>TP53</i>	Tumor protein p53	16,83	0,000011
Hs.624291	NM_004324	<i>BAX</i>	BCL2-associated X protein	-35,85	0,002270

Продовження таблиці 9.2

1	2	3	4	5	6
Hs.472860	NM_001250	<i>CD40</i>	CD40 molecule, TNF receptor superfamily member 5	-9,34	0,021128
Hs.25647	NM_005252	<i>FOS</i>	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	-5,17	0,015483
Hs.248114	NM_000514	<i>GDNF</i>	Glial cell derived neurotrophic factor	-11,96	0,000029
Hs.388347	NM_005264	<i>GFRA1</i>	GDNF family receptor alpha 1	-4,43	0,000297
Hs.126256	NM_000576	<i>IL1B</i>	Interleukin 1, beta	-6,85	0,006074
Hs.463059	NM_003150	<i>STAT3</i>	Signal transducer and activator of transcription 3 (acute-phase response factor)	-11,72	0,003227

Примітка 1. Номер в Unigene і номер в Refseq – ідентифікатори досліджуваних генів відповідно в базах даних транскриптомів і нуклеотидних послідовностей NCBI (National Center for Biotechnology Information); NM – мРНК у базі Refseq (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq>); дані представлені у вигляді Fold-Regulation – кратність регуляції – демонструє біологічний результат кратності змін експресії (Fold-Change). Значення кратної зміни більше 1 вказує на позитивну або підвищену регуляцію, а кратна регуляція дорівнює кратній зміні. Значення кратної зміни, меншої за 1, вказує на негативну або знижену регуляцію, а кратна регуляція є негативною, зворотною кратній зміні; Fold-Change ( $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ) – кратність змін експресії гена – нормалізована експресія гена ( $2^{(-\Delta CT)}$ ) у тестовому зразку, розділена на нормалізовану експресію гена ( $2^{(-\Delta CT)}$ ) у контрольному зразку; к.р. – кількість разів.

Примітка 2. Значення p розраховуються на основі t-критерію Стьюдента для повторних значень  $2^{(-\Delta CT)}$  для кожного гена в контрольній групі (стандартна терапія) та тестових групах (стандартна терапія + вітамін D).

Як показано в таблиці 9.2, експресія факторів транскрипції і генів-регуляторів після лікування холекальциферолом і L-тироксинам також змінилася: експресія *FOS* (в 5,17 разів,  $p=0,015483$ ) та *STAT3* (в 11,72 разів,  $p=0,003227$ ) зменшилася.

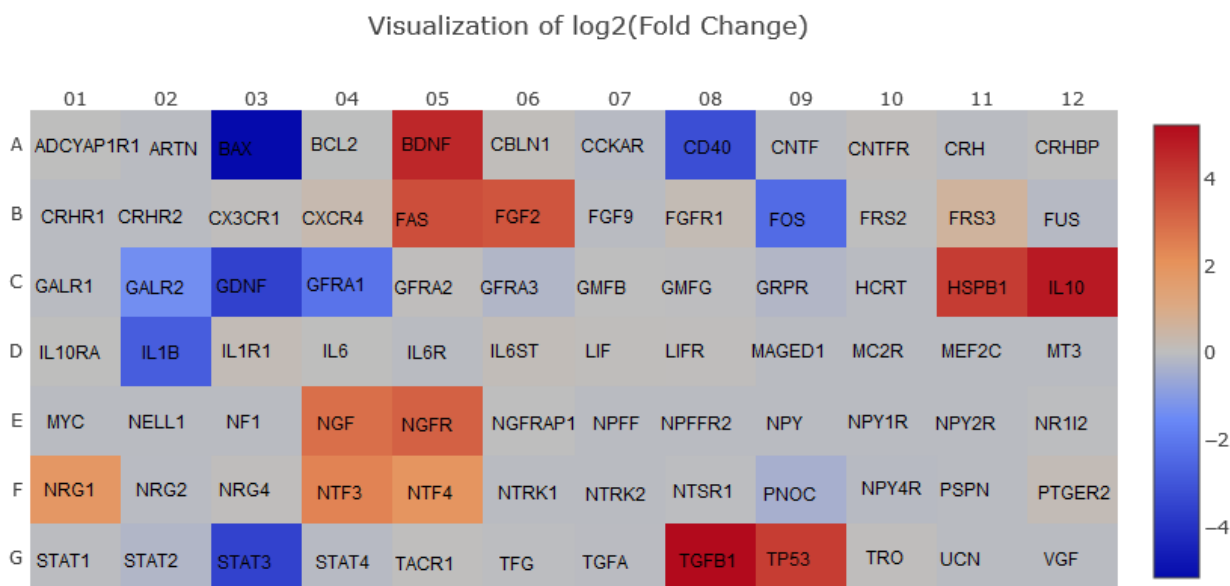


Рисунок 9.6 – Візуалізація графіка теплової карти змін експресії генів (log<sub>2</sub>, кількість разів) у хворих (АІТ з Г + вітамін D, порівняно з контрольною групою); Fold-Change ( $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ) – кратність змін експресії гена – нормалізована експресія гена ( $2^{(-\Delta CT)}$ ) у тестовому зразку, розділена на нормалізовану експресію гена ( $2^{(-\Delta CT)}$ ) у контрольному зразку; червоний колір – збільшення рівня відносної нормалізованої експресії, синій – зменшення.

Аналіз експресії генів показав, що експресія *NGF* і *NGFR* збільшилася в 7,57 ( $p=0,002776$ ) і в 9,47 ( $p=0,001834$ ) рази відповідно (рис. 9.6). Навпаки, експресія *GFRA1* знизилася в 4,43 рази ( $p=0,000297$ ) (табл. 9.2). Значно збільшилися також рівні мРНК *NTF3* (в 5,42 рази,  $p=0,024310$ ) і *NTF4* (в 3,93 рази,  $p=0,039421$ ). Вірогідно збільшився рівень мРНК *NRG1* (в 3,68 рази,  $p=0,008191$ ) (рис. 9.7).

Результати аналізу експресії генів, орієнтованих на шляхи нейрогенезу, показали, що в пацієнтів з первинним гіпотиреозом і АІТ після лікування холекальциферолом і L-тироксином експресія *BDNF* і *FGF2* збільшилася в 24,02 ( $p=0,016160$ ) і 11,39 ( $p=0,000004$ ) рази відповідно, тоді як знизилася експресія *GDNF* (в 11,96 рази,  $p=0,000029$ ) (рис. 9.6).

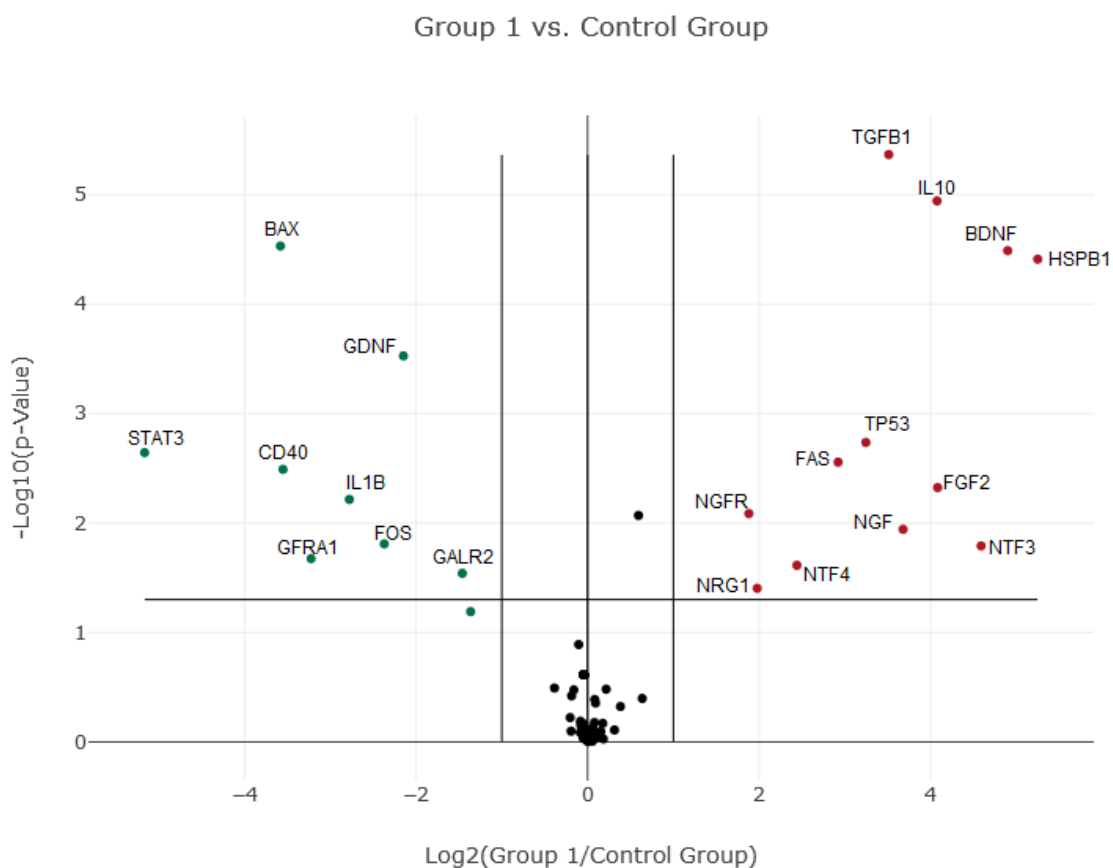


Рисунок 9.7 – Діаграма Volcano демонструє зміни експресії генів шляхом накладання  $\log_2$  кратних змін експресії генів на осі X проти їх статистичної значущості на осі Y. Центральна вертикальна лінія вказує на незмінену експресію генів, тоді як дві зовнішні вертикальні лінії вказують на обраний поріг регуляції експресії. Горизонтальна лінія вказує на вибране порогове значення p-value. Гени з точками даних у крайньому верхньому лівому куті (знижена регуляція, зелений колір) і крайньому правому верхньому куті (підвищена регуляція, червоний колір) відповідають вибраним кратним регуляціям і пороговим значенням p. Група 1 (X з АІТ + вітамін D) порівняно з контрольною групою

Результати аналізу експресії генів, орієнтованих на шляхи апоптозу і клітинного циклу, показали, що в пацієнтів з первинним гіпотиреозом в результаті АІТ після лікування холекальциферолом і L-тироксином серед антиапоптотичних генів експресія *HSPB1* підвищилася в 16,91 раза ( $p=0,004734$ ) (див. табл. 9.2). Експресія проапоптотичних генів, таких як *BAX*,

знизилася в 35,85 разів ( $p=0,002270$ ), а експресія *TP53* – в 16,83 разів ( $p=0,000011$ ) та *FAS* збільшилася в 12,78 разів ( $p=0,011407$ ) (рис. 9.6). Водночас, експресія *CD40* знизилася в 9,34 разів ( $p=0,021128$ ), тоді як експресія *TGFBI* підвищилася в 37,96 разів ( $p=0,000039$ ).

### 9.3 Вплив холекальциферолу на когнітивні функції, депресію та тривожність хворих на аутоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом

Наступним етапом нашої роботи було вивчення впливу холекальциферолу на когнітивні функції за даними MMSE тесту (рис. 9.8). Згідно з дослідженням, засвідчено статистично значуще покращення когнітивних функцій за даними тесту MMSE у групі пацієнтів, які приймали холекальциферол і L-тироксин, порівняно з пацієнтами, які отримували лише L-тироксин ( $p<0,05$ ).

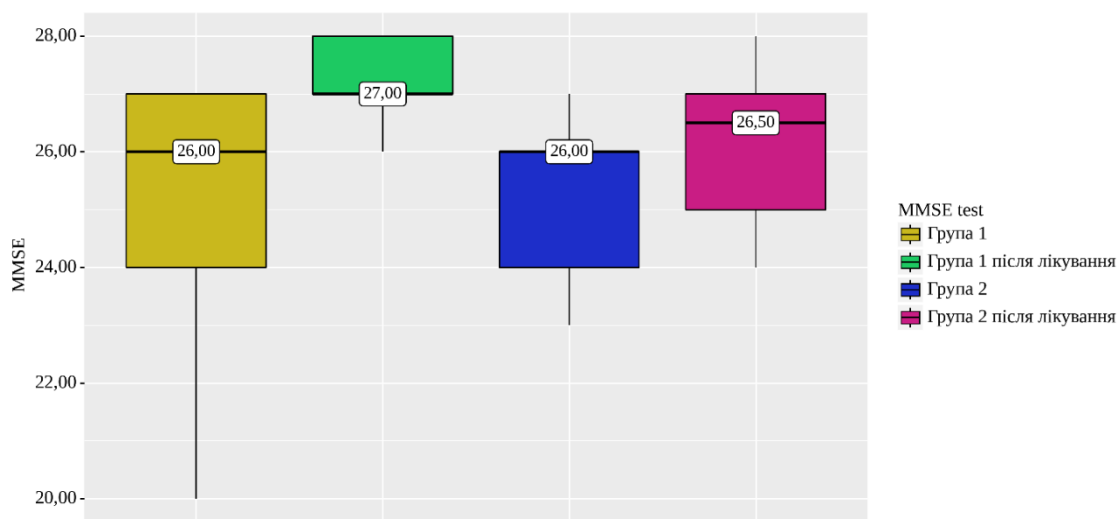


Рисунок 9.8 – Аналіз даних MMSE тесту до та після лікування

Після курсу лікування в пацієнтів спостерігалось покращення когнітивних функцій. Так, за даними тесту MMSE, в пацієнтів з легким ступенем деменції когнітивні показники покращилися до помірних (переддементних) порушень. У пацієнтів 1 групи, які отримували

холекальциферол і L-тироксин, після лікування відсоток хворих з помірними (переддементними) когнітивними порушеннями знизився з 50 до 21,4 %. У той же час, у групі пацієнтів, які приймали тільки L-тироксин, статистично значущих змін не було. Нормалізація когнітивних функцій за тестом MMSE зросла з 28,6 до 78,6 % у першій групі та з 21,4 до 50,0 % у хворих 2 групи (рис. 9.9). Таким чином, лікування холекальциферолом було статистично ефективнішим, ніж лікування тільки L-тироксином.

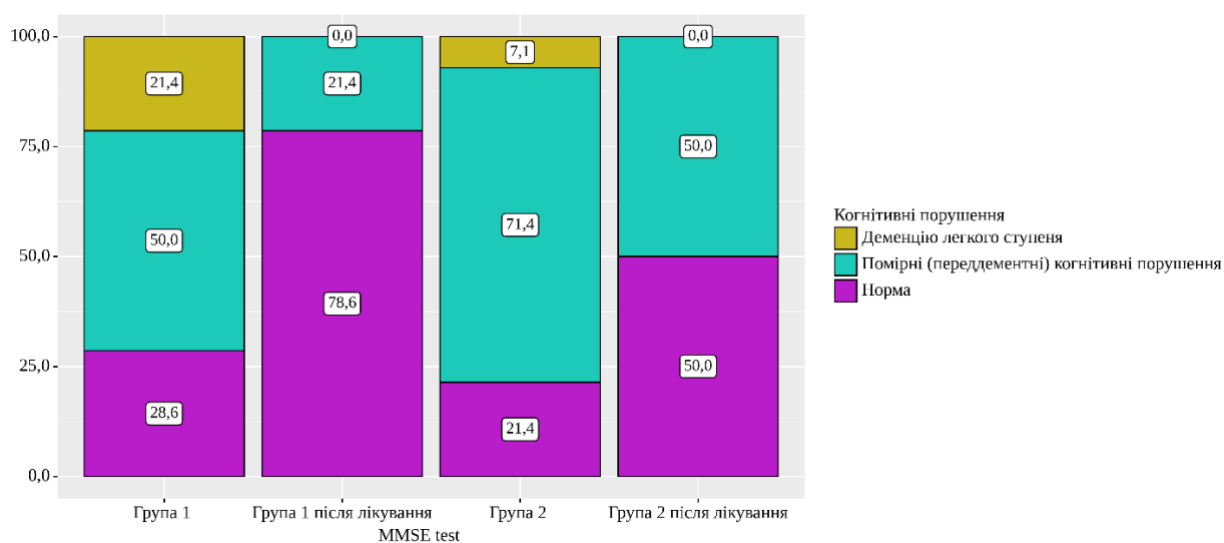


Рисунок 9.9 – Аналіз когнітивних порушень на основі тесту MMSE

Проаналізували впливу холекальциферолу на депресію за шкалою Гамільтона у групах хворих до та після лікування (рис. 9.10).

Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих 1 групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Крім того, спостерігалася достовірна різниця між пацієнтами 1 та 2 груп після лікування ( $p=0,003$ ). Тобто лікування додатковим холекальциферолом на фоні L-тироксину було більш ефективним, ніж лікування одним L-тироксином.



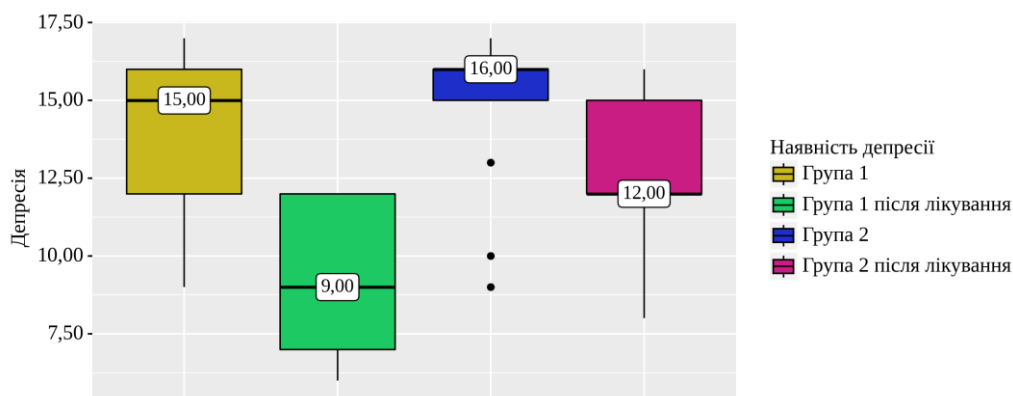


Рисунок 9.10 – Аналіз рівня депресії за шкалою Гамільтона до та після лікування

Аналізуючи ефективність лікування хворих 1 групи з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину в 21,4 % пацієнтів зникла депресія (рис. 9.11). Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу. При цьому після лікування тільки L-тироксином депресивний розлад середнього ступеня тяжкості знизився з 78,6 до 35,7 % до легкого депресивного розладу, але повного зникнення депресії в цієї групи пацієнтів після лікування не було.

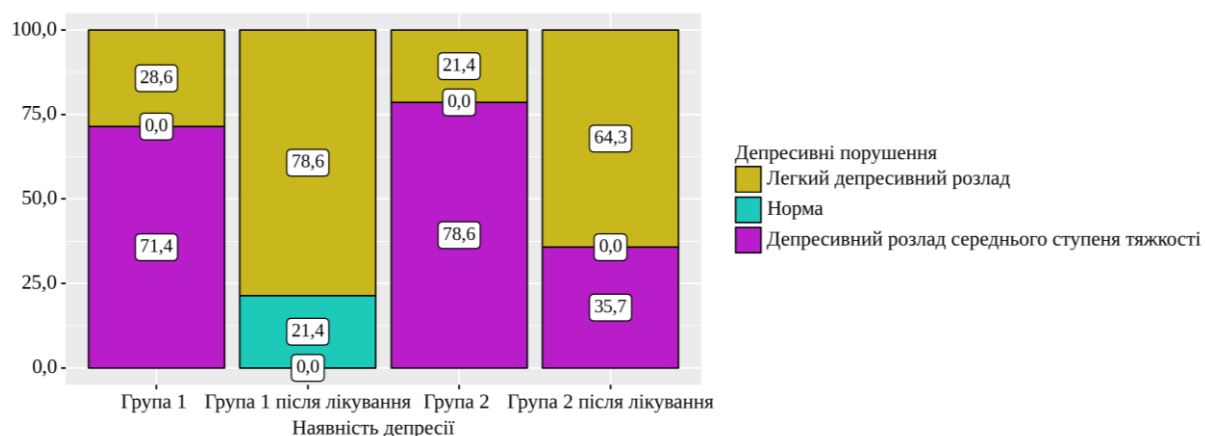


Рисунок 9.11 – Аналіз депресивних розладів за шкалою Гамільтона під впливом лікування

Провели аналіз впливу холекальциферолу на депресію за шкалою Гамільтона в групах хворих до та після лікування (рис. 9.12).

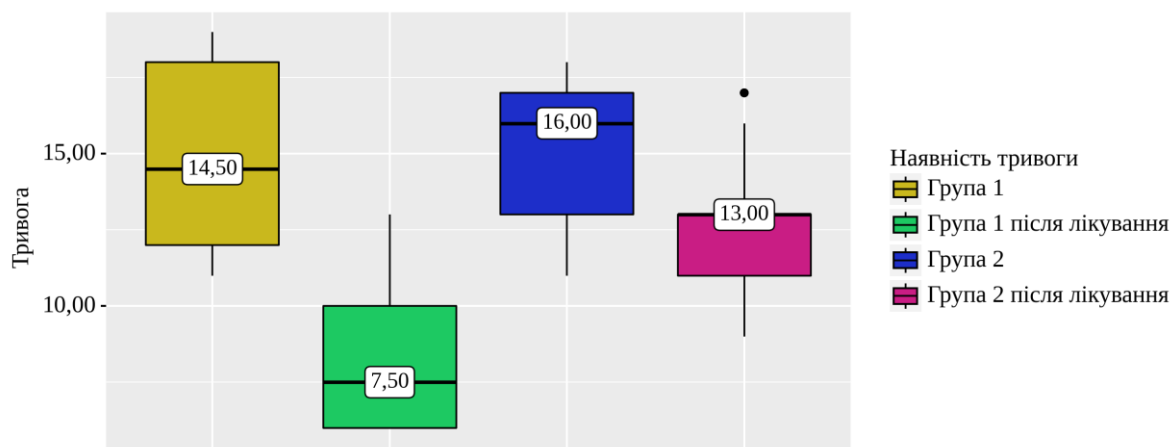


Рисунок 9.12 – Аналіз тривожних розладів за шкалою Гамільтона під впливом лікування

При оцінці рівня тривожності за шкалою Гамільтона після лікування у хворих 1 групи, які отримували холекальциферол з L-тироксином, відзначено статистично достовірне зниження тривожності на 48,27 %, тоді як після лікування лише L-тироксином тривожність знизилася на 18,25 %. Таким чином, додаткове призначення холекальциферолу вірогідно знижувало рівень тривоги, порівняно з лікуванням лише L-тироксином ( $p < 0,001$ ).

У пацієнтів 1 групи після лікування спостерігалось статистично значуще зниження рівня тривожності за шкалою Гамільтона. Так, у пацієнтів 1 групи після лікування не спостерігалось жодних симптомів помірної тривоги. Тривожність зникла в 42,9 % пацієнтів 1 групи, тоді як тривожні розлади залишилися у 57,1 % ( $p < 0,001$ ). При цьому в 21,4 % пацієнтів 2 групи була тривога і в 78,6 % – тривожні розлади (рис. 9.13). Таким чином, спостерігалось статистично значуще зниження тривоги за шкалою Гамільтона в пацієнтів групи 1 порівняно з пацієнтами групи 2 після лікування.

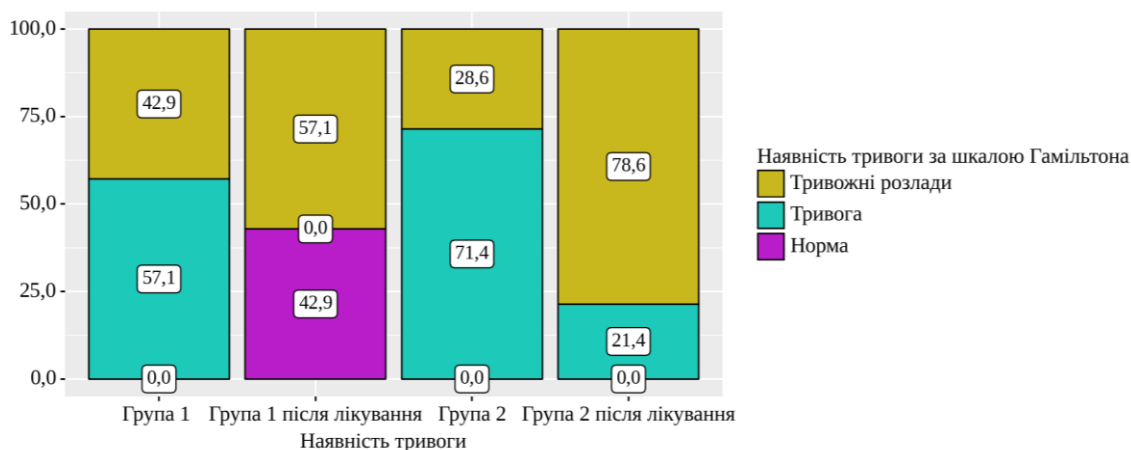


Рисунок 9.13 – Аналіз тривожних розладів за шкалою Гамільтона під впливом лікування

### Висновки

1. Після лікування в пацієнтів, які отримували холекальциферол та L-тироксин, відзначалось вірогідне збільшення рівня BDNF в 7,4 раза ( $p < 0,001$ ). У групі хворих, які приймали тільки L-тироксин, вміст BDNF у сироватці крові виріс у 2,1 раза ( $p = 0,045$ ).

2. Результати показали, що в пацієнтів з первинним гіпотиреозом внаслідок АІТ експресія генів *BDNF*, *FAS*, *FGF2*, *HSPB1*, *IL10*, *NGF*, *NGFR*, *NRG1*, *NTF3*, *NTF4*, *TGFB1* і *TP53* підвищилась після лікування холекальциферолом і L-тироксином у пацієнтів з АІТ з Г. Рівні мРНК *BAX*, *GDNF*, *CD40*, *FOS*, *GDNF*, *GFRA1*, *IL1B* і *STAT3* знизились після лікування холекальциферолом і L-тироксином, порівняно з пацієнтами, які отримували тільки L-тироксин. Отже, додавання вітаміну D до стандартної терапії змінює транскрипційний профіль клітин крові в пацієнтів з первинним гіпотиреозом.

3. У хворих, які отримували холекальциферол і L-тироксин після лікування, відсоток хворих з помірними (переддементними) когнітивними порушеннями знизився з 50 до 21,4 %. Нормалізація когнітивних функцій за тестом MMSE зростає з 28,6 до 78,6 % у першій групі та з 21,4 до 50 % у хворих 2 групи.

4. У хворих 1 групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Крім того, спостерігалася достовірна різниця між пацієнтами 1 та 2 груп після лікування ( $p=0,003$ ).

5. У пацієнтів, які отримували холекальциферол і L-тироксин, після лікування тривожність зникла в 42,9 % пацієнтів 1 групи, тоді як тривожні розлади залишилися в 57,1 % ( $p<0,001$ ).

Наведені в розділі результати опубліковано в наукових працях автора [245, 250, 264, 265, 266].

## РОЗДІЛ 10

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На сьогодні зростання кількості захворювань ЩЗ є серйозною медичною і соціальною проблемою для суспільства та хворих, а проблеми інформативної діагностики, прогнозування та ефективного лікування вказаної патології не перестають хвилювати широке коло науковців і практичних лікарів. З огляду на те, що вплив гормонів ЩЗ на мозок є незаперечним, а їх нестача призводить до різних неврологічних ускладнень, рання діагностика ураження нервової системи при захворюваннях ЩЗ має вирішальне значення для профілактики та лікування психоневрологічних ускладнень. Саме тому проблема ранньої діагностики чинників ризику, в тому числі генетичних предикторів розвитку психоневрологічних порушень при захворюваннях ЩЗ, є надзвичайно актуальною.

На першому етапі нашого дослідження ми провели аналіз клінічної характеристики хворих на тиреоїдну патологію в Північно-Буковинському регіоні. Нами було з'ясовано, що у пацієнтів із патологією ЩЗ виявлено статистично значуще зниження рівня BDNF у сироватці крові: у 3,34 раза у хворих на ПОГ та в 5,15 раза в хворих на АІТ з гіпотиреозом ( $p < 0,001$ ). Сироватковий рівень GRIN2B у хворих на ПОГ був у 3,45 раза нижчим ( $p < 0,001$ ), а в хворих на АІТ з гіпотиреозом навпаки, підвищився в 1,58 раза ( $p < 0,001$ ). Крім того, нами було виявлено підвищення ТТГ і АТПО за гіпотиреозу та АТТГ незалежно від виду патології ЩЗ – у 2,85-13,4 раза відповідно ( $p < 0,001$ ) та зниження вмісту 25(OH)D – у 1,8-2,03 раза ( $p < 0,001$ ). Також ми встановили, що рівень BDNF крові прямо корелює з Т4 і АТТГ ( $r = 0,32-0,68$ ;  $p \leq 0,016-0,001$ ) та зворотно з ТТГ ( $r = -0,69$ ;  $p < 0,001$ ); також ми виявили пряму помірну кореляційну залежність між рівнями АТПО та АТТГ ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,001$ ), а ТТГ зворотно корелює з рівнем вільного Т4 крові ( $r = -0,96$ ;  $p < 0,001$ ).

Під час скринінгу на виявлення депресії за допомогою опитувальника здоров'я пацієнта PHQ-9 легка депресія була виявлена в 40,4 % пацієнтів з ПОГ, а помірна – у 54,3 %. Серед пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом легка депресія становила 31,1 %, а помірна депресія – 62,9 %. У групі хворих на АІТ легка депресія була виявлена в 39,6 %, а помірна – у 16,1 %. При використанні шкали GAD-7 для скринінгу рівня тривожності було виявлено, що 42,6 % пацієнтів з ПОГ мали помірну тривожність, а 57,4 % пацієнтів – середню. Серед пацієнтів з АІТ з гіпотиреозом 51,9 % мали помірну тривожність і 48,1 % мали середню тривожність. У групі пацієнтів з АІТ, помірну тривожність мали 84,9 % пацієнтів, середню – 3,8 % пацієнтів. У 11,3 % хворих на АІТ діагностовано легку тривожність.

Отримані нами результати підтверджуються низкою інших робіт [353]. Дослідження, в якому взяли участь 13 000 осіб [279], виявило кореляцію між підвищеним рівнем ТТГ і депресією. Зокрема, частота депресії була в два рази вища в жінок з рівнем ТТГ вище 2,3 мМО/мл. Цікаво, що це поточне дослідження демонструє позитивну кореляцію та статистичну значущість між рівнями Т4 й ТТГ та симптомами депресії.

Цей результат аналогічний великому дослідженню, в якому взяли участь понад 1 000 жінок із захворюваннями ЩЗ, які приймали тироксин [392]. Зазначене дослідження показало, що вищі рівні ТТГ були пов'язані з більшими депресією та тривогою. У двох інших дослідженнях повідомляється про відсутність зв'язку між рівнем ТТГ і симптомами депресії в пацієнтів з різними типами захворювань ЩЗ [174].

Крім того, інше дослідження показало, що нелікований гіпотиреоз корелює зі збільшенням показника за шкалою депресії Бека [227].

При оцінці когнітивних функцій за допомогою тесту MMSE, 36,2 % пацієнтів з ПОГ мали помірні (переддементні) когнітивні порушення, а 14,9 % мали легку деменцію. 34,1 % пацієнтів з АІТ з гіпотиреозним мали помірні (переддементні) когнітивні порушення, а 15,5 % мали легку

деменцію. У групі хворих на АІТ 14,2 % мали помірні когнітивні порушення (переддементні).

Під час дослідження поліморфізмів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів з захворюваннями ЩЗ мешканців Північної Буковини встановили, що мутації генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у гомозиготному стані зустрічаються із частотою 6,54 %, 19,61 % та 21,57 % відповідно, що не відрізняється статистично значуще від групи контролю. У всіх обстежених групах переважають дикі алелі аналізованих генів: *C*-алель гена *BDNF* (rs6265) ( $P_C=0,81$  проти  $P_T=0,19$ ,  $p<0,001$ ), *A*-алель гена *VDR* (rs2228570) ( $P_A=0,59$  проти  $P_G=0,41$ ,  $p<0,001$ ), *C*-алель гена *NMDA* (rs4880213) ( $P_C=0,55$  проти  $P_T=0,45$ ,  $p>0,05$ ). Очікувана популяційна рівновага генотипів відповідає закону *Hardy-Weinberg* і вказує на нормальний популяційний розподіл. У обстежених хворих з урахуванням аналізованих генів патологія щитоподібної залози успадковується за аутосомно-рецесивним типом із інформаційним критерієм Акайке 14,49-16,39.

Згідно нашого дослідження статистично значуща відмінність у відносних частотах поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) між здоровими та хворими особами, враховуючи вид патології ЩЗ (АІТ з гіпотиреозом, ПОГ та АІТ), не спостерігалась. За результатами епідеміологічного аналізу можна зробити висновок, що поєднання генотипів аналізованих генів не є фактором ризику ПОГ, АІТ з гіпотиреозом та АІТ в обстеженій популяції. Серед обстежених пацієнтів більшість були власниками комбінації генотипів *CC / AG / CT* (16,99 %). Крім того, серед пацієнтів переважали власники комбінацій генотипів *CC / AA / CC* (10,46 %) та *CC / AA / CT* (10,46 %), решта комбонувань зустрічались у поодиноких випадках. У результаті аналізу комплексування мутаційних алелей трьох генів у гомозиготному стані не встановили. Носійство комбінації *CT / GG / CT* генотипів значно зменшує ризик розвитку тривоги (OR=0,1233; 95 % CI OR: 0,0197 – 0,7730;  $p=0,0344$ ).

Поєднання генотипів досліджуваних генів не є чинниками ризику депресії серед хворих з тиреоїдною патологією. Виявлення комбінації генотипів *CC / AG / CC* у носіїв вірогідно пов'язане зі значним зниженням ризику розвитку когнітивних порушень (OR=0,1410; 95 % CI OR: 0,0181 – 1,0965; p=0,0416). У той же час, у носіїв комбінації *CT / AG / CT* генотипів збільшується ризик появи когнітивних порушень більше ніж у 5 разів (OR=5,1915; 95 % CI OR: 1,2471 – 21,6107; p=0,0214) та у носіїв комбінації *CT / AG / TT* генотипів – у 10 разів (OR=10,1224; 95 % CI OR: 1,1037 – 92,8401; p=0,0281) відповідно. Носійство комбінації *CT / AA / CT* генотипів збільшує ризик виникнення когнітивних порушень у 6,4 раза (OR=6,4062; 95 % CI OR: 1,2019 – 34,1471; p=0,0253).

На наступному етапі роботи ми провели пошук локусів кількісних ознак експресії (expression quantitative trait loci eQTL) для SNP генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213), використовуючи загальнодоступну базу даних (QTLbase: <http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.html>). Пошук локусів кількісних ознак експресії (eQTL) для SNP генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) засвідчив вагомий тканиноспецифічний компонент цис-регуляції. Ген *BDNF* (rs6265) пов'язаний з експресією 17 генів у різних тканинах; *T* алель гена *BDNF* (rs6265) асоціює з підвищеною експресією *BDNF* у стовбурових клітинах ( $\beta=0,32$ , p=1,89E-13), зниженою – у підшлунковій залозі, ЩЗ, мозку, нирках, жировій тканині, простаті, CD4<sup>+</sup> Т-клітинах крові, CD14<sup>+</sup> моноцитах крові ( $\beta=-0,04$  / -2,20; p<0,001). На основі досліджень встановлено, що алелі гена *VDR* (rs2228570) асоціюють з експресією 29 генів у 17 різних тканинах, головним чином у клітинах крові: *A* алель (rs2228570) пов'язаний з підвищеною експресією *VDR* в CD4<sup>+</sup> Т-клітинах крові ( $\beta=2,93$ ; p=0,003), індукує ген *RAPGEF3* у CD14<sup>+</sup> моноцитах крові ( $\beta=0,20$ ; p=0,004), а *G* алель викликає транскрипційну індукцію генів *HDAC7* у CD8<sup>+</sup> лімфоцитах ( $\beta=0,14$ ; p<0,001) і *PCED1B* в активованих CD4<sup>+</sup> лімфоцитах крові ( $\beta=0,09$ ; p=0,003).



Крім того, було встановлено, що SNP гена *NMDA* (rs4880213) взаємодіє з 49 генами в 16 різних тканинах організму: *T*-алель індукує транскрипційну активність генів *MAN1B1* у ЦЗ і периферичній нервовій системі ( $\beta=0,16$  і  $\beta=0,15$ ;  $p<0,001$ ), а *SAPCD2* і *ENTPD2* – у крові ( $\beta=0,28$  і  $\beta=0,29$ ;  $p<0,001$ ), репресуючи натомість транскрипційну активність генів *NPDC1* у фібробластах і судинах ( $\beta=-0,16$  і  $\beta=-0,19$ ;  $p<0,001$ ), *FAM166A* – в очах ( $\beta=-0,09$ ;  $p=0,008$ ).

На наступному етапі дослідження ми проаналізували зв'язок між рівнем BDNF у сироватці крові та поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265) у пацієнтів з різними формами патології ЦЗ. Виявлено, що рівень BDNF у крові має чітку залежність від поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) як у пацієнтів з тиреоїдною патологією, так і в практично здорових осіб, знижуючись вірогідно в носіїв мутаційного *T*-алеля, особливо *TT*-генотипу.

Згідно з проведеним дослідженням, було підтверджено зниження рівня BDNF у носіїв генотипу *TT* у хворих з ПОГ в 2,15 раза ( $p=0,0014$ ); при АІТ з гіпотиреозом – у 3,24 раза ( $p=0,002$ ); і при АІТ – у 2,42 раза ( $p<0,001$ ), порівняно з пацієнтами з генотипом *CC*. У порівняльному аналізі рівнів BDNF у пацієнтів з автоімунним тиреоїдитом з гіпотиреозом та без нього виявлено, що рівень BDNF був значно нижчим у групі хворих на АІТ з гіпотиреозом. Зокрема, серед носіїв генотипу *CC* рівень BDNF у хворих на АІТ з гіпотиреозом був знижений у 2,46 раза ( $p<0,001$ ) порівняно з носіями генотипу *CC* з АІТ. Крім того, серед носіїв генотипів *CT* і *TT* ці рівні BDNF були значно знижені – у 4,11 ( $p<0,001$ ) та 3,29 ( $p=0,00143$ ) раза відповідно.

BDNF регулює багато процесів у нашому організмі, включаючи розвиток і ріст нейронів, пригнічує апоптоз, сприяє нейрогенезу, нейрорегенерації та стимулює утворення синаптичних зв'язків. BDNF бере участь у регуляції нейронної пластичності, пов'язаної з процесами навчання та пам'яті, впливаючи на процес синаптичного тривалого потенціювання та тривалої депресії в гіпокампі [505]. Через важливу роль BDNF у мозку, ряд

генетичних досліджень зосереджувався на вивченні впливу поліморфізмів *BDNF* на функції мозку в здорових людей, а також при патологічних станах, особливо при нервово-психічних розладах [172]. Rs6265, поширений SNP гену *BDNF* у людей, призводить до заміни амінокислоти з валіну на метіонін у кодоні 66 (Val66Met), який знаходиться в про-доміні *BDNF*. Доведено, що поліморфізм Val66Met перешкоджає транспортуванню *BDNF* і знижує його секрецію [145]. Кілька досліджень виявили зв'язок між поліморфізмом Val66Met та зменшенням обсягів гіпокампальної і префронтальної сірої речовини, що призводить до аномальної активності гіпокампа, порушення когнітивних функцій, зниження пам'яті та виконавчих функцій [383, 384].

Як транскрипція гену *BDNF*, так і транспорт мРНК *BDNF* і білка в дендрити регулюються активністю нейронів, яка також може охоплювати активацію пресинаптичних N-метил-D-аспарататних (NMDA) глутаматних рецепторів [70]. *BDNF* модулює нервову пластичність у дорослому мозку, змінюючи рівні NMDA-рецепторів і регулюючи їх фосфорилування, що призводить до його активізації [75], що підвищує синаптичну пластичність. Оскільки *BDNF* відіграє вирішальну роль у довготривалій потенціації, він є важливою частиною формування та підтримки пам'яті [69]. Крім того, *BDNF* збільшує кількість, розмір і складність дендритів [431].

Попередні дослідження підтверджують наші висновки: в осіб, гомозиготних або гетерозиготних за алелями *Met*, рівень *BDNF* у плазмі крові був нижчим, ніж у гомозиготних носіїв Val/Val. Це можна пояснити аномальним внутрішньоклітинним перенесенням попередника *BDNF*, який знижує вироблення зрілого *BDNF* у носіїв алеля *T* [97, 145]. Аналіз залежності рівнів *BDNF* від генотипів rs6265 показує, що в носіїв генотипу *TT* рівень *BDNF* був значно нижчим, порівняно з носіями генотипів *CT* і *CC*. Заміна *C* на *T* у *BDNF* призводить до порушення внутрішньоклітинного транспорту *BDNF* у секреторні везикули [383].

Дослідження показали, що алель rs6265 *T* пов'язаний із нижчими концентраціями BDNF у сироватці крові в здорових німців [177]. Миші, гомозиготні за алелем *T*, демонстрували знижені базальні рівні BDNF у гіпокампі; ці рівні не вдавалося нормалізувати введенням антидепресанта флуоксетину [30].

У нашому дослідженні ми також виявили, що рівень BDNF у сироватці крові був найнижчим у групах хворих на ПОГ та АІТ з гіпотиреозом. Крім того, алель *T* rs6265 пов'язаний із низьким рівнем BDNF у сироватці крові. Ми припускаємо, що на фоні патології ЩЗ генетична схильність зіграла істотнішу роль у зниженні BDNF. З іншого боку, генотип *CC* може сприяти захисту нейронів у випадках недостатності тиреоїдних гормонів та патології ЩЗ. Наше дослідження узгоджується з доказами того, що BDNF бере участь у ранній відповіді на пошкодження нейронів [327].

Нами було встановлено, що носійство *C*-алеля є захисним і значно знижує ймовірність зниження рівня BDNF у сироватці крові пацієнтів з патологією ЩЗ в обстеженій популяції за протективної ролі *CC*-генотипу [OR=0,1; 95 %CI OR: 0,002-0,9159; p=0,021]. Разом з тим, носійство *T*-алеля збільшує ризик низького рівня BDNF (<500 пг/мл) при патології ЩЗ майже в 10 разів [OR=9,98; p<0,05].

Останні дані вказують на зв'язок між низьким рівнем вітаміну D і автоімунними захворюваннями ЩЗ. У декількох клінічних дослідженнях повідомляється, що в пацієнтів з АЗЩЗ виявлено низький рівень вітаміну D [278]. Наші результати також демонструють значне зниження рівня вітаміну D у сироватці крові пацієнтів з ПОГ і в пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним АІТ (в 1,89 і 2,05 раза відповідно), порівняно з контрольною групою. Кореляційний аналіз між рівнями 25(OH)D і рівнями ТТГ, Т4, АТПО і АТТГ показав незначну пряму залежність ( $r=0,25$ ) між рівнями 25(OH)D і ТТГ ( $p<0,001$ ), зворотну кореляцію ( $r=-0,24$ ) між рівнями 25(OH)D і Т4 у крові ( $p<0,001$ ) і слабку пряму залежність ( $r=0,26$ ) між рівнями АТТГ і вітаміну D

( $p=0,0157$ ). Крім того, ми виявили значну пряму кореляцію між рівнями АТПО та АТТГ ( $p<0,001$ ).

Проведений аналіз кореляції між рівнями BDNF і 25(OH)D показав помірну пряму залежність між цими показниками ( $r=0,4$ ;  $p=0,006$ ). Крім того, було засвідчено помірну пряму кореляцію між GRIN2B та АТТГ ( $r=0,53$ ;  $p<0,001$ ) та АТПО ( $r=0,63$ ;  $p<0,001$ ), відповідно.

На наступному етапі ми вивчали взаємозв'язок поліморфізму гену *VDR* (rs2228570) з рівнями 25(OH)D у сироватці крові в пацієнтів із патологіями ЩЗ. Порівняльний аналіз рівнів 25(OH)D у хворих на АІТ з гіпотиреозом та без нього показав, що він був значно нижчим у носіїв генотипів *AA* та *AG* з гіпотиреозом, викликаним АІТ. Наприклад, рівні 25(OH)D у носіїв генотипу *AA* з гіпотиреозом, викликаним АІТ, були знижені на 15,8 %, порівняно з носіями генотипу *AA* з АІТ і без гіпотиреозу. Крім того, в носіїв генотипу *AA* з післяопераційним гіпотиреозом рівень 25(OH)D був значно нижчим (на 18,8 %), порівняно з носіями генотипу *AA* з АІТ.

У даному дослідженні ми виявили, що носії генотипу *AA* з гіпотиреозом, незалежно від його причини (автоімунної або післяопераційної), мали значно нижчі рівні 25(OH)D, порівняно з хворими на АІТ без гіпотиреозу. Отже, можемо стверджувати, що на тлі патології ЩЗ знижений рівень вітаміну D посилює функціональну недостатність ЩЗ. При проведенні порівняльного аналізу вмісту BDNF у носіїв різних генотипів *VDR* rs2228570 з урахуванням патології ЩЗ були виявлені найнижчі показники в групі хворих на ПОГ. Отже, в пацієнтів із генотипом *AA* в групі хворих на ПОГ рівень BDNF був нижчим у 3,44 раза, порівняно з носіями генотипу *AA* в контрольній групі, а в пацієнтів з генотипами *AG* і *GG* рівень BDNF був знижений у 3,92 і 2,53 раза відповідно. При обстеженні пацієнтів з АІТ із гіпотиреозом рівень BDNF у носіїв генотипу *AA* вірогідно знизився в 2,86 раза, порівняно з носіями генотипу *AA* в контрольній групі. Серед носіїв генотипу *AG* рівень BDNF був нижчим у 2,6 раза, порівняно з контрольною

групою. У носіїв генотипу *GG*, хворих на АІТ з гіпотиреозом, вміст BDNF істотно не відрізнявся від контрольної групи.

Таким чином, досліджувані захворювання ЩЗ супроводжуються гіповітамінозом холекальциферолу (25(OH)D), що вірогідно посилюється за гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з гіпотиреозом), а надто в носіїв основного *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) у 1,82-2,0 рази ( $p < 0,001$ ). Проте, епідеміологічний аналіз не підтвердив поліморфні варіанти гена *VDR* (rs2228570) в якості чинника ризику гіпохолекальциферолемії, чи дефіциту 25(OH)D, а також як предиктора зниження рівня BDNF крові.

У зв'язку з важливою участю *GRIN2B* у контролі функції NMDA-рецептора, порушення експресії або функції субодиниці *GluN2B* може призвести до появи декількох фенотипів розвитку нервової системи, які відображають зміни у формуванні синаптичної пластичності і передачі збудження [441]. Деякі варіанти були виявлені в родині генів NMDA-рецепторів, при цьому ген *GRIN2B*, що кодує субодиницю *GluN2B*, залучений до багатьох патологічних станів, таких як порушення мови, моторики і навчання, розлади аутистичного спектра, синдром дефіциту уваги і гіперактивності, затримку розвитку, епілепсію і шизофренію [151, 217]. Ген *GRIN2B* відіграє вирішальну роль у нормальному розвитку нейронів і важливий для навчання та пам'яті [430].

Дослідження показали, що деякі поліморфізми глутаматних рецепторів, які включають *GRIN1*, *GRIN2B*, *NMDAR*, впливають на регуляцію збудливості кори головного мозку та пластичність кори головного мозку людини [372].

Згідно з нашим дослідженням, концентрація медіатора нейротропної активності NR2B-субодиниці глутаматного N-метилD-аспартату рецептора в крові не має залежності від генотипів гена *NMDA* (rs4880213), однак вірогідно знижується за ПОГ у власників усіх генотипів – у 3,22-3,65 рази ( $p < 0,001$ ), зростаючи за АІТ з гіпотиреозом – у 1,52-1,66 рази ( $p < 0,001$ ) відповідно, підвищуючи клінічну ймовірність розвитку судомного синдрому,

змін настрою (психотичної нестабільності), втрату пам'яті, когнітивних розладів тощо.

Наступний етап дослідження полягав у вивченні транскрипційної активності нейротрофічних факторів і низки інших генів у клітинах периферичної крові пацієнтів із захворюваннями ЩЗ. Нами була виявлена низка диференційно-експресованих генів (рисунок 10.1).

Найкраще вивченим із усіх нейротрофічних факторів є мозковий нейротрофічний фактор *BDNF*, який широко експресується в головному мозку і має потужний вплив на синаптогенез та нейрогенез [38, 308, 541]. У нашому дослідженні в пацієнтів з ПОГ експресія *BDNF* була значно знижена. Таким чином, різке зниження рівня гормонів ЩЗ після операції на цьому органі призвело до значного пригнічення експресії *BDNF*. І навпаки, в пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним АІТ, зниження експресії *BDNF* було не настільки вираженим. Більш того, в пацієнтів з АІТ без гіпотиреозу експресія *BDNF* виявилася підвищеною.

Ще один класичний нейротрофін, *GDNF*, також сприяє утворенню синапсів у гіпокампі, тому цілком імовірно, що *BDNF* і *GDNF* взаємодіють при формуванні синапсів, які беруть участь у навчанні [309]. Зниження рівнів експресії мРНК *GDNF*, *ARTN* і *NTF3* було виявлено у пацієнтів із депресивним розладом [379]. У нашому дослідженні експресія *GDNF* була значно зниженою у групі пацієнтів з АІТ, тоді як в інших групах його експресія збільшилася.

Експресія *MEF2*, який є негативно регулює морфогенез дендритів, диференціювання постсинаптичних структур і кількість збуджувальних синапсів [96], була знижена у хворих з ПОГ, порівняно з контрольною групою.

Ми виявили, що гіпотиреоз був пов'язаний з пригніченою експресією *CBLN1*, який бере участь у формуванні синапсів у ЦНС [208], тоді як високий рівень сироваткових автоантитіл, таких як АТТГ і АТПО, був пов'язаний з підвищеною експресією *CBLN1*.

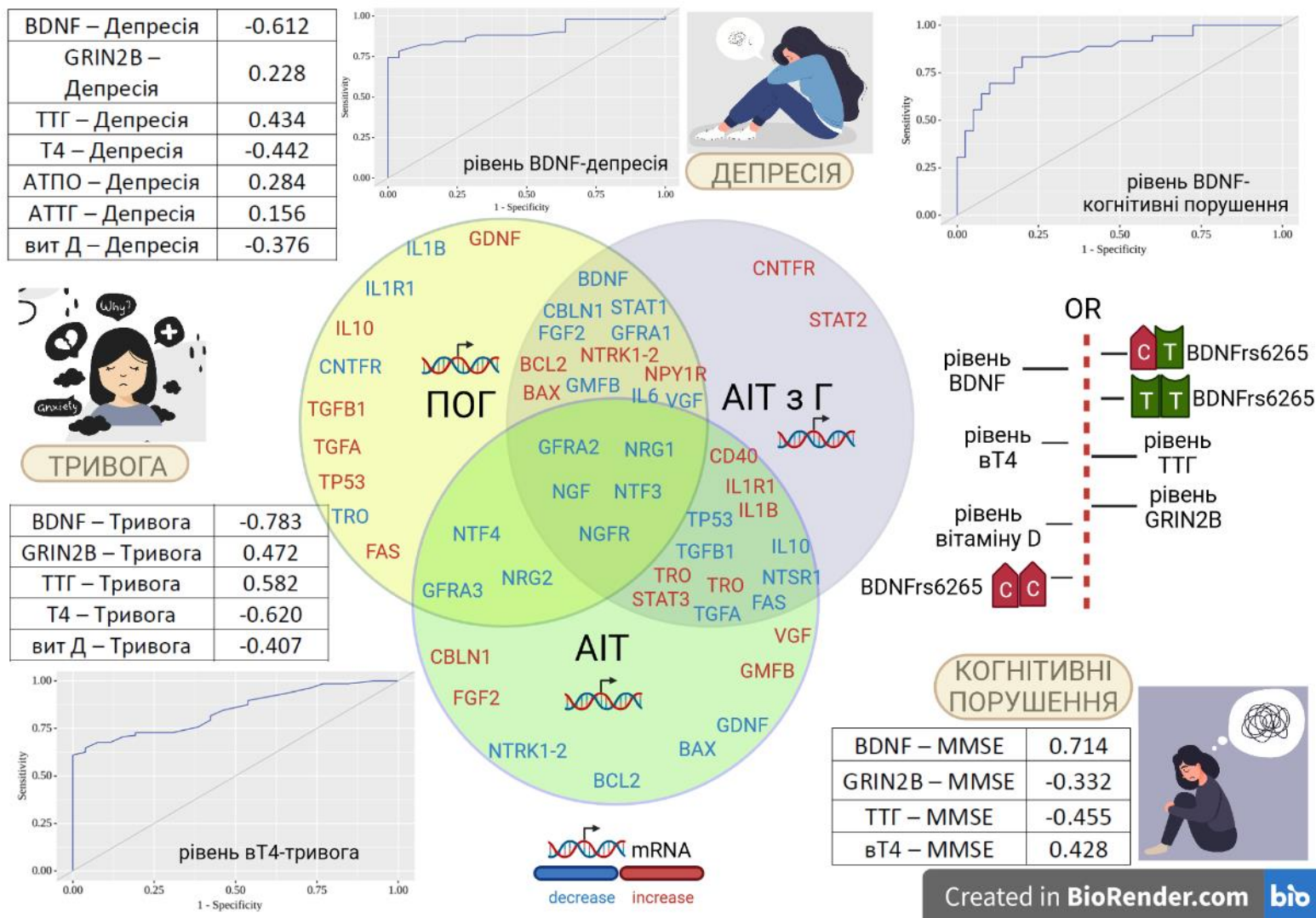


Рисунок 10.1 – Диференційно-експресовані гени і прогнозування розвитку депресії, тривоги і когнітивних порушень при захворюваннях ЩЗ

Дія нейротензину опосередковується через NTSR1 [146]. У нашому дослідженні експресія *NTSR1* була зниженою у групах 2 і 3. Тим часом у групі хворих на ПОГ рівень експресії *NTSR1* виявився підвищеним. Ці результати свідчать про те, що високий рівень сироваткових автоантитіл, таких як АТТГ і АТПО, може пригнічувати експресію *NTSR1*.

Ми не виявили змін у транскрипційній активності ряду генів. *CNTF*, *CRH*, *GALR1*, *GALR2*, *HCRT*, *NPFF* і *NPY* не змінили свою експресію у всіх групах пацієнтів. Також ми вважаємо, що індукція або репресія в клітинах крові окремих регуляторних генів, що беруть участь у передачі нервових імпульсів, є потенційним прогностичним показником ризику психоневрологічних ускладнень у пацієнтів із патологією ЩЗ.

Також ми виявили, що *ARTN*, який є членом родини лігандів нейротрофічних факторів, отриманих із гліальних клітинних ліній, також не змінив свою експресію у всіх групах пацієнтів. Однак *ARTN* має свій вплив на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи через зв'язування з рецепторним комплексом рецептора родини *GDNF* альфа 3 (*GFRA3*) [545]. У нашому дослідженні ми виявили, що рівень експресії *GFRA3* був знижений більше ніж у 5 разів. Таким чином, дисфункція ЩЗ може впливати на *ARNT* через пригнічення експресії гена *GFRA3*, високоселективного рецептора для *ARTN*.

Фактор росту фібробластів (*FGF2*) – нейротрофічний білок, який був визначений як біомаркер тривоги та депресивних розладів, відіграє важливу роль у розвитку та підтримці центральної нервової системи [73]. Пацієнти, які страждають на великий депресивний розлад, мають deregulовані рівні транскриптів *FGF2*, які відновлюються інгібіторами зворотного захоплення серотоніну [450]. Посмертні дослідження на людях показали, що експресія *FGF2* знижується в мозку людей з депресією. Дані дослідження [407], вказують на те, що *FGF2* гіпокампа є центральним інтегратором генетичних факторів і факторів навколишнього середовища, які впливають на розвиток тривоги, гіпокампальний нейрогенез і гліогенез та підкреслюють потенціал



*FGF2* як нової мішені для лікування депресії та тривожних розладів. У нашому дослідженні ми спостерігали значне зниження експресії *FGF2* у групах 1 і 2 – більш ніж у 20 разів. Натомість у групі 3 експресія *FGF2* була підвищеною. Отже, ми можемо припустити, що низькі рівні гормонів ЩЗ пригнічують експресію *FGF2*.

*CNTF* експресується в нервовій системі, виробляється астроцитами в субвентрикулярній зоні головного мозку [400] та стимулює нейрогенез [231]. Його дія реалізується через *CNTFR*. У нашому дослідженні експресія *CNTFR* була зниженою в групі пацієнтів з ПОГ.

Нейрегулін 1 (*NRG1*) є трофічним фактором, який бере участь у регуляції нейронного розвитку, включаючи формування синапсів [355]. Також *NRG1* сприяє індукції тривалої депресії в дорослих мишей [79]. Крім того, було виявлено зниження експресії *NRG1* у пацієнтів з шизофренією [508]. Результати нашого дослідження показали, що експресія *NGFR* була значно знижена у всіх групах пацієнтів. Більше того, найнижчою експресія була у хворих на АІТ з підвищеними рівнями АТІО та АТІГ і нормальним рівнем гормонів ЩЗ.

Вважається, що нейротрофін-3 (*NT-3*) відіграє певну роль у нейробиологічних процесах, пов'язаних із розладами настрою та тривожністю. *NT-3* є потенційною фармакологічною мішенню для розладів настрою через його вплив на моноамінові нейромедіатори, регуляцію синаптичної пластичності та нейрогенезу, посилення сигналу *BDNF* і модуляцію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі [127]. Нами було засвідчено, що експресія *NTF3*, який є ключовим нейротрофіном для розвитку нейронів, також була знижена у всіх групах пацієнтів. Більше того, найнижча експресія виявлена в групі хворих на АІТ. Отже, продемонстровано щонайменше 10-кратну різницю в експресії *NTF3*, порівняно з контрольною групою.

У нашому дослідженні ми виявили, що в групах хворих з ПОГ та АІТ з гіпотиреозом, експресія *NTRK1* і *NTRK2* була підвищеною. Хворі на АІТ із

підвищенням рівня автоантитіл у сироватці крові мали значно нижчу експресію *NTRK1* і *NTRK2*. Ми можемо припустити, що високий рівень автоантитіл, таких як АТТГ і АТПО, може пригнічувати експресію *NTRK1* і *NTRK2*, та існує первинний специфічний для мозку механізм, не залежний від рівня гормонів ЩЗ.

У людей кортикотропін-релізінг-фактор-зв'язувальний білок (*CRHBP*) значно поширений по всьому тілу і виявлений в декількох ділянках мозку [86]. У цьому дослідженні ми виявили значне зниження експресії *CRHBP* у групах з ПОГ та гіпотиреозом на фоні АІТ. З іншого боку, у групі АІТ без гіпотиреозу експресія *CRHBP* виявилася збільшеною. Це передбачає пригнічення експресії *CRHBP* у випадках дефіциту ТГ у результаті АІТ і ПОГ.

Зубчаста звивина (DG) є унікальною структурою гіпокампу, в якій нові нейрони, зубчасті зернисті клітини (DGC), генеруються та інтегруються в ланцюги протягом життя. Генерація, дозрівання та інтеграція ланцюгів DGC пов'язані з когнітивними функціями, а також нервово-психічними розладами, такими як тривога та депресія. Нейротрофіни та FGF сприяють постнатальному зубчастому нейрогенезу шляхом передачі сигналів через їхні специфічні підтипи рецепторів, FGF-рецептор 1 (FGFR1) і нейротрофічний рецептор тирозинкінази 2 (*NTRK2* або *TRKB*), відповідно [320]. Специфічні ізоформи рецептора FGF (*FGFR1b* і *FGFR2b*) додатково беруть участь у синаптогенезі в пірамідних нейронах CA3, тоді як *TRKB* приймає участь у дозріванні DGC [120]. Однак механізми, які опосередковують сигнали FGF, залишаються до кінця не вивченими. Білки *FRS* є одними з перших ідентифікованих внутрішньоклітинних сигнальних адаптерів, які передають сигнали як від рецепторів нейротрофінів, так і від рецепторів FGF [375]. У цьому дослідженні експресія *FRS2* і *FRS3* значно знизилася в групі пацієнтів із післяопераційним гіпотиреозом, натомість вона значно збільшилася пацієнтів з АІТ і підвищеними сироватковими АТТГ і АТПО автоантитілами.

Результати нашого дослідження показали, що експресія *GFRA2* була значно знижена у всіх групах пацієнтів. Водночас у пацієнтів з первинним гіпотиреозом, що виник у результаті АІТ і ПОГ, була знижена експресія *GFRA1*, тоді як у групі пацієнтів з АІТ і підвищенням сироваткових АТТГ і АТПО автоантитіл рівні мРНК *GFRA1* були підвищені.

Фактор дозрівання глії бета (GMFB) бере участь в імунорегуляції, нейропластичності та апоптозі. Плазмовий GMFB може служити надійним індикатором ішемічного пошкодження на тваринних моделях та у пацієнтів з інсультом [536]. Експресія *GMFB* також змінюється при декількох нейродегенеративних захворюваннях [160]. Експресія *GMFB* корелює з навчанням і формуванням пам'яті у щурів [422]. У цьому дослідженні ми виявили, що експресія *GMFB* була зниженою у групах з ПОГ та в пацієнтів з гіпотиреозом, спричиненим АІТ, тоді як пацієнти з АІТ та підвищенням рівня автоантитіл у сироватці крові мали вищу експресію *GMFB*.

Фактор росту нервів (NGF) бере участь у патогенезі широкого спектру нейрональних захворювань (хвороба Альцгеймера та інші нейродегенеративні захворювання) і ненеурональних розладів (атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет 2 типу) [406, 444]. Зокрема, в мозку NGF відіграє ключову роль у кількох захворюваннях, що призводять до загибелі клітин та/або нейродегенерації під час розвитку або старіння [112, 139]. Секреція NGF при гіпотиреозі збільшується [532]. У нашому дослідженні ми виявили зниження рівня мРНК *NGF* у всіх групах пацієнтів.

Нейрегуліни (NRG) можуть пригнічувати довгострокове потенціювання, механізм, який пов'язаний з навчанням [221]. У цьому дослідженні ми визначили, що у пацієнтів з ПОГ була підвищена експресія *NRG2* і *NRG4*. Рівні мРНК *NRG2* знизилися, тоді як рівні мРНК *NRG4* значно збільшилися в пацієнтів з підвищеним рівнем сироваткових автоантитіл АТТГ і АТПО.

Рецептор простагландину E2 – PTGER2, відіграє важливу роль у LTP гіпокампа та просторовому навчанні. PGE2 індукує синаптичну

відповідь за допомогою своєї дії на пресинаптичний рецептор *PTGER2* [529]. Це означає, що сигналізація *PGE2-PTGER2* важлива для довготривалої синаптичної пластичності гіпокампа та когнітивних функцій. У цьому дослідженні мРНК *PTGER2* збільшилася в групі 1, яка включала пацієнтів з ПОГ, тоді як експресія *PTGER2* знизилася в групі хворих на АІТ з підвищеними АТТГ і АТПО, а також у пацієнтів з гіпотиреозом у результаті АІТ.

Трофінін (*TRO*) інтенсивно експресується в субвентрикулярній зоні мозку, яка є однією з ділянок, де відбувається активний нейрогенез [343]. Ми спостерігали зниження експресії *TRO* в пацієнтів із післяопераційним гіпотиреозом. Навпаки, експресія *TRO* значно збільшилася у хворих на АІТ та АІТ з гіпотиреозом.

Рівень *VGF* у сироватці крові та префронтальній корі головного мозку знижувався у пацієнтів з тяжким депресивним розладом [94]. У цьому дослідженні в пацієнтів із гіпотиреозом у результаті АІТ і ПОГ експресія *VGF* була знижена, тоді як у групі пацієнтів з АІТ із підвищеними АТТГ і АТПО вона була значно збільшена.

Одним із найпоширеніших рецепторів, який наявний у всіх імунних клітинах, є рецептор *Y1* [134]. У цьому дослідженні експресія *NPY1R* була підвищена у пацієнтів з АІТ-індукованим і післяопераційним гіпотиреозом, водночас вона була пригнічена в групі хворих на АІТ з підвищеними сироватковими АТТГ та АТПО аутоантитілами.

Крім того, ми не виявили змін в експресії *NPY2R* у пацієнтів з АІТ-індукованим, а також з післяопераційним гіпотиреозом. І навпаки, експресія *NPY2R* була значно підвищена в групі пацієнтів з підвищеним рівнем аутоантитіл. Ці дані свідчать про те, що сироваткові АТТГ і АТПО аутоантитіла можуть підвищувати експресію *NPY2R*.

У цьому дослідженні експресія гена *NPY4R*, що кодує рецептор *Y4*, була підвищена в пацієнтів з ПОГ, без змін транскрипційної активності *NPY4R* в інших групах. У людей чотири рецептори родини *NPY*

експресуються в гіпоталамічних ділянках мозку, які пов'язані з регуляцією апетиту і енергетичного обміну [167]. Також ми виявили зміну експресії мРНК *NTSR1*, який є одним із найкраще вивчених серед рецепторів нейротензину: експресія *NTSR1* зростала в пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом та знижувалася як у пацієнтів з підвищеними АТТГ і АТПО, так і з АІТ-індукованим гіпотиреозом.

Ми виявили підвищену експресію *PNO3*, гена, що кодує білок препроноцицептин, у пацієнтів з АІТ; експресія цього гена не змінилася в інших групах.

Ми не виявили жодних змін у транскрипційній активності цілої низки генів. Так, експресія *CCKAR*, *GRPR*, *HCRT*, *MC2R*, *NPFF*, *NPFFR2*, *TACR1* і *UCN* не змінилась у жодній групі пацієнтів. Можливо, це пов'язано з тим, що значніші зміни їхнього транскрипційного профілю відбуваються в нервовій тканині або тканині ЩЗ.

Родина білків В-клітинної лімфоми-2 (*BCL-2*) є ключовими регуляторами запрограмованої смерті клітин [388]. Ця родина білків складається як із антиапоптотичних (*BCL-2*, *BCL-XL*), так і з проапоптотичних (*BCL-2*-асоційований білок *X*, *Bax*) молекул. У нашому дослідженні експресія *BCL2* була значно пригніченою у групі пацієнтів з АІТ, тоді як у пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним АІТ і післяопераційним гіпотиреозом експресія *BCL2* була підвищена. Ми також виявили зниження експресії *BAX* у хворих на АІТ, тоді як у пацієнтів з гіпотиреозом у результаті АІТ або ПОГ експресія *BAX* була збільшена.

Сінгх та ін. оцінювали вплив гіпотиреозу на експресію генів родини *BCL-2* у мозочку щура, що розвивається. Експресія антиапоптотичних генів *BCL-2* і *BCL-xL* була знижена, а проапоптотичний ген *BAX* експресувався на вищих рівнях, порівняно з еутиреоїдним станом. Ці результати свідчать про те, що нормальний рівень ТГ запобігає апоптозу клітин мозочка, тоді як гіпотиреоз збільшує не тільки ступінь, а й тривалість апоптозу, шляхом

пригнічення антиапоптотичних генів та підтримання високого рівня проапоптотичного гена *BAX* [468].

*CD40*, член суперродини *TNFR*, пов'язаний із кількома автоімунними захворюваннями, включаючи *ТХ*. Ми виявили, що пацієнти з *ПОГ* мали значно нижчу експресію *CD40*, порівняно з контрольною групою. З іншого боку, високі рівні *АТПО* та *АТТГ* були пов'язані з підвищеною експресією *CD40*.

Апоптоз відіграє помітну роль при *ТХ*, оскільки зовнішній шлях індукції апоптозу активується за допомогою зв'язування *FASL* (*CD95L*) з його рецептором *FAS* (*CD95*) [421]. У нашому дослідженні експресія *FAS* була знижена в пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним *АІТ*, і в пацієнтів з *АІТ* з підвищенням рівня автоантитіл у сироватці крові, тоді як у групі пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом рівень експресії *FAS* не змінився. Ці результати свідчать про те, що високі рівні *АТПО* та *АТТГ* пригнічують експресію *FAS*.

*HSPB1* діє як потужний інгібітор передачі сигналів апоптозу [267]. У цьому дослідженні експресія *HSPB1* була знижена у пацієнтів з гіпотиреозом, що виник у результаті *АІТ*, а також *ПОГ*. Навпаки, регуляція *HSPB1* виявилася підвищеною у групі пацієнтів із зростанням сироваткових автоантитіл. Ці результати свідчать про те, що високий рівень сироваткових автоантитіл, таких як *АТТГ* та *АТПО*, посилює регуляцію експресії *HSPB1*.

Ген трансформуючого фактора росту  $\beta$  (*TGF- $\beta$* ) є одним із ключових генів, причетних до генетичної схильності до автоімунних захворювань, зокрема *ТХ* [475]. У нашому дослідженні експресія *TGFB1* була знижена у пацієнтів з підвищеними сироватковими *АТТГ* та *АТПО* автоантитілами, тоді як у пацієнтів з *ПОГ* рівень мРНК *TGFB1* був підвищений. Крім того, ми виявили зниження мРНК *TP53* у пацієнтів з *АІТ*, а також з гіпотиреозом унаслідок *АІТ*, тоді як у пацієнтів з *ПОГ* експресія *TP53* зростає. Отже, ми

виявили зміни транскрипційної активності низки генів-регуляторів апоптозу в пацієнтів із захворюваннями ЩЗ.

STATs – група транскрипційних факторів, які активуються позаклітинними сигнальними лігандами, такими як цитокіни, фактори росту та гормони [45, 366]. На сьогодні ідентифіковано сім представників STATs у ссавців: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B і STAT6 [203]. Вони впливають на запальну реакцію, ангиогенез, апоптоз і диференціювання клітин, а також беруть участь у функціонуванні імунної системи людини. Ми виявили зниження експресії *STAT1* у пацієнтів з ПОГ і у пацієнтів з гіпотиреозом, що виник у результаті АІТ. Ці результати свідчать про те, що гіпотиреоз може призвести до пригнічення регуляції *STAT1*.

STAT2 бере участь переважно у передачі сигналу інтерферонів типу I [547]. У нашому дослідженні пацієнти з післяопераційним гіпотиреозом мали значно нижчу експресію *STAT2*, тоді як рівень експресії *STAT2* значно підвищувався у пацієнтів з гіпотиреозом, спричиненим АІТ, а також у пацієнтів з АІТ і підвищенням сироваткових антитіл до АТТГ та АТПО.

STAT3 опосередковує відповідь на низку прозапальних і протизапальних цитокінів, включаючи ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-17, ІЛ-21, ІЛ-22, ІЛ-23, ІЛ-27, ІFN- $\alpha/\beta$  і ІFN $\gamma$  [336], бере участь у клітинному рості, апоптозі, органогенезі, запаленні, інфекції, онкогенезі та інших біологічних процесах [366]. STAT3 відіграє ключову роль у розвитку аутоімунних розладів через сигнальну мережу, яка включає ІЛ-6 та ІЛ-17. Очевидний зв'язок між геном *STAT3* і АІЗЩЗ [525] підтверджено дослідженням, яке демонструє значно більш часте поширення SNP rs744166 *STAT3* у пацієнтів як з ТХ, так і з хворобою Грейвса [290]. У цьому дослідженні ми виявили, що пацієнти з ПОГ мали значно нижчу експресію *STAT3*. З іншого боку, *STAT3* був підвищений у групі пацієнтів з підвищеними АТТГ та АТПО, а також у пацієнтів з гіпотиреозом, викликаним АІТ.

STAT4 бере участь в опосередкуванні відповідей на IL-12 у лімфоцитах, регулюючи продукцію IFN $\gamma$  і диференціювання Т-хелперних клітин 1 типу (Th1) [288]. Зміни в експресії *STAT4* можуть змінювати функціональну активність лімфоцитів, що призводить до імуносупресії або аутоімунних розладів [180]. У нашому дослідженні пацієнти з ПОГ мали вищу експресію *STAT4*, тоді як у пацієнтів з гіпотиреозом унаслідок АІТ та з АІТ та підвищеними сироватковими АТТГ та АТПО експресія *STAT4* істотно не змінилася.

*p53*, який кодується геном-супресором пухлин *TP53*, відіграє вирішальну роль у регуляції клітинного циклу, апоптозі та підтримці генетичної цілісності у відповідь на різноманітні фактори, включаючи пошкодження ДНК, гіпоксію, метаболічний стрес та активацію онкогену [438]. У нашому дослідженні рівень експресії *p53* був знижений у пацієнтів з гіпотиреозом унаслідок АІТ, і у хворих на АІТ. І навпаки, у групі пацієнтів з ПОГ експресія *p53* була підвищеною. Ці результати свідчать, що високий рівень сироваткових аутоантитіл, таких як АТТГ та АТПО, може пригнічувати експресію *p53*.

ТГ відіграють важливу роль у мозку дорослої людини. Точний механізм, що зв'язує дисфункцію ЩЗ із психоневрологічними ускладненнями, залишається невідомим, а активація експресії генів, які регулюються гормонами ЩЗ, у мозку дорослої людини до кінця не вивчена. Ген білків ранньої відповіді *c-FOS* кодує білок, який димеризується з факторами транскрипції родини Jun [178]. *c-FOS* використовується як маркер активності нейронів і асоціюється з деякими нервовими та поведінковими реакціями на сильні подразники [519]. У нашому дослідженні експресія *c-FOS* була знижена у групі хворих на АІТ, тоді як у групі пацієнтів з ПОГ його експресія збільшилася.

Прегнан Х-рецептор (PXR, NR1I2) належить до суперродини активованих лігандом ядерних рецепторів (NR), який відіграє важливу роль у регуляції виведення токсичних побічних продуктів ендogenous метаболізму,



а також може впливати на метаболізм ендогенних гормонів [131]. Ми виявили, що гіпотиреоз був пов'язаний з підвищеною експресією *NR1I2*, тоді як високі рівні АТТГ та АТПО були пов'язані з пригніченою експресією *NR1I2*.

*CX3CR1* є рецептором, пов'язаним із трансмембранними G-білками. Він має єдиний ліганд, *CX3CL1* [183, 521]. У цьому дослідженні експресія *CX3CR1* була знижена в пацієнтів з гіпотиреозом, що виник у результаті АІТ, а також з ПОГ. З другого боку, рівень мРНК *CX3CR1* був збільшений у групі пацієнтів з підвищеними рівнями сироваткових автоантитіл АТПО та АТТГ.

Також ми виявили, що експресія *CXCR4* була знижена у пацієнтів з гіпотиреозом, що виник у результаті АІТ, а також ПОГ. Навпаки, рівень мРНК *CXCR4* був підвищений у групі пацієнтів з підвищеним рівнем АТТГ та АТПО.

Клітини ЩЗ синтезують кілька цитокінів, включаючи ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-12, ІЛ-13 і ІЛ-15 [341]. У цьому дослідженні рівень експресії *IL-1 $\beta$*  був знижений у пацієнтів з післяопераційним гіпотиреозом. І навпаки, рівень мРНК *IL-1 $\beta$*  був підвищений у пацієнтів з підвищеними рівнями сироваткових автоантитіл АТТГ та АТПО, а також у пацієнтів з гіпотиреозом, зумовленим АІТ. Це відповідає результатам підвищеної експресії мРНК *IL-1 $\beta$*  у мононуклеарних клітинах периферичної крові пацієнтів з ТХ, порівняно з пацієнтами із хворобою Грейвса [297]. Подібна тенденція була виявлена і в тканинах ЩЗ тих же груп пацієнтів і контрольної групи. Ці результати передбачають участь ІЛ-1 $\beta$  у патогенезі АІЗЩЗ і його корисність як біологічного маркера для відмінності ТХ від будь-яких інших АІЗЩЗ [481]. Також ми виявили, що експресія *IL1R1* підвищена в пацієнтів з високим рівнем сироваткових антитіл АТТГ та АТПО, а також у пацієнтів з гіпотиреозом, зумовленим АІТ. На відміну від цього, рівень мРНК *IL1R1* у групі пацієнтів з ПОГ був знижений.

IL-10 – це класичний супресорний Treg-залежний цитокін, який має вирішальне значення для підтримки та контролю запалення. Також показано, що цей цитокін збільшує вироблення антитіл, зокрема АТПО, які відіграють важливу роль у розвитку ТХ [297]. Ми виявили, що в пацієнтів з ПОГ експресія *IL-10* була значно нижчою, порівняно з контрольною групою. З другого боку, високі рівні сироваткових антитіл АТТГ і АТПО були пов'язані з підвищеною експресією *IL-10*.

IL-10RA (альфа-рецептор інтерлейкіну-10) є субодиницею гетеротетрамера рецептора IL-10, який належить до родини IFNR-подібних рецепторів [237, 478]. У людей IL-10 та його рецептори разом сприяють контролю імунних реакцій слизової оболонки кишечника. Загальногеномні асоціативні дослідження пов'язали однонуклеотидні поліморфізми у гені *IL-10* з підвищеним ризиком розвитку запальних захворювань кишечника [220]. У цьому дослідженні зниження мРНК *IL10RA* було виявлено в пацієнтів з підвищеними сироватковими автоантитілами АТТГ та АТПО, тоді як у пацієнтів з ПОГ і з гіпотиреозом, викликаним АІТ, експресія *IL10RA* збільшилася.

Один з основних медіаторів реакції на ушкодження та інфекцію, IL-6, є ключовим інтерлейкіном, що сприяє запаленню і автоімунним процесам [540]. За даними досліджень, при АІЗЩЗ спостерігається підвищений рівень IL-6 [272, 298]. IL-6 бере участь у регуляції росту і диференціювання клітин ЩЗ, тоді як його експресія в цих клітинах регулює інфільтрацію лімфоцитів [272]. Попередні дослідження підтверджують кореляцію між підвищеним рівнем IL-6 і ТХ [298, 465]. У цьому дослідженні ми виявили зниження експресії *IL-6* у пацієнтів з гіпотиреозом, що виник у результаті АІТ, а також з післяопераційним гіпотиреозом. Однак, рівень мРНК *IL-6* був значно підвищеним у групі пацієнтів зі АІТ. Ці результати свідчать про те, що високий рівень АТТГ та АТПО може посилювати регуляцію *IL-6*. Крім того це означає, що навіть у пацієнтів, в яких немає клінічних проявів (у пацієнтів з АІТ і підвищеними рівнями АТТГ та

АТПО), спостерігається значна транскрипційна індукція низки генів прозапальних цитокінів і їх рецепторів – *IL1 $\beta$* , *IL1R1*, *IL6*, *IL6R* на тлі пригніченої експресії інгібіторних цитокінів і їх рецепторів *IL10* і *IL10RA*.

Цитокіни можуть долати гематоенцефалічний бар'єр [26], після його проходження вони здатні брати участь у модуляції відповіді на стрес і регуляції нейрогенезу [5]. Цитокіни діють на мозок у два послідовних етапи: перший запускається активацією первинних аферентних нейронів, що іннервують ділянку тіла, де відбувається запальна відповідь. Другий включає повільну дифузію цитокінів до цільових частин мозку, таких як мигдалевий комплекс. Настрій також може бути послаблений впливом цитокінів на нейрогенез у нейронах гіпокампа, який, як вважають, є ключовим механізмом у патофізіології депресії [147]. Послаблення нейрогенезу може з часом сприяти зменшенню об'єму сірої речовини в гіпокампі, що часто спостерігається при депресії [77].

Загалом, встановлені нами зміни транскрипційної активності генів нейротрофінів, їх рецепторів, а також низки інших генів можуть бути обумовлені геномними ефектами тиреоїдних гормонів (рис. 10.2). Зміни рівня ТГ, що спостерігаються при захворюваннях ЩЗ, призводять до дисбалансу сигналізації через їх ядерні рецептори, що, в свою чергу, впливає на характер експресії великої кількості генів, в тому числі генів нейротрофінів і їх рецепторів, що і було продемонстровано в нашій роботі. У свою чергу, кожен з нейротрофінів через свої внутрішньоклітинні сигнальні шляхи впливає на фундаментальні клітинні процеси в нервовій і інших тканинах – проліферацію, виживання і диференціація нервових клітин, рівень метаболізму та інші, що за умов змін рівня такої регуляторної сигналізації може бути тригером розвитку неврологічних ускладнень – депресії, тривоги.

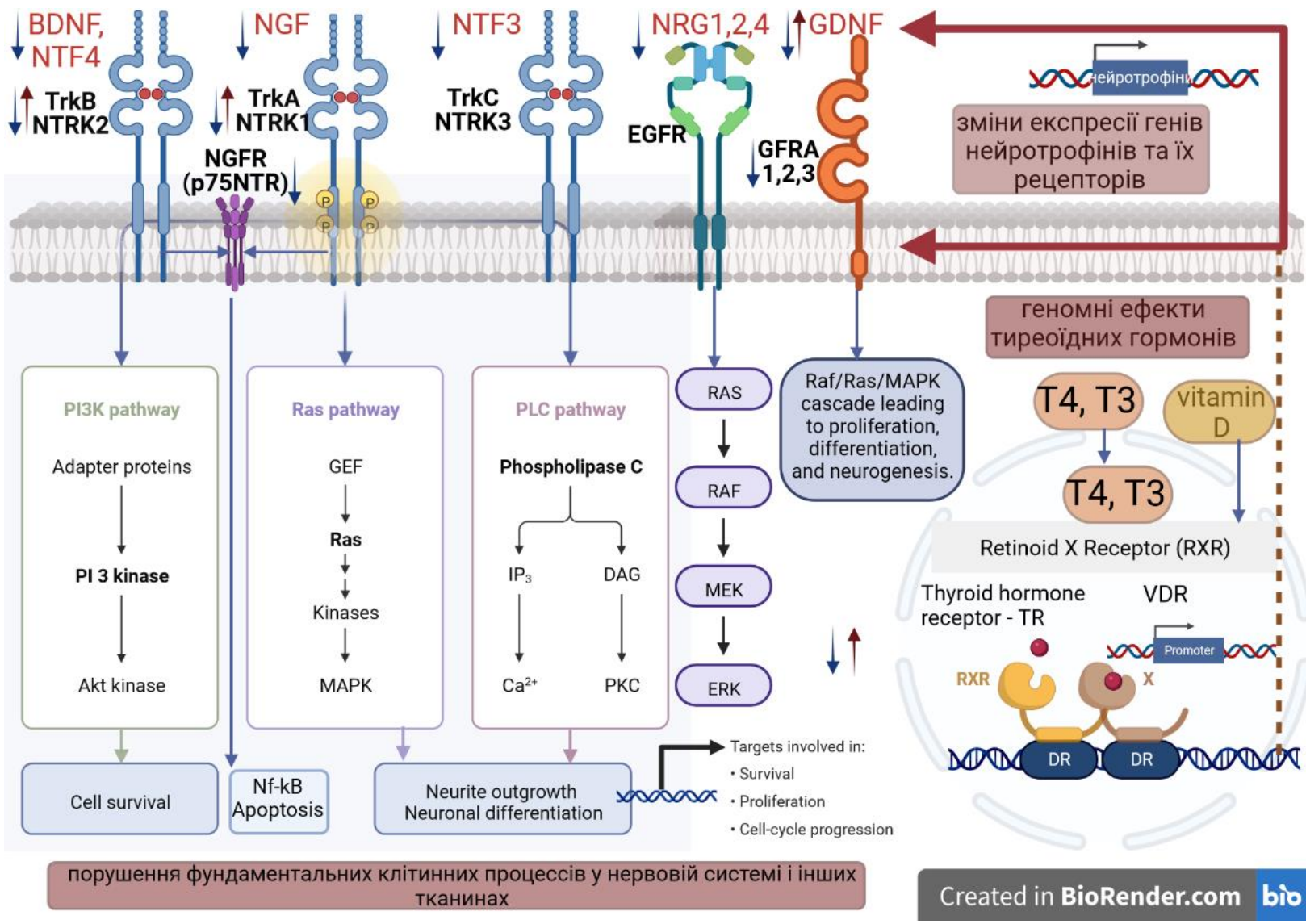


Рисунок 10.2 – Вплив тиреоїдних гормонів на експресію генів ключових нейротрофінів і їх рецепторів

Дефіцит вітаміну D пов'язаний з АІТ і з прогресуванням пошкодження тиреоцитів при ТХ. Була помічена негативна кореляція між рівнями вітаміну D і ТТГ [277]. Мета-аналіз поліморфізмів гена рецептора вітаміну D і АІТ виявив значну кореляцію між специфічними поліморфізмами гена рецептора вітаміну D (такими як *BsmI* і *TaqI*) і автоімунними захворюваннями ЩЗ [164]. Окремі дослідження також повідомляли про зв'язок між дефіцитом вітаміну D та дисфункцією ЩЗ [87, 118, 276, 485]. Загальновідомо, що гіпотиреоз пов'язаний із нейропсихіатричними симптомами. Ці симптоми стосуються широкого діапазону емоційної та когнітивної нестабільності, що виникає через зміни в мозку внаслідок різних причин, включаючи значний вплив захворювань ЩЗ, дефіцит гормонів у тканині мозку та порушення нейротрансмісії (норадренергічної, ГАМК-ергічної та серотонінової) [63, 123]. Клінічні прояви включають когнітивні розлади, розлади уваги та настрою, такі як депресія, які в багатьох випадках вказують на дисфункцію гіпокампа [370].

Ацетилхолін відіграє важливу роль у процесі навчання та пам'яті, тоді як ГАМК бере участь у регуляції настрою та когнітивних функцій [329]. Гіпотиреоз змінює експресію синаптичних білків, які беруть участь у вивільненні ацетилхоліну [546]. ГАМК пригнічує вивільнення ТТГ з гіпофізу, тоді як гормони ЩЗ впливають на кілька компонентів системи ГАМК. Дефіцит гормонів ЩЗ може викликати порушення синтезу ГАМК, що призводить до зниження вмісту ГАМК у гіпокампі [329, 515]. Мета-аналіз виявив сильний зв'язок між АІТ, депресією та тривожними розладами відповідно [464]. Більше того, в декількох дослідженнях були описані загальні ознаки та симптоми тривоги, що з'являються в пацієнтів з АІТ [227, 528].

На наступному етапі нашої роботи ми дослідили зв'язок поліморфізму гена *BDNF* (rs6265), поліморфізму гена *VDR* (rs2228570) та поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) з тривожністю в пацієнтів з АІТ та гіпотиреозом та спрогнозували розвиток тривожних розладів у цій когорті. Згідно нашого

дослідження, наявність тривожних розладів чітко асоціює із SNP гена *BDNF* (rs6265): у носіїв *CC*-, *CT*-, та *TT*-генотипів тривожні розлади зустрічаються у 81 %, 84,4 % та 100 % випадків ( $p < 0,001$ ). Залежності тривожності від алельного стану генів *VDR* (rs2228570) і *NMDA* (rs4880213) не встановили. Також ми встановили, що майже в половини пацієнтів із патологією ЩЗ (47,37 %), носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), діагностовано найвищий рівень тривожності – «тривогу» за шкалою Гамільтона, що було в 3,59 раза частіше, ніж в осіб із *CC*-генотипом ( $p < 0,001$ ). При цьому рівень тривоги за бальною шкалою у хворих із *T*-алелем перевищував такий у носіїв *CC*-генотипу на 32,75 % і 37,29 % ( $p < 0,001$ ), найсильніше за гіпотиреозу, особливо за АІТ з гіпотиреозом, – на 42,83 % і 51,27 % відповідно ( $p < 0,001$ ).

Різні генетичні дослідження були зосереджені на впливі поліморфізму *BDNF* на функції мозку і поведінки здорових людей, а також на патологічних станах, особливо нервово-психічних розладах [172]. Деякі результати, пов'язані з дослідженнями на тваринах, доводять, що *BDNF* може сприяти функціональним змінам, які супроводжують тривожні розлади. Згідно з нашим дослідженням, при порівнянні наявної тривожності за шкалою Гамільтона були виявлені статистично значущі відмінності, залежно від поліморфізму гена *BDNF* (rs6265) ( $p < 0,001$ ). При порівнянні тривожності за шкалою Гамільтона в пацієнтів з різною патологією ЩЗ залежно від генотипу поліморфізму rs6265 були виявлені найвищі бали в носіїв генотипів *TT* і *CT* в експериментальній групі пацієнтів, порівняно з носіями генотипу *CC*.

Через неоднозначні результати зв'язок між поліморфізмом *BDNF Val66Met* і панічним розладом видається суперечливим [92, 305]. Мета-аналіз шести досліджень не виявив значущої кореляції між поліморфізмом і панічним розладом у домінантній моделі [90], хоча в рецесивній моделі був виявлений помітний зв'язок між поліморфізмом *BDNF Val66Met* та панічним розладом.

Протягом останніх трьох десятиліть у багатьох публікаціях було описано складну взаємодію між активацією периферичного імунітету, нейрозапаленням та змінами в мозку, які можуть призвести до депресії та тривоги [124]. Завдяки цьому вітамін D відомий як регулятор вродженого і адаптивного імунітету [80]. Отже, вітамін D може позитивно впливати на поведінку людини завдяки його здатності регулювати імунні реакції периферичної та центральної нервової системи.

На відміну від досліджень, які доводять, що депресія залежить від вітаміну D, тільки в деяких публікаціях підкреслюється зв'язок тривожних розладів із рівнем вітаміну D [19]. Деякі з них навіть заперечують зв'язок дефіциту вітаміну D з тривогою або стресом [58].

Всупереч висновкам, запропонованим Блеком та ін. (2014), повідомлялося про зв'язок дефіциту вітаміну D як з депресією, так і з тривожними розладами без будь-яких істотних відмінностей у досліджуваних групах [46].

Також ми дослідили прогностичну цінність рівнів ряду гормонів та білків у плазмі крові як потенційних маркерів тривожних розладів. Нами було встановлено, що рівень тривоги сильно зворотно корелює з вмістом BDNF крові ( $r=-0,783$ ;  $p<0,001$ ) та помірно залежить від концентрації вільного T4 і холекальциферолу 25(OH)D ( $r=-0,620$ ;  $p<0,001$  і  $r=-0,407$ ;  $p<0,001$ , відповідно). Окрім того, встановили прямий помірної сили зв'язок тривожності з вмістом у сироватці GRIN2B, ТТГ, АТПО ( $r=0,352-0,582$ ;  $p<0,001$ ) і, дещо слабше, із АТТГ ( $r=0,201$ ;  $p=0,01$ ). Також ROC-аналіз підтвердив високу чутливість і специфічність показника тривожності залежно від рівнів BDNF (Se-73,2 %, Sp-100 %; площа під кривою ROC (AUC):  $0,884 \pm 0,051$ ; 95 % ДІ: 0,784-0,985;  $p<0,001$ ), GRIN2B (Se-59,6 %, Sp-72,7 %; AUC:  $0,646 \pm 0,066$ ; 95 % ДІ: 0,517-0,776;  $p=0,045$ ), ТТГ (Se-59,6 %, Sp-100,0 %; AUC:  $0,764 \pm 0,044$ ; 95 % ДІ: 0,679-0,850;  $p<0,001$ ), вільного T4 (Se-61,0 %, Sp-100,0 %; AUC:  $0,843 \pm 0,050$ ; 95 % ДІ: 0,746-0,941;  $p<0,001$ ), АТПО (Se-87,5 %, Sp-88,5 %; AUC:  $0,922 \pm 0,022$ ; 95 % ДІ: 0,879-0,964;

$p < 0,001$ ), АТТГ (Se-82,4 %, Sp-96,2 %; AUC:  $0,894 \pm 0,026$ ; 95 % ДІ: 0,842-0,945;  $p < 0,001$ ) і 25(OH)D (Se-98,6 %, Sp-76,7 %; AUC:  $0,900 \pm 0,039$ ; 95 % ДІ: 0,825-0,976;  $p < 0,001$ ).

Згідно з дослідженнями, вищі рівні ТТГ пов'язані з депресією і тривогою [392]. Більшість досліджень, які зосереджені на оцінці симптомів, пов'язаних із тривогою, в різних популяціях, вказують на сильний зв'язок між низьким рівнем вітаміну D і тривогою [8, 104, 447]. Водночас є деякі дані, що свідчать про відсутність зв'язку між симптомами тривоги і рівнем сироваткового вітаміну D [334].

Ми встановили, що гіповітаміноз 25(OH)D на рівні «недостатність» і «дефіцит», а також знижений рівень BDNF супроводжуються розвитком тривожності в 92,1 %, 98,7 % ( $p < 0,001$ ) та 90,6 % ( $p = 0,004$ ) пацієнтів із патологією ЩЗ, відповідно. Тривожність з'являється незалежно від концентрації GRIN2B крові: за зниженого рівня – у 93,8 % хворих, за підвищеного – у 100 % обстежених. Шанси тривоги зростають у понад 23 рази за наявності АІТ (95 % ДІ: 8,914-63,175;  $p < 0,001$ ).

На наступному етапі ми вивчили зв'язок між поліморфізмом генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) і *NMDA* (rs4880213) з депресією в пацієнтів з АІТ та гіпотиреозом. Згідно нашого дослідження, депресивні розлади за шкалою Гамільтона вірогідно частіше розвиваються в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), ніж *CC*-генотипу на 28,22 %: 87,72 % проти 59,50 % ( $\chi^2 = 14,31$ ;  $p < 0,001$ ), особливо середньо-тяжкі форми – на 49,10 % (77,19 % випадків проти 28,10 %,  $\chi^2 = 37,93$ ;  $p < 0,001$ ). Поява депресії не асоціює з алельним станом генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213). Рівень депресії за шкалою Гамільтона вірогідно вище в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) незалежно від групи спостереження: у контролі – на 57,31 % ( $p < 0,001$ ) і 76,89 % ( $p = 0,013$ ), у дослідній групі – на 51,17 % ( $p < 0,001$ ) і 61,79 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наявність патології ЩЗ посилює депресію в 1,62-3,77 рази ( $p \leq 0,009$ ) із найвищими балами за АІТ.



Сучасна нейротрофічна гіпотеза стверджує, що депресія сприяє зниженню експресії нейротрофінів і пригніченню нейрогенезу в мозку [143]. BDNF є важливим фактором росту нейронів у мозку, що регулює нейрогенез, дозрівання нейронів, виживання та синаптичну пластичність. Низькі рівні BDNF були виявлені в мозку пацієнтів із депресією [11]. Також стверджувалося, що депресія пов'язана зі втратою нейрональних клітин у певних ділянках мозку, таких як гіпокамп та кора головного мозку [380].

Що стосується важливої ролі BDNF у мозку, то різні генетичні дослідження зосереджені на впливі поліморфізму BDNF на функції мозку та поведінку в здорових людей та людей з нервово-психічними розладами [172].

Зменшення обсягів гіпокампа в пацієнтів із депресією підтверджує гіпотезу про те, що депресія пов'язана зі зниженим рівнем нейротрофічних факторів, які регулюють пластичність нейронів у дорослому мозку [350].

ROC-аналіз підтвердив в якості прогностичних предикторів появи депресивних порушень наступні серологічні маркери: рівні BDNF (Se-74,5 %, Sp-100 %; площа під кривою ROC (AUC):  $0,900 \pm 0,044$ ; 95 % ДІ: 0,814-0,985;  $p < 0,001$ ), ТТГ (Se-65,0 %, Sp-95,6 %; AUC:  $0,770 \pm 0,037$ ; 95 % ДІ: 0,697-0,844;  $p < 0,001$ ), вільного Т4 (Se-68,4 %, Sp-93,3 %; AUC:  $0,797 \pm 0,043$ ; 95 % ДІ: 0,713-0,881;  $p < 0,001$ ), АТПО (Se-86,3 %, Sp-53,3 %; AUC:  $0,745 \pm 0,040$ ; 95 % ДІ: 0,667-0,822;  $p < 0,001$ ) та 25(OH)D (Se-64,8 %, Sp-75,0 %; AUC:  $0,791 \pm 0,039$ ; 95 % ДІ: 0,714-0,868;  $p < 0,001$ ).

Окрім того, було встановлено, що ймовірність депресії зростає в таких пацієнтів за зниження концентрації BDNF крові в 3,29 раза (95 % ДІ: 1,130-9,597;  $p = 0,025$ ). Кореляційний аналіз показав помірний зворотний зв'язок між депресією і рівнями BDNF ( $r = -0,612$ ;  $p < 0,001$ ), вТ4 ( $r = -0,442$ ;  $p < 0,001$ ) та 25(OH)D ( $r = -0,376$ ;  $p < 0,001$ ). Також було виявлено пряму помірну кореляцію між депресією і рівнями ТТГ у крові ( $r = 0,434$ ;  $p < 0,001$ ), а також

слабкий прямий зв'язок між депресією і рівнями АТПО ( $r=0,284$ ;  $p<0,001$ ), АТТГ ( $r=0,156$ ;  $p=0,048$ ) та GRIN2B ( $r=0,228$ ;  $p=0,043$ ).

Недавні дослідження описали зв'язок між дефіцитом 25(OH)D та депресивними розладами [15, 153, 239, 273, 373]. Рецептори вітаміну D широко поширені в центральній нервовій системі системи, а також інших тканин і впливають на розвиток мозку в ранньому дитинстві та функцію мозку дорослого [518]. Вітамін D ініціює синтез серотоніну шляхом активації транскрипції його гена [403], змінює виробництво та вивільнення нейротрофічних факторів через мембрано-асоційований і ядерний рецептори вітаміну D у нейрональних і ненеурональних клітинах центральної нервової системи [518]. Низький рівень вітаміну D сприяє розвитку депресивних розладів [157, 403].

Нами було встановлено, що у хворих на патологію ЩЗ на тлі недостатності, чи дефіциту вітаміну D в крові ризик депресії збільшується в понад 90 разів (95 % ДІ: 11,82-696,53;  $p<0,001$ ), що особливо посилюється на тлі дефіциту 25(OH)D – у 161 раз (95 % ДІ: 19,54-1323,5;  $p<0,001$ ).

Зростаюча кількість досліджень свідчить про те, що пацієнти з патологією ЩЗ можуть страждати від когнітивних порушень [498], і їх виникнення насамперед пов'язують зі змінами рівня BDNF, який бере участь у навчанні та пам'яті [439]. BDNF безпосередньо регулюється гормонами ЩЗ і відіграє важливу роль у розвитку мозку плода [222]. BDNF експресується в різних клітинах, включаючи нейрони, і може долати гематоенцефалічний бар'єр [419]. Попереднє дослідження продемонструвало позитивну кореляцію між рівнями BDNF та функцією центральної та периферичної нервової системи [526]. Крім того, BDNF, що експресується в мозку, бере участь у розвитку психічних розладів, і дослідження показують, що периферичний BDNF потенційно може бути використаний як маркер цих захворювань у людей [116, 226, 409, 453]. Ці зміни в експресії генів можуть відігравати певну роль у розвитку психоневрологічних ускладнень, пов'язаних із патологією ЩЗ. Rs6265

гену *BDNF* викликає зміну амінокислоти з валіну на метіонін у кодоні 66 (*Val66Met*), який розташований у продоміні *BDNF*. Було продемонстровано, що поліморфізм *Val66Met* впливає на транспорт *BDNF* і знижує його секрецію [145]. Деякі відповідні дослідження виявили зв'язок між поліморфізмом *Val66Met* і зменшенням обсягів сірої речовини гіпокампа і префронтальної ділянки, спричиняючи аномальну активність гіпокампа, порушення когнітивних функцій, а також зниження пам'яті та виконавчої функції [383].

У подальшій нашій роботі ми визначали фактори ризику, які можуть вплинути на наявність когнітивних порушень, та аналізували асоціації поліморфізмів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) з когнітивними порушеннями в пацієнтів із тиреоїдною патологією та прогнозували розвиток когнітивних розладів у цих осіб.

Згідно з нашим дослідженням, когнітивні порушення у хворих на патологію ЩЗ асоціюють із SNP поліморфізмом (rs6265) гена *BDNF*: у носіїв *T*-алеля когнітивна функція порушується частіше загалом на 51,69 % і глибше за даними MMSE тесту (помірні переддементні зміни трапляються частіше на 38,28 %, деменція легкого ступеня – на 13,44 %), ніж у таких із *CC*-генотипом (64,91 % проти 13,22 %,  $\chi^2=49,51$ ;  $p<0,001$ ). Частота і ступінь когнітивних девіацій не залежать від алельного стану генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).

Також нами було встановлено, що прогностичними предикторами появи когнітивної дисфункції за даними ROC-аналізу є наступні серологічні маркери: вміст у крові *BDNF* (Se-83,3 %, Sp-80 %; площа під кривою ROC (AUC):  $0,864 \pm 0,042$ ; 95 % ДІ: 0,781-0,947;  $p<0,001$ ), ТТГ (Se-80,4 %, Sp-67,6 %; AUC:  $0,726 \pm 0,045$ ; 95 % ДІ: 0,637-0,814;  $p<0,001$ ), вільного Т4 (Se-86,3 %, Sp-59,5 %; AUC:  $0,713 \pm 0,041$ ; 95 % ДІ: 0,632-0,793;  $p<0,001$ ) та 25(OH)D (Se-54,7 %, Sp-60,8 %; AUC:  $0,622 \pm 0,044$ ; 95 % ДІ: 0,536-0,709;  $p=0,01$ ).

Функціональні наслідки гіпотиреозу в дорослих включають нездатність виробляти тривалу потенціацію в гіпокампі щурів і погіршення навчання та пам'яті як у щурів, так і в людини. Зменшення рівня гормонів щитоподібної залози призвело до зниження експресії мРНК *NR1* виключно в гіпокампі. На думку авторів, регулювання експресії мРНК *NR1* і *NR2B* гормоном щитоподібної залози є новим механізмом для пояснення зв'язку між гормоном щитоподібної залози та когнітивною функцією [311]. Ми не виявили суттєвих відмінностей між поліморфізмом гена *NMDA* (rs4880213) і когнітивними порушеннями, за даними тесту MMSE. Натомість ми виявили помірну зворотну кореляцію при порівнянні когнітивних порушень за шкалою MMSE і рівня *GRIN2B* ( $p=0,003$ ).

Наступним етапом нашої роботи було вивчення впливу холекальциферолу на активність гормонів ЩЗ, гуморальні маркери нейротрансмісії, когнітивні функції, депресію та тривогу в пацієнтів на АІТ з гіпотиреозом.

У нашому дослідженні, при комплексному лікуванні пацієнтів на АІТ з гіпотиреозом відмічалось зниження ТТГ у 1,78 і 1,82 раза ( $p<0,05$ ), підвищення та нормалізація рівня вільного Т4 ( $p<0,05$ ) і зростання BDNF – у 7,4 і 2,1 раза ( $p\leq 0,045-0,001$ ), вагоміше на тлі прийому поєднання холекальциферолу та L-тироксину, а також зниження вмісту АТПО і АТТГ – на 31,25 % і 18,84 % відповідно ( $p<0,05$ ). Під впливом терапії підвищилась концентрація 25(OH)D у крові хворих у 2,22 раза ( $p<0,001$ ), але тільки у пацієнтів, які приймали холекальциферол та L-тироксин.

У відкритому рандомізованому контрольованому дослідженні додавання холекальциферолу по 60 000 ОД один раз на тиждень протягом 8 тиж приводило до значного зниження АТПО, порівняно з контрольною групою. У цьому дослідженні аналіз підгруп показав, що лікування вітаміном D у пацієнтів з початковим рівнем ТТГ нижче 10 мМО/л забезпечувало значне зниження титрів АТПО, тоді як у пацієнтів із початковим рівнем ТТГ

вище 10 мМО/л не було виявлено статистично значущого зниження титрів АТПО [88].

В іншому дослідженні типу «випадок-контроль», яке включало 218 пацієнтів з ТХ, що отримували холекальциферол протягом 4 місяців, встановлено значну негативну залежність між рівнями 25(OH)D у сироватці крові та АТПО. Зокрема, в 186 пацієнтів з ТХ та дефіцитом 25(OH)D рівень АТПО був значно вищим, порівняно з 32 пацієнтами з ТХ без дефіциту 25(OH)D ( $p < 0,0001$ ) [144, 351]. Додавання холекальциферолу до лікування 186 пацієнтів з дефіцитом 25(OH)D призвело до значного зниження на 20,3 % рівня АТПО у сироватці крові. Після 4-місячного періоду дослідження спостерігалось зниження сироваткових рівнів АТТГ і ТТГ на 5,3 % і 4 % відповідно, хоча ці зниження не досягли статистичної значущості.

Також попередні дослідження показали, що вітамін D має потужний нейропротекторний ефект через кілька незалежних механізмів [185]. Нейропротекторна дія вітаміну D пов'язана з регуляцією нейротрофінів, які важливі для виживання, диференціювання та підтримки нервових клітин як периферичної, так і центральної нервової системи [132]. Вітамін D стимулює експресію *NGF*, *BDNF*, *NT3*, гліального нейротрофічного фактора, а також рецептора *p75NTR* у нейронах, гліальних клітинах і шванівських клітинах, що, ймовірно, лежить в основі нейропротекторного ефекту вітаміну D при ішемії мозку та нейродегенеративних розладах [132]. У цілому, фізіологічні ефекти вітаміну D на функції мозку включають стимулювання нейрогенезу, синаптогенезу, нейротрансмісії та запобігання загибелі нейронів. Тому не дивно, що обсерваційні дослідження задокументували зв'язок між вищими концентраціями вітаміну D у сироватці крові та кращим когнітивним функціонуванням [18].

Імуномодулюючі властивості вітаміну D є ще одним механізмом його активності як імуносупресанта для захисту нейронів [284]. Повідомлялося, що вітамін D сприяє міграції та диференціації попередників олігодендроцитів

і посилює ремієлінізацію нейронів для покращення нейротрансмісії у хворих щурів [196].

Вважають, що вітамін D є потенційним модулятором нейрогенезу [166]. Вітамін D стимулює вироблення NGF у гіпокампі, що сприяє росту нейритів, одночасно пригнічуючи клітинну проліферацію [347]. Було виявлено, що 1,25(OH)2D3 збільшує експресію *NT-3*, *NGF* і *GDNF* у нервових клітинах [72, 378].

У нашому дослідженні ми встановили, що додавання вітаміну D до стандартної терапії змінює транскрипційний профіль клітин крові в пацієнтів з первинним гіпотиреозом внаслідок АІТ – експресія генів *BDNF*, *FAS*, *FGF2*, *HSPB1*, *IL10*, *NGF*, *NGFR*, *NRG1*, *NTF3*, *NTF4*, *TGFB1* і *TP53* зростали в 3,93-37,96 рази ( $p \leq 0,039-0,001$ ), а експресія генів *BAX*, *GDNF*, *CD40*, *FOS*, *GDNF*, *GFRA1*, *IL1B* і *STAT3* знизилась у 4,43-35,85 рази ( $p \leq 0,021-0,001$ ) відповідно.

Згідно досліджень, добавки вітаміну D значно збільшують експресію *BDNF*, *NGF* та пов'язаних з ними рецепторів (TrkA та TrkB) [36]. Було показано, що введення вітаміну D значно збільшувало вироблення NGF у первинних культурах гіпокампа і кортикальних нейронах [187]. Крім того, було висловлено припущення, що антивікові та антиоксидантні ефекти вітаміну D опосередковані геном *Nrf2* [91]. Споживання вітаміну D збільшує експресію білків та нейротрофічних факторів, які беруть участь у синаптичній пластичності та підтриманні нормальної функції нейронів [156].

Нижчий рівень 25(OH)D сильно пов'язаний зі зниженням когнітивних функцій і нейродегенеративними захворюваннями [18]. Крім того, дослідження щодо прийому вітаміну D підтвердили позитивний вплив на окремі когнітивні сфери, зокрема на зорову та робочу пам'ять. Установлено роль добавок вітаміну D у запобіганні когнітивної деградації, зокрема в похилому віці та при хворобі Альцгеймера [81, 218, 232, 452].

В нашій роботі комбінована терапія холекальциферолом і L-тироксином сприяла покращенню когнітивних функцій. За даними тесту

MMSE на 28,6 % зменшилась відносна кількість пацієнтів із помірними (переддементними) когнітивними порушеннями та нормалізувалася когнітивна функція в кожного третього пацієнта (78,6 %).

Низький рівень вітаміну D також пов'язаний із посиленням симптомів депресії та тривоги [6, 397]. Мета-аналіз 25 досліджень (n=7534), які оцінювали ефективність добавок вітаміну D при депресії, показав, що вітамін D був ефективним в осіб із великим депресивним розладом і рівнями 25(OH)D у плазмі крові  $\leq 50$  нмоль/л. Цей ефект був досягнутий шляхом прийому холекальциферолу в дозі менш ніж 4000 МО протягом  $\geq 8$  тижнів [101]. Рандомізоване контрольоване клінічне випробування, яке оцінювало прийом добавок вітаміну D при тривожних розладах, показало, що 1600 мг вітаміну D протягом 6 місяців зменшував симптоми тривоги [544].

Дані, які ми отримали, показали, що рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, а рівень тривожності – на 48,27 % ( $p < 0,001$ ), збільшилась кількість пацієнтів зі зниженими проявами депресії на 50 % і тривожних розладів / тривоги – на 14,2 %, чи їх повною відсутністю (у 21,4 % і 42,9 % випадків, відповідно), що було статистично значуще краще, ніж за ізольованого прийому L-тироксину.

Таким чином, лікування препаратами холекальциферолу виявилось ефективнішим, ніж лікування тільки L-тироксинам. Ураховуючи значне зниження рівня тиреоїдних автоантитіл і відсутність повідомлень про небажані ефекти під час терапії вітаміном D, лікування вітаміном D може бути правильним вибором для хворих на АІТ з гіпотиреозом, особливо пацієнтів з дефіцитом вітаміну D.

Отже, як засвідчують наші результати, отримані нові дані, які пояснюють деякі патогенетичні механізми формування психоневрологічних порушень при захворюваннях ЩЗ, дають можливість виокремити групи ризику, залежно від генотипів і комбінацій генотипів аналізованих генів, оптимізувати діагностику і провести корекцію лікування з урахуванням

індивідуального генотипу аналізованих генів, у межах діючих клінічних протоколів і рекомендацій, що підкреслює вагомое прикладне значення зазначеного дослідження.

Отримані нами результати підтверджують перспективність подальшого пошуку індивідуальних генетичних факторів ризику психоневрологічних порушень при тиреоїдній патології та пов'язаних з ними клінічних проявів. У подальшому скринінг варіантних ділянок генів-кандидатів дозволить виявити більшу кількість асоціативних зв'язків між алельними варіантами поліморфних сайтів ДНК і схильністю до когнітивних порушень, депресії та тривоги тощо, зокрема, з метою розробки профілактичних заходів. Поглиблення знань про генетичну складову в розвитку психоневрологічних порушень дасть можливість заздалегідь запобігти їх виникненню шляхом прогнозування та покращити методи лікувальної тактики цих пацієнтів.



## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене нове, науково-обґрунтоване теоретичне узагальнення результатів дослідження і сучасне вирішення актуальної проблеми в галузі 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія – з'ясування молекулярно-генетичних механізмів і закономірностей розвитку психоневрологічних порушень у пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози: прогнозування їх виникнення, патогенетична корекція.

1. Патологія щитоподібної залози супроводжується розвитком депресивних станів та підвищеного рівня тривожності: за післяопераційного та за гіпотиреозу, зумовленого автоімунним тиреоїдитом, домінує депресія помірної тяжкості (54,3 % і 62,9 %) із середньою і помірною тривожністю на паритетних засадах, тоді як за ізольованого автоімунного тиреоїдиту – депресія відсутня майже в половини обстежених (44,3 %), чи має легкий перебіг (39,6 %) із мінімальною, чи помірного рівня тривожністю (11,3 % і 84,9 % проти 3,8 %,  $p < 0,001$ ) відповідно. Когнітивні порушення (переддементні, чи легку деменцію) встановили майже в половини хворих на гіпотиреоз (післяопераційний, чи автоімунний), що було в 3,5 рази частіше, аніж у таких із автоімунним тиреоїдитом без гіпотиреозу (50,22 % проти 14,2 %,  $p < 0,001$ ). Перебіг гіпотиреозу (післяопераційний та зумовлений автоімунним тиреоїдитом) характеризується зниженням у сироватці крові рівнів BDNF у 3,34 і 3,15 рази, в T4 – у 2,6 і 2,2 рази ( $p < 0,001$ ), зростанням та різноспрямованими змінами концентрації GRIN2B: зменшенням у хворих на післяопераційний гіпотиреоз у 3,45 рази ( $p < 0,001$ ) і зростанням у пацієнтів із автоімунним тиреоїдитом на тлі гіпотиреозу – у 1,58 рази ( $p < 0,001$ ). Установлено зниження вмісту 25(OH)D – у 1,8-2,03 рази ( $p < 0,001$ ).

2. У хворих на тиреоїдну патологію мешканців Північної Буковини мутації генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у гомозиготному стані зустрічаються із частотою 6,54 %, 19,61 % і 21,57 %

відповідно, що не відрізняється статистично значимо від групи контролю. Тиреоїдна патологія в обстежених успадковується за аутосомно-рецесивним типом із інформаційним критерієм Акайке 14,49-16,39. Відносна частота поліморфних варіантів генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570), *NMDA* (rs4880213) між здоровими та хворими з урахуванням виду захворювань щитоподібної залози вірогідно не відрізняється. Комбінація мінорних алелей аналізованих генів у гетеро- і/чи гомозиготному вигляді (*CT* / *GG* / *CT*, чи *CT* / *AG* / *CT*, чи *CT* / *AG* / *TT*) підвищує ризик появи когнітивних порушень у понад 5-10 разів, особливо за гомозиготної мутації гена *NMDA* (OR=5,19-10,12;  $p=0,021-0,028$ ), зменшує ймовірність розвитку клінічно значимої тривожності (помірний/тяжкий ступінь) [OR=0,12;  $p=0,034$ ], без впливу на появу депресивних станів. Натомість поєднання диких алелей у гомо- і/чи гетерозиготному стані, особливо генів *BDNF* і *NMDA* (*CC* / *AG* / *CC*) вірогідно зменшує ризик розвитку когнітивних порушень (OR=0,14;  $p=0,042$ ).

3. Рівень нейротрофічного фактора BDNF у сироватці крові чітко залежить від поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) як у хворих на патологію щитоподібної залози, так і практично здорових, знижуючись вірогідно у носіїв мутаційного *T*-алеля, особливо *TT*-генотипу: у пацієнтів – у 2,15-3,24 рази ( $p\leq 0,037-0,001$ ), у групі контролю – у 1,38-2,07 рази ( $p\leq 0,044-0,001$ ). Концентрація BDNF крові коливається в межах референтних значень у практично здорових і хворих на автоімунний тиреоїдит, із помірним та вагомим його зниженням за гіпотиреозу (післяопераційного та унаслідок автоімунного тиреоїдиту) у 1,25-3,54 рази за кожним генотипом аналізованих генів окремо ( $p\leq 0,01-0,001$ ): сильніше в носіїв *TT*-варіанту гена *BDNF* (rs6265) – у 3,14-3,35 рази ( $p\leq 0,006-0,001$ ) і власників *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) – у 2,61-3,92 рази ( $p<0,001$ ). Наявність *T*-алеля гена BDNF у генотипі хворих на патологію щитоподібної залози підвищує ризик низької продукції BDNF (<500 пг/мл) майже в 10 разів (OR=9,98;  $p<0,05$ ). Вміст BDNF крові прямо корелює з рівнями вТ4, АТТГ і 25(OH)D ( $r=0,32-0,68$ ;  $p\leq 0,016-0,001$ ), зворотно з ТТГ ( $r=-0,69$ ;  $p<0,001$ ); концентрація вітаміну

25(OH)D прямо впливає на вміст GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ ( $r=0,25-0,63$ ;  $p \leq 0,016-0,001$ ). Досліджувані захворювання щитоподібної залози супроводжуються гіповітамінозом холекальциферолу (25(OH)D), що вірогідно посилюється за гіпотиреозу (післяопераційного та зумовленого автоімунним тиреоїдитом), особливо в носіїв основного *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) у 1,82-2,0 рази ( $p < 0,001$ ). Концентрація медіатора нейротропної активності NR2B-субодиниці глутаматного N-метилD-аспартату рецептора в крові вірогідно знижується за післяопераційного гіпотиреозу у власників усіх генотипів гена *NMDA* (rs4880213) у 3,22-3,65 рази ( $p < 0,001$ ), зростає за автоімунного тиреоїдиту з гіпотиреозом – у 1,52-1,66 рази ( $p < 0,001$ ), підвищуючи клінічну ймовірність розвитку судом, психотичної нестабільності, втрату пам'яті і когнітивних розладів.

4. Аналіз транскриптому виявив низку диференційно-експресованих генів, асоційованих з нейротрофінами та їх рецепторами, передачею нервових імпульсів, нейрогенезом, нейропептидами, процесами апоптозу та імунної відповіді: у хворих усіх трьох груп у клітинах крові спостерігалась транскрипційна репресія генів *NGF*, *NGFR*, *GFRA2*, *NRG1*, *NTF3*. Пацієнти з післяопераційним і гіпотиреозом унаслідок автоімунного тиреоїдиту демонструють знижену експресію генів *BDNF*, *CBLN1*, *GFRA1*, *FGF2*, *GMFB*, *STAT1*, *IL6*, *VGF* і підвищену – *NTRK1-2*, *NPY1R*, *BCL2*, *BAX*.

5. Майже у половини пацієнтів із патологією щитоподібної залози (47,37 %) носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) діагностовано найвищий рівень тривожності – «тривогу», що було у 3,59 рази частіше, а її рівень за бальною шкалою Гамільтона на 32,75 % і 37,29 % вище, ніж в осіб із *CC*-генотипом ( $p < 0,001$ ), особливо за гіпотиреозу спричиненого автоімунним тиреоїдитом – на 42,83 % і 51,27 % відповідно ( $p < 0,001$ ). Рівень тривоги зворотно корелює з концентрацією *BDNF* крові, вільного Т4 і холекальциферолу 25(OH)D ( $r = -0,407$  /  $-0,783$ ;  $p < 0,001$ ) і прямо залежить від сироваткового рівня GRIN2B, ТТГ, АТПО і АТТГ ( $r = 0,201$  -  $0,582$ ;  $p \leq 0,01$  -  $0,001$ ). ROC-аналіз підтвердив високу чутливість і специфічність показника тривожності

залежно від вмісту BDNF, GRIN2B, ТТГ, вільного Т4, АТПО, АТТГ і 25(OH)D ( $p \leq 0,045-0,001$ ). Модель багатофакторного множинного лінійного регресійного аналізу додатково підтвердила прогностичний вплив сироваткових концентрацій BDNF, GRIN2, вільного Т4, АТТГ і 25(OH)D на рівень «тривоги» із коефіцієнтами детермінації  $R^2=84,7\%$ , кореляції  $r_{xy}=0,9$  ( $p < 0,001$ ).

6. Гіповітаміноз 25(OH)D на рівні «недостатність» і «дефіцит», а також знижений рівень BDNF супроводжуються розвитком тривожності в 92,1 %, 98,7 % ( $p < 0,001$ ) та 90,6 % ( $p = 0,004$ ) пацієнтів із патологією щитоподібної залози, відповідно. Тривожність з'являється незалежно від концентрації GRIN2B крові: за зниженого рівня – у 93,8 % хворих, за підвищеного – у 100 % обстежених. Шанси тривоги зростають у понад 23 рази за наявності аутоімунного тиреоїдиту (95 % ДІ: 8,914-63,175;  $p < 0,001$ ).

7. Депресивні розлади вірогідно частіше розвиваються у носіїв T-алеля гена *BDNF* (rs6265) на 28,22 % ( $\chi^2=14,31$ ;  $p < 0,001$ ), особливо середньо-тяжкі форми – на 49,10 % ( $\chi^2=37,93$ ;  $p < 0,001$ ). Поява депресії не асоціює з алельним станом генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213). Рівень депресії вірогідно вище у носіїв T-алеля гена *BDNF* (rs6265) незалежно від групи спостереження: у контролі – на 57,31 % і 76,89 % ( $p \leq 0,013-0,001$ ), у дослідній групі – на 51,17 % і 61,79 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Наявність патології ЩЗ посилює депресію в 1,62-3,77 рази ( $p \leq 0,009$ ) із найвищими балами за аутоімунного тиреоїдиту. ROC-аналіз підтвердив в якості прогностичних предикторів появи депресивних порушень такі серологічні маркери, як BDNF, ТТГ, вільний Т4, АТПО та 25(OH)D ( $p < 0,001$ ). Рівень депресії зворотно помірно корелює з концентрацією в крові BDNF, вільного Т4 та 25(OH)D ( $r = -0,612$ – $-0,376$ ;  $p < 0,001$ ), прямо слабо залежить від концентрації GRIN2B, АТПО, АТТГ ( $r = 0,156-0,284$ ;  $p \leq 0,043-0,001$ ) і, дещо сильніше, від вмісту ТТГ ( $r = 0,434$ ;  $p < 0,001$ ). Шанси депресії зростають за гіпотиреозу в 31,3 рази, за аутоімунного тиреоїдиту – у 4,63 рази ( $p < 0,001$ ). У хворих на патологію щитоподібної залози на тлі недостатності вітаміну D у крові ризик

депресії збільшується в понад 90 разів ( $p < 0,001$ ), на тлі дефіциту 25(OH)D – у 161 раз ( $p < 0,001$ ), а за зниження сироваткової концентрації BDNF – у 3,29 раза ( $p = 0,025$ ) відповідно.

8. Когнітивні порушення у хворих на тиреоїдну патологію асоціюють із SNP поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265): у носіїв *T*-алеля когнітивна функція порушується частіше загалом на 51,69 % і глибше за даними MMSE тесту (помірні переддементні зміни трапляються частіше на 38,28 %, деменція легкого ступеня – на 13,44 %), ніж у таких із *CC*-генотипом ( $\chi^2 = 49,51$ ;  $p < 0,001$ ). Частота і ступінь когнітивних девіацій не залежать від алельного стану генів *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213). Клінічний перебіг патології щитоподібної залози за гіпотиреозу (післяопераційного, чи автоімунного) супроводжується гіршими / нижчими показниками когнітивної функції, ніж у хворих із автоімунним тиреоїдитом без гіпотиреозу, особливо в носіїв *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265), на 5,60-19,23 % ( $p < 0,05$ ). Ризик когнітивних порушень за гіпотиреозу зростає у 7,26 раза ( $p < 0,001$ ). Прогностичними предикторами появи когнітивної дисфункції за даними ROC-аналізу є вміст у крові BDNF, ТТГ, вільного Т4 та 25(OH)D ( $p \leq 0,01-0,001$ ). Тяжкість когнітивних порушень у хворих на патологію щитоподібної залози зворотно помірно корелює з концентрацією в крові GRIN2B, ТТГ і, дещо слабше, з АТПО та АТТГ ( $r = -0,455$ –/ $-0,166$ /;  $p \leq 0,035-0,001$ ), прямо сильно залежить від рівнів BDNF, дещо слабше – від вмісту вільного Т4 та 25(OH)D ( $r = 0,275-0,714$ ;  $p < 0,001$ ), відповідно. Багатофакторний регресійний аналіз підтвердив збільшення шансів на когнітивні розлади в обстежених за зростання вмісту GRIN2B у крові та наявності у хворих *T*-алеля гена *BDNF* (rs6265) – у 6,32 раза ( $p = 0,006$ ), 24,9 і 21,73 раза ( $p < 0,05$ ) відповідно.

9. Комплексне лікування хворих на автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом сприяло зниженню ТТГ у 1,78 і 1,82 раза ( $p < 0,05$ ), зростанню та нормалізації рівня вільного Т4 ( $p < 0,05$ ) і елевації BDNF – у 7,4 і 2,1 раза ( $p \leq 0,045-0,001$ ), вагомніше на тлі прийому поєднання холекальциферолу та L-

тироксину, а також зменшенню вмісту АТПО і АТТГ – на 31,25 % і 18,84 % відповідно ( $p < 0,05$ ). Під впливом терапії збільшилась концентрація 25(OH)D у крові хворих у 2,22 раза ( $p < 0,001$ ), але тільки за вищезначеної комбінації препаратів. Додаткове призначення до лікування хворих на гіпотиреоз, зумовлений автоімунним тиреоїдитом вітаміну D призвело до зростання експресії окремих генів-регуляторів нейротрансмісії та нейрогенезу: *BDNF*, *FAS*, *FGF2*, *HSPB1*, *IL10*, *NGF*, *NGFR*, *NRG1*, *NTF3*, *NTF4*, *TGFB1* і *TP53* – у 3,93-37,96 раза ( $p \leq 0,039-0,001$ ), а також зменшення транскрипційної активності генів *BAX*, *GDNF*, *CD40*, *FOS*, *GDNF*, *GFRA1*, *IL1B* і *STAT3* – у 4,43-35,85 раза ( $p \leq 0,021-0,001$ ) відповідно.

10. Терапевтичний курс поєднання холекальциферолу і L-тироксину сприяв покращенню когнітивних функцій та зниженню рівня депресії і тривоги: зменшилась відносна кількість хворих із помірними (переддементними) когнітивними порушеннями на 28,6 %, у кожного третього (78,6 %) когнітивні функції нормалізувались за даними MMSE тесту, знизився рівень депресії за шкалою Гамільтона на 40 %, а рівень тривожності на 48,27 % ( $p < 0,001$ ), збільшилась кількість осіб зі зниженими проявами депресії – на 50 % і тривожних розладів / тривоги – на 14,2 %, чи їх повною відсутністю (у 21,4 % і 42,9 % випадків, відповідно), що було вірогідно краще, ніж за ізольованого прийому L-тироксину.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Білоус П. Клінічні особливості полінейропатії у хворих на первинний гіпотиреоз. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018;14(4):409-410.
2. Білоус П, Павлович ЛБ. Особливості ураження нервової системи при первинному гіпотиреозі. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018;14(2):85-124.
3. Основні показники діяльності ендокринологічної служби України за 2020 рік. АМН та МОЗ України, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», 2015-2020 рр.
4. Чукур ОО. Динаміка захворюваності й поширеності патології щитоподібної залози серед дорослого населення України. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2019;(4):19-25. doi: 10.11603/1681-2786.2018.4.10020
5. Ajjan RA, Weetman AP. Cytokines in thyroid autoimmunity. Autoimmunity. 2003 Sep-Nov;36(6-7):351-9. doi: 10.1080/08916930310001603046.
6. Akpınar Ş, Karadağ MG. Is Vitamin D Important in Anxiety or Depression? What Is the Truth? Curr Nutr Rep. 2022 Dec;11(4):675-81. doi: 10.1007/s13668-022-00441-0.
7. Al-Amin M, Bradford D, Sullivan RKP, Kurniawan ND, Moon Y, Han SH, Zalesky A, Burne THJ. Vitamin D deficiency is associated with reduced hippocampal volume and disrupted structural connectivity in patients with mild cognitive impairment. Hum Brain Mapp. 2019 Feb 1;40(2):394-406. doi: 10.1002/hbm.24380.
8. Alavi NM, Khademalhosseini S, Vakili Z, Assarian F. Effect of vitamin D supplementation on depression in elderly patients: A randomized clinical trial. Clin Nutr. 2019 Oct;38(5):2065-70. doi: 10.1016/j.clnu.2018.09.011.

9. Alberch J, López M, Badenas C, Carrasco JL, Milà M, Muñoz E, Canals JM. Association between BDNF Val66Met polymorphism and age at onset in Huntington disease. *Neurology*. 2005 Sep 27;65(6):964-5. doi: 10.1212/01.wnl.0000175977.57661.b1.
10. Albin M, Krawczun-Rygmaczewska A, Cesca F. Astrocytes and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Res*. 2023 Feb 11:S0168-0102(23)00035-4. doi: 10.1016/j.neures.2023.02.001.
11. Allen AP, Naughton M, Dowling J, Walsh A, Ismail F, Shorten G, et al. Serum BDNF as a peripheral biomarker of treatment-resistant depression and the rapid antidepressant response: A comparison of ketamine and ECT. *J Affect Disord*. 2015 Nov 1;186:306-11. doi: 10.1016/j.jad.2015.06.033.
12. Alonso P, Gratacós M, Segalàs C, Escaramís G, Real E, Bayés M, et al. Association between the NMDA glutamate receptor GRIN2B gene and obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2012 Jul;37(4):273-81. doi: 10.1503/jpn.110109.
13. Alvarez-Dolado M, Iglesias T, Rodríguez-Peña A, Bernal J, Muñoz A. Expression of neurotrophins and the trk family of neurotrophin receptors in normal and hypothyroid rat brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 1994 Dec;27(2):249-57. doi: 10.1016/0169-328x(94)90007-8.
14. Alzoubi KH, Aleisa AM, Alkadhi KA. Adult-onset hypothyroidism facilitates and enhances LTD: reversal by chronic nicotine treatment. *Neurobiol Dis*. 2007 Apr;26(1):264-72. doi: 10.1016/j.nbd.2007.01.002.
15. Amini S, Jafarirad S, Abiri B. Vitamin D, testosterone and depression in middle-aged and elderly men: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021 Dec 14:1-12. doi: 10.1080/10408398.2021.2015284.
16. An J, Chen B, Tian D, Guo Y, Yan Y, Yang H. Regulation of Neurogenesis and Neuronal Differentiation by Natural Compounds. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2022;17(8):756-771. doi: 10.2174/1574888X16666210907141447.



17. Angelousi A, Kassi E, Nasiri-Ansari N, Weickert MO, Randeve H, Kaltsas G. Clock genes alterations and endocrine disorders. *Eur J Clin Invest*. 2018 Jun;48(6):e12927. doi: 10.1111/eci.12927.
18. Annweiler C. Vitamin D in dementia prevention. *Ann N Y Acad Sci*. 2016 Mar;1367(1):57-63. doi: 10.1111/nyas.13058.
19. Armstrong DJ, Meenagh GK, Bickle I, Lee AS, Curran ES, Finch MB. Vitamin D deficiency is associated with anxiety and depression in fibromyalgia. *Clin Rheumatol*. 2007 Apr;26(4):551-4. doi: 10.1007/s10067-006-0348-5.
20. Arnold PD, Macmaster FP, Richter MA, Hanna GL, Sicard T, Burroughs E, Mirza Y, Easter PC, Rose M, Kennedy JL, Rosenberg DR. Glutamate receptor gene (GRIN2B) associated with reduced anterior cingulate glutamatergic concentration in pediatric obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res*. 2009 May 15;172(2):136-9. doi: 10.1016/j.psychres.2009.02.005.
21. Artis AS, Bitiktas S, Taşkın E, Dolu N, Liman N, Suer C. Experimental hypothyroidism delays field excitatory post-synaptic potentials and disrupts hippocampal long-term potentiation in the dentate gyrus of hippocampal formation and Y-maze performance in adult rats. *J Neuroendocrinol*. 2012 Mar;24(3):422-33. doi: 10.1111/j.1365-2826.2011.02253.x.
22. Ashok T, Palyam V, Azam AT, Odeyinka O, Alhashimi R, Thoota S, Sange I. Relationship Between Vitamin D and Thyroid: An Enigma. *Cureus*. 2022 Jan 10;14(1):e21069. doi: 10.7759/cureus.21069.
23. Babić Leko M, Jureško I, Rozić I, Pleić N, Gunjača I, Zemunik T. Vitamin D and the Thyroid: A Critical Review of the Current Evidence. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 10;24(4):3586. doi: 10.3390/ijms24043586.
24. Baek JH, Kang ES, Fava M, Mischoulon D, Nierenberg AA, Lee D, et al. Thyroid stimulating hormone and serum, plasma, and platelet brain-derived neurotrophic factor during a 3-month follow-up in patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2014;169:112-7. doi: 10.1016/j.jad.2014.08.009

25. Bandelow B, Lichte T, Rudolf S, Wiltink J, Beutel ME. The diagnosis of and treatment recommendations for anxiety disorders. *Dtsch Arztebl Int*. 2014 Jul 7;111(27-28):473-80. doi: 10.3238/arztebl.2014.0473.
26. Banks WA, Farr SA, Morley JE. Entry of blood-borne cytokines into the central nervous system: effects on cognitive processes. *Neuroimmunomodulation*. 2002-2003;10(6):319-27. doi: 10.1159/000071472.
27. Barkus C, McHugh SB, Sprengel R, Seeburg PH, Rawlins JN, Bannerman DM. Hippocampal NMDA receptors and anxiety: at the interface between cognition and emotion. *Eur J Pharmacol*. 2010 Jan 10;626(1):49-56. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.10.014.
28. Barouch R, Appel E, Kazimirsky G, Braun A, Renz H, Brodie C. Differential regulation of neurotrophin expression by mitogens and neurotransmitters in mouse lymphocytes. *J Neuroimmunol*. 2000;103(2):112-21. doi: 10.1016/s0165-5728(99)00233-7.
29. Barreda Tomás FJ, Turko P, Heilmann H, Trimbuch T, Yanagawa Y, Vida I, Münster-Wandowski A. BDNF Expression in Cortical GABAergic Interneurons. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 25;21(5):1567. doi: 10.3390/ijms21051567.
30. Bath KG, Jing DQ, Dincheva I, Neeb CC, Pattwell SS, Chao MV, Lee FS, Ninan I. BDNF Val66Met impairs fluoxetine-induced enhancement of adult hippocampus plasticity. *Neuropsychopharmacology*. 2012 Apr;37(5):1297-304. doi: 10.1038/npp.2011.318.
31. Bath KG, Lee FS. Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cogn Affect Behav Neurosci*. 2006 Mar;6(1):79-85. doi: 10.3758/cabn.6.1.79. PMID: 16869232.
32. Bathla M, Singh M, Relan P. Prevalence of anxiety and depressive symptoms among patients with hypothyroidism. *Indian J Endocrinol Metab*. 2016;20:468-74. doi: 10.4103/2230-8210.183476
33. Batty GD, Li Q, Huxley R, Zoungas S, Taylor BA, Neal B, de Galan B, et al.; VANCE Collaborative group. Oral disease in relation to future risk of dementia and cognitive decline: prospective cohort study based on the

Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron Modified-Release Controlled Evaluation (ADVANCE) trial. *Eur Psychiatry*. 2013 Jan;28(1):49-52. doi: 10.1016/j.eurpsy.2011.07.005.

34. Bauer M, Heinz A, Whybrow PC. Thyroid hormones, serotonin and mood: of synergy and significance in the adult brain. *Mol Psychiatry*. 2002;7(2):140-56. doi: 10.1038/sj.mp.4000963.

35. Bauer M, Whybrow PC. Role of thyroid hormone therapy in depressive disorders. *J Endocrinol Invest*. 2021 Nov;44(11):2341-7. doi: 10.1007/s40618-021-01600-w.

36. Bayat M, Kohlmeier KA, Haghani M, Haghghi AB, Khalili A, Bayat G, et al. Co-treatment of vitamin D supplementation with enriched environment improves synaptic plasticity and spatial learning and memory in aged rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021 Aug;238(8):2297-2312. doi: 10.1007/s00213-021-05853-4.

37. Béjot Y, Prigent-Tessier A, Cachia C, Giroud M, Mossiat C, Bertrand N, et al. Time-dependent contribution of non neuronal cells to BDNF production after ischemic stroke in rats. *Neurochem Int*. 2011 Jan;58(1):102-11. doi: 10.1016/j.neuint.2010.10.019.

38. Ben-Zeev T, Shoenfeld Y, Hoffman JR. The Effect of Exercise on Neurogenesis in the Brain. *Isr Med Assoc J*. 2022 Aug;24(8):533-8.

39. Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biological Psychiatry*. 2000;47(4):351-4. doi: 10.1016/s0006-3223(99)00230-9.

40. Bermingham-McDonogh O, Xu YT, Marchionni MA, Scherer SS. Neuregulin expression in PNS neurons: isoforms and regulation by target interactions. *Mol Cell Neurosci*. 1997;10(3-4):184-95. doi: 10.1006/mcne.1997.0654.

41. Bernal J, Guadaño-Ferraz A, Morte B. Thyroid hormone transporters--functions and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2015 Jul;11(7):406-17. doi: 10.1038/nrendo.2015.66.

42. Bernal J. Thyroid hormone regulated genes in cerebral cortex development. *J Endocrinol.* 2017 Feb;232(2):R83-R97. doi: 10.1530/JOE-16-0424.
43. Bernal J. Thyroid Hormones in Brain Development and Function. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, et al. editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285549/>
44. Bersani FS, Ghezzi F, Maraone A, Vicinanza R, Cavaggioni G, Biondi M, Pasquini M. The relationship between Vitamin D and depressive disorders. *Riv Psichiatr.* 2019 Nov-Dec;54(6):229-234. doi: 10.1708/3281.32541.
45. Bezrodnik L, Gaillard MI, Caldirola MS. Dysregulatory syndromes: the role of signal transducers and activators of transcription. *Curr Opin Pediatr.* 2018 Dec;30(6):821-828. doi: 10.1097/MOP.0000000000000685.
46. Bičíková M, Dušková M, Vítků J, Kalvachová B, Řípková D, Mohr P, Stárka L. Vitamin D in anxiety and affective disorders. *Physiol Res.* 2015;64(Suppl 2):S101-3. doi: 10.33549/physiolres.933082.
47. Bilous I, Korda M, Krynytska I, Kamyshnyi A. Nerve impulse transmission pathway-focused genes expression analysis in patients with primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. *Endocr Regul.* 2020;54(2):109-18. doi: 10.2478/enr-2020-0013.
48. Bilous I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis alter the transcriptional activity of genes regulating neurogenesis in the blood of patients. *Endocr Regul.* 2021 Jan 29;55(1):5-15. doi: 10.2478/enr-2021-0002.
49. Bilous I, Pavlovych L, Krynytska I, Marushchak M, Kamyshnyi A. Apoptosis and Cell Cycle Pathway-Focused Genes Expression Analysis in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. *Open Access Maced J Med Sci.* 2020;8(B):784-92. doi: 10.3889/oamjms.2020.4760.
50. Bilous II. Features of the periferal nervous system affection in patients with primary hypothyroidism. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2018;1(63):13-6. doi: 10.24061/1727-4338.XVII.1.63.2018.3

51. Bilous II. Neurological disorders of patients with endocrine pathology. В: Матеріали 99 підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; 2018 лют. 12, 14, 19; Чернівці. Чернівці; 2018, с. 197-198
52. Bilous I.I., Kamyshnyi A., Pavlovych L. Changes the Transcriptional Activity of Genes Regulating Neurogenesis in the Blood of Patients with Thyroid Endocrine Pathology. *Neurology*. 2021;96(15 Suppl):4375.
53. Bilous II, Pavlovych LB. Symptoms of organic brain damage in primary hypothyroidism. *Sciences of Europe*. 2018;1(25):24-6.
54. Bilous II, Pavlovych LB, Chornenka ZhA. Current situation with thyroid gland disease incidence in Chernivtsi region. *The scientific heritage*. 2017;11:53-6.
55. Bivona G, Gambino CM, Iacolino G, Ciaccio M. Vitamin D and the nervous system. *Neurol Res*. 2019 Sep;41(9):827-35. doi: 10.1080/01616412.2019.1622872.
56. Bivona G, Gambino CM, Lo Sasso B, Scazzone C, Giglio RV, Agnello L, Ciaccio M. Serum Vitamin D as a Biomarker in Autoimmune, Psychiatric and Neurodegenerative Diseases. *Diagnostics (Basel)*. 2022 Jan 6;12(1):130. doi: 10.3390/diagnostics12010130.
57. Bizzaro G, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmune thyroid diseases: facts and unresolved questions. *Immunol Res*. 2015 Feb;61(1-2):46-52. doi: 10.1007/s12026-014-8579-z.
58. Black LJ, Jacoby P, Allen KL, Trapp GS, Hart PH, Byrne SM, et al. Low vitamin D levels are associated with symptoms of depression in young adult males. *Aust N Z J Psychiatry*. 2014 May;48(5):464-71.
59. Blacker D. Rating Scales in Psychiatry. In: Sadock BJ, Sadock VA. Eds. *Comprehensive Textbook of Psychiatry (8<sup>th</sup>)*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia; 2007. p. 929-943.

60. Bonni A, Ginty DD, Dudek H, Greenberg ME. Serine 133-phosphorylated CREB induces transcription via a cooperative mechanism that may confer specificity to neurotrophin signals. *Mol Cell Neurosci*. 1995;6(2):168-83. doi: 10.1006/mcne.1995.1015.
61. Borroni B, Grassi M, Archetti S, Costanzi C, Bianchi M, Caimi L, et al. BDNF genetic variations increase the risk of Alzheimer's disease-related depression. *J Alzheimers Dis*. 2009;18(4):867-75. doi: 10.3233/JAD-2009-1191.
62. Bortolotto VC, Araujo SM, Pinheiro FC, Poetini MR, de Paula MT, Meichtry LB, et al. Modulation of glutamate levels and Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity contributes to the chrysin memory recovery in hypothyroidism mice. *Physiol Behav*. 2020 Aug 1;222:112892. doi: 10.1016/j.physbeh.2020.112892.
63. Bos D, Vernooij MW, de Bruijn RF, Koudstaal PJ, Hofman A, Franco OH, et al. Atherosclerotic calcification is related to a higher risk of dementia and cognitive decline. *Alzheimers Dement*. 2015 Jun;11(6):639-47.e1. doi: 10.1016/j.jalz.2014.05.1758.
64. Botelho IMB, Moura Neto A, Silva CA, Tambascia MA, Alegre SM, Zantut-Wittmann DE. Vitamin D in Hashimoto's thyroiditis and its relationship with thyroid function and inflammatory status. *Endocr J*. 2018 Oct 29;65(10):1029-37. doi: 10.1507/endocrj.EJ18-0166.
65. Bothwell M. NGF, BDNF, NT3, and NT4. *Handb Exp Pharmacol*. 2014;220:3-15. doi: 10.1007/978-3-642-45106-5\_1.
66. Bouillon R, Antonio L, Olarte OR. Calcifediol (25OH Vitamin D<sub>3</sub>) Deficiency: A Risk Factor from Early to Old Age. *Nutrients*. 2022 Mar 10;14(6):1168. doi: 10.3390/nu14061168.
67. Boules M, Li Z, Smith K, Fredrickson P, Richelson E. Diverse roles of neurotensin agonists in the central nervous system. *Front Endocrinol [Internet]*. 2013[cited 2019 Aug 16];4:36. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2013.00036/full>
68. Bradshaw RA, Pundavela J, Biarc J, Chalkley RJ, Burlingame AL, Hondermarck H. NGF and ProNGF: Regulation of neuronal and neoplastic

responses through receptor signaling. *Adv Biol Regul.* 2015;58:16-27. doi: 10.1016/j.jbior.2014.11.003.

69. Bramham CR, Messaoudi E. BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Prog Neurobiol.* 2005 Jun;76(2):99-125. doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.06.003.

70. Branchi I, Karpova NN, D'Andrea I, Castrén E, Alleva E. Epigenetic modifications induced by early enrichment are associated with changes in timing of induction of BDNF expression. *Neurosci Lett.* 2011 May 20;495(3):168-72. doi: 10.1016/j.neulet.2011.03.038.

71. Brewer LD, Thibault V, Chen KC, Langub MC, Landfield PW, Porter NM. Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. *J Neurosci.* 2001 Jan 1;21(1):98-108. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-01-00098.2001.

72. Brown J, Bianco JJ, McGrath JJ, Eyles DW. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. *Neurosci Lett.* 2003 Jun 5;343(2):139-43. doi: 10.1016/s0304-3940(03)00303-3.

73. Bryant EM, Richardson R, Graham BM. The Association Between Salivary FGF2 and Physiological and Psychological Components of the Human Stress Response. *Chronic Stress (Thousand Oaks).* 2022 Jul 18;6:24705470221114787. doi: 10.1177/24705470221114787.

74. Cai X, Shi X, Zhang X, Zhang A, Zheng M, Fang Y. The association between brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism and migraine: a meta-analysis. *J Headache Pain.* 2017 Dec;18(1):13. doi: 10.1186/s10194-017-0725-2.

75. Caldeira MV, Melo CV, Pereira DB, Carvalho RF, Carvalho AL, Duarte CB. BDNF regulates the expression and traffic of NMDA receptors in cultured hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci.* 2007 Jun;35(2):208-19. doi: 10.1016/j.mcn.2007.02.019.

76. Calvino C, Império GE, Wilieman M, Costa-E-Sousa RH, Souza LL, Trevenzoli IH, et al. Hypothyroidism Induces Hypophagia Associated with Alterations in Protein Expression of Neuropeptide Y and Proopiomelanocortin in the Arcuate Nucleus, Independently of Hypothalamic Nuclei-Specific Changes in Leptin Signaling. *Thyroid*. 2016;26(1):134-43. doi: 10.1089/thy.2015.0384.

77. Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry*. 2004 Apr;161(4):598-607. doi: 10.1176/appi.ajp.161.4.598.

78. Camuso S, La Rosa P, Fiorenza MT, Canterini S. Pleiotropic effects of BDNF on the cerebellum and hippocampus: Implications for neurodevelopmental disorders. *Neurobiol Dis*. 2022 Feb;163:105606. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105606.

79. Cao Q, Wei Y, Deng J, Li J, Huang Y, Li Y, et al. NRG1 accelerates the forgetting of fear memories and facilitates the induction of long-term depression in adult mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021 Sep;238(9):2535-42. doi: 10.1007/s00213-021-05877-w.

80. Casseb GAS, Kaster MP, Rodrigues ALS. Potential Role of Vitamin D for the Management of Depression and Anxiety. *CNS Drugs*. 2019 Jul;33(7):619-37. doi: 10.1007/s40263-019-00640-4.

81. Castle M, Fiedler N, Pop LC, Schneider SJ, Schlüssel Y, Sukumar D, et al. Three Doses of Vitamin D and Cognitive Outcomes in Older Women: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2020 Apr 17;75(5):835-42. doi: 10.1093/gerona/glz041.

82. Cattaneo A, Sesta A, Calabrese F, Nielsen G, Riva MA, Gennarelli M. The expression of VGF is reduced in leukocytes of depressed patients and it is restored by effective antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(7):1423-8. doi: 10.1038/npp.2010.11.

83. Chagnon YC, Potvin O, Hudon C, Prévaille M. DNA methylation and single nucleotide variants in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and



oxytocin receptor (OXTR) genes are associated with anxiety/depression in older women. *Front Genet.* 2015 Jun 30;6:230. doi: 10.3389/fgene.2015.00230.

84. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. *Lancet.* 2017 Sep 23;390(10101):1550-62. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30703-1.

85. Chaker L, Razvi S, Bensenor IM, Azizi F, Pearce EN, Peeters RP. Hypothyroidism. *Nat Rev Dis Primers.* 2022 May 19;8(1):30. doi: 10.1038/s41572-022-00357-7.

86. Chan RK, Vale WW, Sawchenko PE. Paradoxical activational effects of a corticotropin-releasing factor-binding protein «ligand inhibitor» in rat brain. *Neuroscience.* 2000;101(1):115-29. doi: 10.1016/s0306-4522(00)00322-5.

87. Chao G, Zhu Y, Fang L. Correlation Between Hashimoto's Thyroiditis-Related Thyroid Hormone Levels and 25-Hydroxyvitamin D. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020 Feb 14;11:4. doi: 10.3389/fendo.2020.00004.

88. Chaudhary S, Dutta D, Kumar M, Saha S, Mondal SA, Kumar A, Mukhopadhyay S. Vitamin D supplementation reduces thyroid peroxidase antibody levels in patients with autoimmune thyroid disease: An open-labeled randomized controlled trial. *Indian J Endocrinol Metab.* 2016 May-Jun;20(3):391-8. doi: 10.4103/2230-8210.179997.

89. Chen C, Li X, Wang T, Wang HH, Fu Y, Zhang L, Xiao SF. Association between NMDA receptor subunit 2b gene polymorphism and Alzheimer's disease in Chinese Han population in Shanghai. *Neurosci Bull.* 2010 Oct;26(5):395-400. doi: 10.1007/s12264-010-0729-2.

90. Chen K, Wang N, Zhang J, Hong X, Xu H, Zhao X, Huang Q. Is the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene associated with panic disorder? A meta-analysis. *Asia Pac Psychiatry.* 2017 Jun;9(2). doi: 10.1111/appy.12228.

91. Chen L, Yang R, Qiao W, Zhang W, Chen J, Mao L, et al.. 1,25-Dihydroxyvitamin D exerts an antiaging role by activation of Nrf2-antioxidant signaling and inactivation of p16/p53-senescence signaling. *Aging Cell.* 2019 Jun;18(3):e12951. doi: 10.1111/acel.12951.

92. Chen MH, Tsai SJ. Treatment-resistant panic disorder: clinical significance, concept and management. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016 Oct 3;70:219-26. doi: 10.1016/j.pnpbp.2016.02.001.
93. Chen QY, Li XH, Zhuo M. NMDA receptors and synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex. *Neuropharmacology*. 2021 Oct 1;197:108749. doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108749.
94. Chen S, Jiang H, Hou Z, Yue Y, Zhang Y, Zhao F, et al. Higher serum VGF protein levels discriminate bipolar depression from major depressive disorder. *J Neurosci Res*. 2019;97(5):597-606. doi: 10.1002/jnr.24377.
95. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol*. 2007 Aug 1;179(3):1634-47. doi: 10.4049/jimmunol.179.3.1634.
96. Chen YC, Kuo HY, Bornschein U, Takahashi H, Chen SY, Lu KM, et al. Foxp2 controls synaptic wiring of corticostriatal circuits and vocal communication by opposing Mef2c. *Nat Neurosci*. 2016 Nov;19(11):1513-22. doi: 10.1038/nn.4380.
97. Chen ZY, Patel PD, Sant G, Meng CX, Teng KK, Hempstead BL, Lee FS. Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J Neurosci*. 2004 May 5;24(18):4401-11. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0348-04.2004.
98. Cheng CW, Wu CZ, Tang KT, Fang WF, Lin JD. Simultaneous measurement of twenty-nine circulating cytokines and growth factors in female patients with overt autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity*. 2020 Aug;53(5):261-269. doi: 10.1080/08916934.2020.1755965.
99. Cheng PL, Song AH, Wong YH, Wang S, Zhang X, Poo MM. Self-amplifying autocrine actions of BDNF in axon development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Nov 8;108(45):18430-5. doi: 10.1073/pnas.1115907108.
100. Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev*. 2010 Apr;31(2):139-70. doi: 10.1210/er.2009-0007.

101. Cheng YC, Huang YC, Huang WL. The effect of vitamin D supplement on negative emotions: A systematic review and meta-analysis. *Depress Anxiety*. 2020 Jun;37(6):549-64. doi: 10.1002/da.23025.

102. Chiaruttini C, Vicario A, Li Z, Baj G, Braiuca P, Wu Y, Lee FS, Gardossi L, Baraban JM, Tongiorgi E. Dendritic trafficking of BDNF mRNA is mediated by translin and blocked by the G196A (Val66Met) mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Sep 22;106(38):16481-6. doi: 10.1073/pnas.0902833106.

103. Chiovato L, Magri F, Carlé A. Hypothyroidism in Context: Where We've Been and Where We're Going. *Adv Ther*. 2019 Sep;36(Suppl 2):47-58. doi: 10.1007/s12325-019-01080-8.

104. Choukri MA, Conner TS, Haszard JJ, Harper MJ, Houghton LA. Effect of vitamin D supplementation on depressive symptoms and psychological wellbeing in healthy adult women: a double-blind randomised controlled clinical trial. *J Nutr Sci*. 2018 Aug 23;7:e23. doi: 10.1017/jns.2018.14.

105. Chowdhary R, Khan RB, Masarkar N, Malik R, Goel SK. An association of VDR gene polymorphism in hypovitaminosis D mediated secondary hyperparathyroidism in adolescent girls; a tertiary hospital study in central India. *Steroids*. 2022 Sep;185:109054. doi: 10.1016/j.steroids.2022.109054.

106. Christos V, Eirini B, Elias Z, Chrysoula D. Assessment of the reporting quality of randomised controlled trials for vitamin D supplementation in autoimmune thyroid disorders based on the CONSORT statement. *Endocrine*. 2023; 80(2): 346-54. doi: 10.1007/s12020-022-03270-x.

107. Cikim AS, Oflaz H, Ozbey N, Cikim K, Umman S, Meric M, et al. Evaluation of endothelial function in subclinical hypothyroidism and subclinical hyperthyroidism. *Thyroid*. 2004 Aug;14(8):605-9. doi: 10.1089/1050725041692891.

108. Cobianchi S, Arbat-Plana A, Lopez-Alvarez VM, Navarro X. Neuroprotective Effects of Exercise Treatments After Injury: The Dual Role of Neurotrophic Factors. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15(4):495-518. doi: 10.2174/1570159X14666160330105132.

109. Cohen BM, Sommer BR, Vuckovic A. Antidepressant-Resistant Depression in Patients With Comorbid Subclinical Hypothyroidism or High-Normal TSH Levels. *Am J Psychiatry*. 2018 Jul 1;175(7):598-604. doi: 10.1176/appi.ajp.2017.17080949.

110. Colin EM, Weel AE, Uitterlinden AG, Buurman CJ, Birkenhäger JC, Pols HA, van Leeuwen JP. Consequences of vitamin D receptor gene polymorphisms for growth inhibition of cultured human peripheral blood mononuclear cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000 Feb;52(2):211-6. doi: 10.1046/j.1365-2265.2000.00909.x..

111. Costa V, Lugert S, Jagasia R. Role of adult hippocampal neurogenesis in cognition in physiology and disease: pharmacological targets and biomarkers. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;228:99-155. doi: 10.1007/978-3-319-16522-6\_4.

112. Cuello AC. Rita Levi-Montalcini, NGF Metabolism in Health and in the Alzheimer's Pathology. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1331:119-44. doi: 10.1007/978-3-030-74046-7\_9.

113. Cui C, Cui J, Jin F, Cui Y, Li R, Jiang X, et al. Induction of the Vitamin D Receptor Attenuates Autophagy Dysfunction-Mediated Cell Death Following Traumatic Brain Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(5):1888-96. doi: 10.1159/000479571.

114. Cui X, Eyles DW. Vitamin D and the Central Nervous System: Causative and Preventative Mechanisms in Brain Disorders. *Nutrients*. 2022 Oct 17;14(20):4353. doi: 10.3390/nu14204353.

115. Cull-Candy SG, Leszkiewicz DN. Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Sci STKE*. 2004 Oct 19;2004(255):re16. doi: 10.1126/stke.2552004re16.

116. Cutuli D, Landolfo E, Petrosini L, Gelfo F. Environmental Enrichment Effects on the Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in Healthy Condition, Alzheimer's Disease, and Other Neurodegenerative Disorders. *J Alzheimers Dis*. 2022;85(3):975-92. doi: 10.3233/JAD-215193.

117. Cvek M, Kaličanin D, Barić A, Vuletić M, Gunjača I, Torlak Lovrić V, et al. Vitamin D and Hashimoto's Thyroiditis: Observations from CROHT Biobank. *Nutrients*. 2021 Aug 15;13(8):2793. doi: 10.3390/nu13082793.
118. Czarnywojtek A, Florek E, Pietrończyk K, Sawicka-Gutaj N, Ruchała M, Ronen O, et al. The Role of Vitamin D in Autoimmune Thyroid Diseases: A Narrative Review. *J Clin Med*. 2023 Feb 11;12(4):1452. doi: 10.3390/jcm12041452.
119. da Silva ABJ, Barros WMA, da Silva ML, Silva JML, Souza APDS, da Silva KG, et al. Impact of vitamin D on cognitive functions in healthy individuals: A systematic review in randomized controlled clinical trials. *Front Psychol*. 2022 Nov 29;13:987203. doi: 10.3389/fpsyg.2022.987203.
120. Dabrowski A, Terauchi A, Strong C, Umemori H. Distinct sets of FGF receptors sculpt excitatory and inhibitory synaptogenesis. *Development*. 2015 May 15;142(10):1818-30. doi: 10.1242/dev.115568.
121. Danailova Y, Velikova T, Nikolaev G, Mitova Z, Shinkov A, Gagov H, Konakchieva R. Nutritional Management of Thyroiditis of Hashimoto. *Int J Mol Sci*. 2022 May 5;23(9):5144. doi: 10.3390/ijms23095144.
122. Daubner SC, Le T, Wang S. Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Arch Biochem Biophys*. 2011 Apr 1;508(1):1-12. doi: 10.1016/j.abb.2010.12.017.
123. Davis JD, Tremont G. Neuropsychiatric aspects of hypothyroidism and treatment reversibility. *Minerva Endocrinol*. 2007 Mar;32(1):49-65.
124. Davis M, Walker DL, Miles L, Grillon C. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*. 2010 Jan;35(1):105-35. doi: 10.1038/npp.2009.109.
125. Davis PJ, Goglia F, Leonard JL. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Nat Rev Endocrinol*. 2016 Feb;12(2):111-21. doi: 10.1038/nrendo.2015.205.
126. Dayan CM, Panicker V. Hypothyroidism and depression. *European Thyroid Journal*. 2013;2(3):168-79. doi: 10.1159/000353777.

127. de Miranda AS, de Barros JLVM, Teixeira AL. Is neurotrophin-3 (NT-3): a potential therapeutic target for depression and anxiety? *Expert Opin Ther Targets*. 2020 Dec;24(12):1225-38. doi: 10.1080/14728222.2020.1846720.
128. Devlin P, Cao X, Stanfill AG. Genotype-expression interactions for BDNF across human brain regions. *BMC Genomics*. 2021 Mar 23;22(1):207. doi: 10.1186/s12864-021-07525-1.
129. Deyama S, Duman RS. Neurotrophic mechanisms underlying the rapid and sustained antidepressant actions of ketamine. *Pharmacol Biochem Behav*. 2020 Jan;188:172837. doi: 10.1016/j.pbb.2019.172837.
130. Di Carlo P, Punzi G, Ursini G. Brain-derived neurotrophic factor and schizophrenia. *Psychiatr Genet*. 2019 Oct;29(5):200-10. doi: 10.1097/YPG.0000000000000237.
131. di Masi A, De Marinis E, Ascenzi P, Marino M. Nuclear receptors CAR and PXR: Molecular, functional, and biomedical aspects. *Mol Aspects Med*. 2009 Oct;30(5):297-343. doi: 10.1016/j.mam.2009.04.002.
132. Di Somma C, Scarano E, Barrea L, Zhukouskaya VV, Savastano S, Mele C, et al. Vitamin D and Neurological Diseases: An Endocrine View. *Int J Mol Sci*. 2017 Nov 21;18(11):2482. doi: 10.3390/ijms18112482.
133. Dicou E, Hurez D, Nerrière V. Natural autoantibodies against the nerve growth factor in autoimmune diseases. *J Neuroimmunol*. 1993;47(2):159-67. doi: 10.1016/0165-5728(93)90026-u.
134. Dimitrijević M, Stanojević S. The intriguing mission of neuropeptide Y in the immune system. *Amino Acids*. 2013;45(1):41-53. doi: 10.1007/s00726-011-1185-7.
135. Ding YX, Zhang Y, He B, Yue WH, Zhang D, Zou LP. A possible association of responsiveness to adrenocorticotrophic hormone with specific GRIN1 haplotypes in infantile spasms. *Dev Med Child Neurol*. 2010 Nov;52(11):1028-32. doi: 10.1111/j.1469-8749.2010.03746.x.
136. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*. 1999 Mar;51(1):7-61.

137. Djurovic J, Stojkovic O, Ozdemir O, Silan F, Akurut C, Todorovic J, et al. Association between FokI, ApaI and TaqI RFLP polymorphisms in VDR gene and Hashimoto's thyroiditis: preliminary data from female patients in Serbia. *Int J Immunogenet*. 2015 Jun;42(3):190-4. doi: 10.1111/iji.12199.

138. Djurovic M, Pereira AM, Smit JWA, Vasovic O, Damjanovic S, Jemuovic Z, et al. Cognitive functioning and quality of life in patients with Hashimoto thyroiditis on long-term levothyroxine replacement. *Endocrine*. 2018 Oct;62(1):136-43. doi: 10.1007/s12020-018-1649-6.

139. Do Carmo S, Kannel B, Cuello AC. The Nerve Growth Factor Metabolic Pathway Dysregulation as Cause of Alzheimer's Cholinergic Atrophy. *Cells*. 2021 Dec 22;11(1):16. doi: 10.3390/cells11010016.

140. Dolatshahi M, Salehipour A, Saghazadeh A, Sanjeari Moghaddam H, Aghamollaii V, Fotouhi A, Tafakhori A. Thyroid hormone levels in Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2023 Feb;79(2):252-72. doi: 10.1007/s12020-022-03190-w.

141. Dolcetti E, Bruno A, Azzolini F, Gilio L, Moscatelli A, De Vito F, et al. The BDNF Val66Met Polymorphism (rs6265) Modulates Inflammation and Neurodegeneration in the Early Phases of Multiple Sclerosis. *Genes (Basel)*. 2022 Feb 10;13(2):332. doi: 10.3390/genes13020332.

142. Duman RS, Deyama S, Fogaça MV. Role of BDNF in the pathophysiology and treatment of depression: Activity-dependent effects distinguish rapid-acting antidepressants. *Eur J Neurosci*. 2021 Jan;53(1):126-39. doi: 10.1111/ejn.14630.

143. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006 Jun 15;59(12):1116-27. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.02.013.

144. Duntas LH, Alexandraki KI. On the Centennial of Vitamin D-Vitamin D, Inflammation, and Autoimmune Thyroiditis: A Web of Links and Implications. *Nutrients*. 2022 Nov 26;14(23):5032. doi: 10.3390/nu14235032.

145. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*. 2003 Jan 24;112(2):257-69. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00035-7.
146. Ehrlich AT, Couvineau P, Schamiloglu S, Wojcik S, Da Fonte D, Mezni A, et al. Visualization of real-time receptor endocytosis in dopamine neurons enabled by NTSR1-Venus knock-in mice. *Front Cell Neurosci*. 2022 Nov 29;16:1076599. doi: 10.3389/fncel.2022.1076599.
147. Ekdahl CT, Claassen JH, Bonde S, Kokaia Z, Lindvall O. Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Nov 11;100(23):13632-7. doi: 10.1073/pnas.2234031100.
148. El Mansari M, Guiard BP, Chernoloz O, Ghanbari R, Katz N, Blier P. Relevance of norepinephrine-dopamine interactions in the treatment of major depressive disorder. *CNS Neurosci Ther*. 2010 Jun;16(3):e1-17. doi: 10.1111/j.1755-5949.2010.00146.x.
149. El Ouamari Y, Van den Bos J, Willekens B, Cools N, Wens I. Neurotrophic Factors as Regenerative Therapy for Neurodegenerative Diseases: Current Status, Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 15;24(4):3866. doi: 10.3390/ijms24043866.
150. Elde R, Schalling M, Ceccatelli S, Nakanishi S, Hökfelt T. Localization of neuropeptide receptor mRNA in rat brain: initial observations using probes for neurotensin and substance P receptors. *Neurosci Lett*. 1990 Nov 27;120(1):134-8. doi: 10.1016/0304-3940(90)90187-e.
151. Endele S, Rosenberger G, Geider K, Popp B, Tamer C, Stefanova I, et al. Mutations in GRIN2A and GRIN2B encoding regulatory subunits of NMDA receptors cause variable neurodevelopmental phenotypes. *Nat Genet*. 2010 Nov;42(11):1021-6. doi: 10.1038/ng.677.
152. Enoch MA, Shen PH, Ducci F, Yuan Q, Liu J, White KV, et al. Common genetic origins for EEG, alcoholism and anxiety: the role of CRH-BP. *PLoS One*. 2008;3(10):e3620. doi: 10.1371/journal.pone.0003620.



153. Erensoy H. The association between anxiety and depression with 25(OH)D and thyroid stimulating hormone levels. *Neurosciences (Riyadh)*. 2019 Oct;24(4):290-5. doi: 10.17712/nsj.2019.4.20190028.

154. Erreger K, Geballe MT, Kristensen A, Chen PE, Hansen KB, Lee CJ, et al. Subunit-specific agonist activity at NR2A-, NR2B-, NR2C-, and NR2D-containing N-methyl-D-aspartate glutamate receptors. *Mol Pharmacol*. 2007 Oct;72(4):907-20. doi: 10.1124/mol.107.037333.

155. Evans SJ, Choudary PV, Neal CR, Li JZ, Vawter MP, Tomita H, et al. Dysregulation of the fibroblast growth factor system in major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(43):15506-11. doi: 10.1073/pnas.0406788101.

156. Eyles D, Almeras L, Benech P, Patatian A, Mackay-Sim A, McGrath J, Féron F. Developmental vitamin D deficiency alters the expression of genes encoding mitochondrial, cytoskeletal and synaptic proteins in the adult rat brain. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007 Mar;103(3-5):538-45. doi: 10.1016/j.jsbmb.2006.12.096.

157. Eyles DW, Burne TH, McGrath JJ. Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. *Front Neuroendocrinol*. 2013 Jan;34(1):47-64. doi: 10.1016/j.yfrne.2012.07.001.

158. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M, McGrath JJ. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat*. 2005 Jan;29(1):21-30. doi: 10.1016/j.jchemneu.2004.08.006.

159. Falls DL. Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies. *Exp Cell Res*. 2003;284(1):14-30. doi: 10.1016/s0014-4827(02)00102-7.

160. Fan J, Fong T, Chen X, Chen C, Luo P, Xie H. Glia maturation factor- $\beta$ : a potential therapeutic target in neurodegeneration and neuroinflammation. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2018;14:495-504. doi: 10.2147/NDT.S157099.

161. Fani L, Roa Dueñas O, Bos D, Vernooij MW, Klaver CCW, Ikram MK, et al. Thyroid Status and Brain Circulation: The Rotterdam Study. *J*

Clin Endocrinol Metab. 2022 Feb 17;107(3):e1293-e1302. doi: 10.1210/clinem/dgab744.

162. Fanibunda SE, Desouza LA, Kapoor R, Vaidya RA, Vaidya VA. Thyroid Hormone Regulation of Adult Neurogenesis. *Vitam Horm.* 2018;106:211-51. doi: 10.1016/bs.vh.2017.04.006.

163. Farhangi MA, Mesgari-Abbasi M, Hajiluiian G, Nameni G, Shahabi P. Adipose Tissue Inflammation and Oxidative Stress: the Ameliorative Effects of Vitamin D. *Inflammation.* 2017 Oct;40(5):1688-97. doi: 10.1007/s10753-017-0610-9.

164. Feng M, Li H, Chen SF, Li WF, Zhang FB. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of autoimmune thyroid diseases: a meta-analysis. *Endocrine.* 2013 Apr;43(2):318-26. doi: 10.1007/s12020-012-9812-y.

165. Fernandes de Abreu DA, Eyles D, Féron F. Vitamin D, a neuro-immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. *Psychoneuroendocrinology.* 2009 Dec;34(Suppl 1):S265-77. doi: 10.1016/j.psyneuen.2009.05.023.

166. Féron F, Burne TH, Brown J, Smith E, McGrath JJ, Mackay-Sim A, Eyles DW. Developmental Vitamin D3 deficiency alters the adult rat brain. *Brain Res Bull.* 2005 Mar 15;65(2):141-8. doi: 10.1016/j.brainresbull.2004.12.007.

167. Fetissov SO, Kopp J, Hökfelt T. Distribution of NPY receptors in the hypothalamus. *Neuropeptides.* 2004;38(4):175-88. doi: 10.1016/j.npep.2004.05.009.

168. Fischer S, Ehlert U. Hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis functioning in anxiety disorders. A systematic review. *Depress Anxiety.* 2018 Jan;35(1):98-110. doi: 10.1002/da.22692.

169. Fleet JC. The role of vitamin D in the endocrinology controlling calcium homeostasis. *Mol Cell Endocrinol.* 2017 Sep 15;453:36-45. doi: 10.1016/j.mce.2017.04.008.

170. Fortin DA, Srivastava T, Dwarakanath D, Pierre P, Nygaard S, Derkach VA, Soderling TR. Brain-derived neurotrophic factor activation of CaM-

kinase kinase via transient receptor potential canonical channels induces the translation and synaptic incorporation of GluA1-containing calcium-permeable AMPA receptors. *J Neurosci.* 2012 Jun 13;32(24):8127-37. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6034-11.2012.

171. Francesco M., Michele R., Hajime K., Siracusano A, Mantovani V, Marasco E, et al. Genetic variants of the NMDA receptor influence cortical excitability and plasticity in humans. *Journal of Neurophysiology.* 2011;106(4):1637-43. doi: 10.1152/jn.00318.2011.

172. Fu X, Wang J, Du J, Sun J, Baranova A, Zhang F. BDNF Gene's Role in Schizophrenia: From Risk Allele to Methylation Implications. *Front Psychiatry.* 2020 Dec 15;11:564277. doi: 10.3389/fpsy.2020.564277.

173. Fugger G, Dold M, Bartova L, Kautzky A, Souery D, Mendlewicz J. Comorbid thyroid disease in patients with major depressive disorder – Results from the European Group for the Study of Resistant Depression (GSRD). *Eur Neuropsychopharmacol.* 2018;28(6):752-60. doi: 10.1016/j.euroneuro.2018.03.011.

174. Fukao A, Takamatsu J, Kubota S, Miyauchi A, Hanafusa T. The thyroid function of Graves' disease patients is aggravated by depressive personality during antithyroid drug treatment. *Biopsychosoc Med.* 2011 Aug 9;5:9. doi: 10.1186/1751-0759-5-9.

175. Fukumoto N, Fujii T, Combarros O, Kamboh MI, Tsai SJ, Matsushita S, et al. Sexually dimorphic effect of the Val66Met polymorphism of BDNF on susceptibility to Alzheimer's disease: New data and meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010 Jan 5;153B(1):235-42. doi: 10.1002/ajmg.b.30986.

176. Galehdari H, Pooryasin A, Foroughmand A, Daneshmand S, Saadat M. Association between the G1001C polymorphism in the GRIN1 gene promoter and schizophrenia in the Iranian population. *J Mol Neurosci.* 2009 Jun;38(2):178-81. doi: 10.1007/s12031-008-9148-5.

177. Gallinat J, Schubert F, Brühl R, Hellweg R, Klär AA, Kehrer C, et al. Met carriers of BDNF Val66Met genotype show increased N-acetylaspartate concentration in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage*. 2010 Jan 1;49(1):767-71. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.08.018.
178. Gallo FT, Kathe C, Morici JF, Medina JH, Weisstaub NV. Immediate Early Genes, Memory and Psychiatric Disorders: Focus on c-Fos, Egr1 and Arc. *Front Behav Neurosci*. 2018 Apr 25;12:79. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00079.
179. Galușca D, Popoviciu MS, Babeș EE, Vidican M, Zaha AA, Babeș VV, et al. Vitamin D Implications and Effect of Supplementation in Endocrine Disorders: Autoimmune Thyroid Disorders (Hashimoto's Disease and Grave's Disease), Diabetes Mellitus and Obesity. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Jan 27;58(2):194. doi: 10.3390/medicina58020194.
180. Gao X, Wang J, Yu Y. The Association Between *STAT4* rs7574865 Polymorphism and the Susceptibility of Autoimmune Thyroid Disease: A Meta-Analysis. *Front Genet*. 2019 Jan 7;9:708. doi: 10.3389/fgene.2018.00708..
181. Gao XR, Yu YG. Meta-Analysis of the Association between Vitamin D Receptor Polymorphisms and the Risk of Autoimmune Thyroid Disease. *Int J Endocrinol*. 2018 Mar 22;2018:2846943. doi: 10.1155/2018/2846943.
182. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JL, et al. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract*. 2012;18(6):988-1028. doi: 10.4158/EP12280.GL.
183. García-Cuesta EM, Santiago CA, Vallejo-Díaz J, Juarranz Y, Rodríguez-Frade JM, Mellado M. The Role of the CXCL12/CXCR4/ACKR3 Axis in Autoimmune Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Aug 27;10:585. doi: 10.3389/fendo.2019.00585.
184. Garcion E, Sindji L, Leblondel G, Brachet P, Darcy F. 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulates the synthesis of gamma-glutamyl transpeptidase

and glutathione levels in rat primary astrocytes. *J Neurochem.* 1999 Aug;73(2):859-66. doi: 10.1046/j.1471-4159.1999.0730859.x.

185. Garcion E, Wion-Barbot N, Montero-Menei CN, Berger F, Wion D. New clues about vitamin D functions in the nervous system. *Trends Endocrinol Metab.* 2002 Apr;13(3):100-5. doi: 10.1016/s1043-2760(01)00547-1.

186. Geng C, Shaikh AS, Han W, Chen D, Guo Y, Jiang P. Vitamin D and depression: mechanisms, determination and application. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2019;28(4):689-94. doi: 10.6133/apjcn.201912\_28(4).0003.

187. Gezen-Ak D, Dursun E, Yilmazer S. The Effect of Vitamin D Treatment On Nerve Growth Factor (NGF) Release From Hippocampal Neurons. *Noro Psikiyatrs Ars.* 2014 Jun;51(2):157-62. doi: 10.4274/npa.y7076.

188. Gielen M, Sieglar Retchless B, Mony L, Johnson JW, Paoletti P. Mechanism of differential control of NMDA receptor activity by NR2 subunits. *Nature.* 2009 Jun 4;459(7247):703-7. doi: 10.1038/nature07993.

189. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab.* 2018;72(2):87-95. doi: 10.1159/000486536.

190. Gil Martínez V, Avedillo Salas A, Santander Ballestín S. Vitamin Supplementation and Dementia: A Systematic Review. *Nutrients.* 2022 Feb 28;14(5):1033. doi: 10.3390/nu14051033.

191. Ginde AA, Liu MC, Camargo CA Jr. Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1988-2004. *Arch Intern Med.* 2009 Mar 23;169(6):626-32. doi: 10.1001/archinternmed.2008.604.

192. Giordano T, Pan JB, Casuto D, Watanabe S, Arneric SP. Thyroid hormone regulation of NGF, NT-3 and BDNF RNA in the adult rat brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 1992 Dec;16(3-4):239-45. doi: 10.1016/0169-328x(92)90231-y.

193. Giovinazzo S, Vicchio TM, Certo R, Alibrandi A, Palmieri O, Campennì A, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms/haplotypes and serum 25(OH)D<sub>3</sub> levels in Hashimoto's thyroiditis. *Endocrine.* 2017 Feb;55(2):599-606. doi: 10.1007/s12020-016-0942-5.

194. Gliwińska A, Czubilińska-Łada J, Więckiewicz G, Świętochowska E, Badeński A, Dworak M, Szczepańska M. The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Diagnosis and Treatment of Epilepsy, Depression, Schizophrenia, Anorexia Nervosa and Alzheimer's Disease as Highly Drug-Resistant Diseases: A Narrative Review. *Brain Sci.* 2023 Jan 18;13(2):163. doi: 10.3390/brainsci13020163.
195. Goltz A, Janowitz D, Hannemann A, Nauck M, Hoffmann J, Seyfart T, et al. Association of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Vitamin D with Depression and Obesity: A Population-Based Study. *Neuropsychobiology.* 2017;76(4):171-81. doi: 10.1159/000489864.
196. Gomez-Pinedo U, Cuevas JA, Benito-Martín MS, Moreno-Jiménez L, Esteban-Garcia N, Torre-Fuentes L, et al. Vitamin D increases remyelination by promoting oligodendrocyte lineage differentiation. *Brain Behav.* 2020 Jan;10(1):e01498. doi: 10.1002/brb3.1498.
197. Gorkhali B, Sharma S, Amatya M, Acharya D, Sharma M. Anxiety and Depression among Patients with Thyroid Function Disorders. *J Nepal Health Res Counc.* 2020 Nov 13;18(3):373-8. doi: 10.33314/jnhrc.v18i3.2499.
198. Gothié JD, Demeneix B, Remaud S. Comparative approaches to understanding thyroid hormone regulation of neurogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2017 Dec 25;459:104-15. doi: 10.1016/j.mce.2017.05.020.
199. Gottwald-Hostalek U, Schulte B. Low awareness and under-diagnosis of hypothyroidism. *Curr Med Res Opin.* 2022 Jan;38(1):59-64. doi: 10.1080/03007995.2021.1997258.
200. Gratacòs M, González JR, Mercader JM, de Cid R, Urretavizcaya M, Estivill X. Brain-derived neurotrophic factor Val66Met and psychiatric disorders: meta-analysis of case-control studies confirm association to substance-related disorders, eating disorders, and schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2007 Apr 1;61(7):911-22. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.08.025.
201. Grudet C, Lindqvist D, Malm J, Westrin Å, Ventorp F. 25(OH)D levels are decreased in patients with difficult-to-treat depression. *Compr*

Psychoneuroendocrinol. 2022 Feb 9;10:100126. doi: 10.1016/j.cpneec.2022.100126.

202. Guleryuz B, Akin F, Ata MT, Dalyanoglu MM, Turgut S. Vitamin-D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms (TaqI, FokI) in Turkish Patients with Hashimoto's Thyroiditis: Relationship to the Levels of Vit-D and Cytokines. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2016;16(2):131-9. doi: 10.2174/1871530316666160728092613.

203. Gupta U, Mir SS, Srivastava A, Garg N, Agarwal SK, Pande S, Mittal B. Signal transducers and activators of transcription (STATs) gene polymorphisms related with susceptibility to rheumatic heart disease in north Indian population. *Immun Lett*. 2014;161:100-5. doi: 10.1016/j.imlet.2014.04.015.

204. Hahn C, Islamian AP, Renz H, Nockher WA. Airway epithelial cells produce neurotrophins and promote the survival of eosinophils during allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(4):787-94. doi: 10.1016/j.jaci.2005.12.1339.

205. Hahn J, Cook NR, Alexander EK, Friedman S, Walter J, Bubes V, et al. Vitamin D and marine omega 3 fatty acid supplementation and incident autoimmune disease: VITAL randomized controlled trial. *BMJ*. 2022 Jan 26;376:e066452. doi: 10.1136/bmj-2021-066452.

206. Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol*. 1967;6(4):278-96,.

207. Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol*. 1959;32(1):50-5.

208. Han P, She Y, Yang Z, Zhuang M, Wang Q, Luo X, et al. Cbln1 regulates axon growth and guidance in multiple neural regions. *PLoS Biol*. 2022 Nov 17;20(11):e3001853. doi: 10.1371/journal.pbio.3001853.

209. Harley SBR, Willis EF, Shaikh SN, Blackmore DG, Sah P, Ruitenber MJ, et al. Selective Ablation of BDNF from Microglia Reveals Novel Roles in Self-Renewal and Hippocampal Neurogenesis. *J Neurosci*. 2021 May 12;41(19):4172-86. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2539-20.2021.

210. Harms LR, Burne TH, Eyles DW, McGrath JJ. Vitamin D and the brain. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;25(4):657-69. doi: 10.1016/j.beem.2011.05.009.
211. Hashimoto K, Shimizu E, Komatsu N, Nakazato M, Okamura N, Watanabe H, et al. Increased levels of serum basic fibroblast growth factor in schizophrenia. *Psychiatry research.* 2003;120(3):211-8. doi: 10.1016/S0165-1781(03)00186-0.
212. Häusler D, Weber MS. Vitamin D Supplementation in Central Nervous System Demyelinating Disease-Enough Is Enough. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan 8;20(1):218. doi: 10.3390/ijms20010218.
213. He T, Wu Z, Zhang X, Liu H, Wang Y, Jiang R, et al. A Bibliometric Analysis of Research on the Role of BDNF in Depression and Treatment. *Biomolecules.* 2022 Oct 12;12(10):1464. doi: 10.3390/biom12101464.
214. Hegedüs L, Bianco AC, Jonklaas J, Pearce SH, Weetman AP, Perros P. Primary hypothyroidism and quality of life. *Nat Rev Endocrinol.* 2022 Apr;18(4):230-42. doi: 10.1038/s41574-021-00625-8.
215. Hirai H, Pang Z, Bao D, Miyazaki T, Li L, Miura E, et al. Cbln1 is essential for synaptic integrity and plasticity in the cerebellum. *Nat Neurosci.* 2005 Nov;8(11):1534-41. doi: 10.1038/nn1576.
216. Horvath PM, Chanaday NL, Alten B, Kavalali ET, Monteggia LM. A subthreshold synaptic mechanism regulating BDNF expression and resting synaptic strength. *Cell Rep.* 2021 Aug 3;36(5):109467. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109467.
217. Hu C, Chen W, Myers SJ, Yuan H, Traynelis SF. Human GRIN2B variants in neurodevelopmental disorders. *J Pharmacol Sci.* 2016 Oct;132(2):115-21. doi: 10.1016/j.jphs.2016.10.002.
218. Hu J, Jia J, Zhang Y, Miao R, Huo X, Ma F. Effects of vitamin D<sub>3</sub> supplementation on cognition and blood lipids: a 12-month randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018 Dec;89(12):1341-7. doi: 10.1136/jnnp-2018-318594.



219. Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 2003;72:609-42. doi: 10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629.

220. Huang H, Fang M, Jostins L, Umićević Mirkov M, Boucher G, Anderson CA, et al.; International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium; Weersma RK, Duerr RH, Mathew CG, Rioux JD, McGovern DPB, Cho JH, et al. Fine-mapping inflammatory bowel disease loci to single-variant resolution. *Nature.* 2017 Jul 13;547(7662):173-8. doi: 10.1038/nature22969.

221. Huang YZ, Won S, Ali DW, Wang Q, Tanowitz M, Du QS, et al. Regulation of neuregulin signaling by PSD-95 interacting with ErbB4 at CNS synapses. *Neuron.* 2000;26(2):443-55. doi: 10.1016/s0896-6273(00)81176-9.

222. Hung PL, Hsu MH, Yu HR, Wu KLH, Wang FS. Thyroxin Protects White Matter from Hypoxic-Ischemic Insult in the Immature Sprague-Dawley Rat Brain by Regulating Periventricular White Matter and Cortex BDNF and CREB Pathways. *Int J Mol Sci.* 2018 Aug 29;19(9):2573. doi: 10.3390/ijms19092573.

223. Husson M, Enderlin V, Alfos S, Boucheron C, Pallet V, Higuieret P. Expression of neurogranin and neuromodulin is affected in the striatum of vitamin A-deprived rats. *Brain Res Mol Brain Res.* 2004 Apr 7;123(1-2):7-17. doi: 10.1016/j.molbrainres.2003.12.012..

224. Hwang L, Choi IY, Kim SE, Ko IG, Shin MS, Kim CJ, et al. Dexmedetomidine ameliorates intracerebral hemorrhage-induced memory impairment by inhibiting apoptosis and enhancing brain-derived neurotrophic factor expression in the rat hippocampus. *Int J Mol Med.* 2013 May;31(5):1047-56. doi: 10.3892/ijmm.2013.1301.

225. Indo Y. NGF-dependent neurons and neurobiology of emotions and feelings: Lessons from congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018 Apr;87:1-16. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.01.013.

226. Ismail NA, Leong Abdullah MFI, Hami R, Ahmad Yusof H. A narrative review of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on cognitive

performance in Alzheimer's disease. *Growth Factors*. 2020 Jun-Jul;38(3-4):210-25. doi: 10.1080/08977194.2020.1864347.

227. Ittermann T, Völzke H, Baumeister SE, Appel K, Grabe HJ. Diagnosed thyroid disorders are associated with depression and anxiety. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2015 Sep;50(9):1417-25. doi: 10.1007/s00127-015-1043-0.

228. Jamka M, Ruchała M, Walkowiak J. Witamina D a choroba Hashimoto [Vitamin D and Hashimoto's disease]. *Pol Merkur Lekarski*. 2019 Sep 25;47(279):111-3. Polish.

229. Jang M, Gould E, Xu J, Kim EJ, Kim JH. Oligodendrocytes regulate presynaptic properties and neurotransmission through BDNF signaling in the mouse brainstem. *Elife*. 2019 Apr 18;8:e42156. doi: 10.7554/eLife.42156.

230. Jaumotte JD, Wyrostek SL, Zigmond MJ. Protection of cultured dopamine neurons from MPP(+) requires a combination of neurotrophic factors. *Eur J Neurosci*. 2016 Jul;44(1):1691-9. doi: 10.1111/ejn.13252.

231. Jia C, Keasey MP, Lovins C, Hagg T. Inhibition of astrocyte FAK-JNK signaling promotes subventricular zone neurogenesis through CNTF. *Glia*. 2018 Nov;66(11):2456-69. doi: 10.1002/glia.23498.

232. Jia J, Hu J, Huo X, Miao R, Zhang Y, Ma F. Effects of vitamin D supplementation on cognitive function and blood A $\beta$ -related biomarkers in older adults with Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019 Dec;90(12):1347-52. doi: 10.1136/jnnp-2018-320199.

233. Jiang H, Chen X, Qian X, Shao S. Effects of vitamin D treatment on thyroid function and autoimmunity markers in patients with Hashimoto's thyroiditis-A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Pharm Ther*. 2022 Jun;47(6):767-75. doi: 10.1111/jcpt.13605.

234. Jiang P, Zhang LH, Cai HL, Li HD, Liu YP, Tang MM, et al. Neurochemical effects of chronic administration of calcitriol in rats. *Nutrients*. 2014 Dec 22;6(12):6048-59. doi: 10.3390/nu6126048.

235. Juceviciute N, Zilaitiene B, Aniuliene R, Vanagiene V. The Link between Thyroid Autoimmunity, Depression and Bipolar Disorder. *Open Med (Wars)*. 2019;14:52-8. <https://doi.org/10.1515/med-2019-0008>

236. Jurado-Flores M, Warda F, Mooradian A. Pathophysiology and Clinical Features of Neuropsychiatric Manifestations of Thyroid Disease. *J Endocr Soc*. 2022 Jan 6;6(2):bvab194. doi: 10.1210/jendso/bvab194.

237. Kagawa T, Watanabe M, Inoue N, Otsu H, Saeki M, Katsumata Y, et al. Increases of microRNA let-7e in peripheral blood mononuclear cells in Hashimoto's disease. *Endocr J*. 2016 Apr 25;63(4):375-80. doi: 10.1507/endocrj.EJ15-0577.

238. Kajta M, Makarewicz D, Ziemińska E, Jantas D, Domin H, Lasoń W, et al. Neuroprotection by co-treatment and post-treating with calcitriol following the ischemic and excitotoxic insult in vivo and in vitro. *Neurochem Int*. 2009 Sep;55(5):265-74. doi: 10.1016/j.neuint.2009.03.010.

239. Kamalzadeh L, Saghafi M, Mortazavi SS, Jolfaei AG. Vitamin D deficiency and depression in obese adults: a comparative observational study. *BMC Psychiatry*. 2021 Nov 30;21(1):599. doi: 10.1186/s12888-021-03586-4.

240. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Expression of cytokines and cytokine receptors-genes in patients with different forms of thyroid pathology in ukrainian population. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 2022;23(4)6:299-308. doi: 10.2478/sjecr-2021-0038

241. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Transcription Factors and Regulators Pathway-focused Genes Expression Analysis in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. *Curr Pharm Biotechnol*. 2022;23(11):1396-404. doi: 10.2174/1389201023666220217123454.

242. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Transcriptional activity of neurotrophins genes and their receptors in the peripheral blood in patients with thyroid diseases in Bukovinian population of Ukraine. *Open Access Maced J Med Sci*. 2021;9(A):208-16. doi: 10.3889/oamjms.2021.6037.

243. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Association between Serum Brain-derived Neurotrophic Factor and 25-OH Vitamin D Levels with Vitamin D Receptors Gene Polymorphism (rs2228570) in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. Open Access Maced J Med Sci. 2021 Aug 31;9(A):659-64. doi: 10.3889/oamjms.2021.6631.

244. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Prediction of the development of depression in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Jan 31; 10(B):137-45 doi: 10.3889/oamjms.2022.7896.

245. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Vitamin D alters the transcriptional profile of blood cells in patients with primary hypothyroidism Фізiol. журн. 2022;68(5):16-24. doi: 10.15407/fz68.05.016

246. Kamyshna I, Pavlovych L, Maslyanko V, Chornenka Z Epidemiological assessment of dynamics of the prevalence and incidence of the thyroid gland diseases in Ukraine and Chernivtsi region. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(3):75-81. doi: 10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.11

247. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Bytsko N, Kamyshnyi A. The complex influence of the combination of BDNF (rs6265), VDR (rs2228570) and NMDA (rs4880213) genotypes on the development of cognitive disorders in patients with thyroid pathology. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(1):9-15. doi: 10.22141/2224-0721.19.1.2023.1235.

248. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Kamyshnyi A. Evaluation of the influence of single-nucleotide polymorphisms of *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) genes on gene expression in different tissues Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(2):83-88. DOI: 10.22141/2224-0721.19.2.2023.1250.

249. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv V, Pankiv I, Kamyshnyi A. Anxiety disorders and prediction of their development in patients with

hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Feb 05; 10(B):1-10. doi: 10.3889/oamjms.2022.9746

250. Kamyshna I. The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022;18(7):208-212. doi: 10.22141/2224-0721.18.4.2022.1173.

251. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Neurogenesis pathway-focused gene expression analysis in patients with primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Endocrine Abstracts. 2021;73:AEP658. doi: 10.1530/endoabs.73.AEP658

252. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis affect the expression of mRNA nerve impulse transmission genes in the blood of patients. In: Proceedings of the 3<sup>rd</sup> Edition of World Congress Endocrinology, Diabetes and Metabolism; 2022 October 04-05; London. London; 2022, p 29.

253. Kamyshna I, Pavlovyh L, Malyk I, Kamyshnyi A. 25-OH Vitamin D blood serum linkage with *VDR* gene polymorphism (rs2228570) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population. Journal of Medicine and Life. 2021;14(4):549-56. doi: 10.25122/jml-2021-0101.

254. Kamyshna I, Pavlovyh L, Maslyanko V, Kamyshnyi A. Analysis of the transcriptional activity of genes of neuropeptides and their receptors and their receptors in the blood of patients with thyroid pathology. Journal of Medicine and Life. 2021 Mar-Apr;14(2):243-249. doi: 10.25122/jml-2020-0183.

255. Kamyshna I, Pavlovyh L, Sydorhuk L, Malyk I, Kamyshnyi A. BDNF blood serum linkage with *BDNF* gene polymorphism (rs6265) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population Endocr Regul. 2021 Dec 7;55(4):193-203. DOI: 10.2478/enr-2021-0021

256. Kamyshna II. Anxiety disorders in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. In: Proceedings of the XI International Scientific and

Practical Conference Problems of the Development of Science and the View of Society; 2023 March 21-24; Graz. Graz; 2023, p. 160-162.

257. Kamyshna II. Cognitive disorders in patients with thyroid pathology. / In: Proceedings of the XIV International Scientific and Practical Conference Development, Education, Culture: Integration Trends in the Modern World; 2023 April 11-14; Oslo. Oslo; 2023, p. 211-213.

258. Kamyshna I.I. Cognitive impairment in patients with thyroid pathology. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги; 2022 верес. 29-30; Тернопіль. Тернопіль; 2022, p. 125-126.

259. Kamyshna II. Depression disorders in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. In: Proceedings of the XIII International Scientific and Practical Conference Theoretical and Applied Aspects of the Development of Science; 2023 May 09-12; Bilbao. Bilbao; 2023, p. 205-206.

260. Kamyshna II. Differential expression of mRNA Neurogenesis Pathway-focused Genes in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги; 2021 верес. 23–24; Тернопіль. Тернопіль; 2021, с. 86-87.

261. Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Association between NMDA gene polymorphism (rs4880213) and GRIN2B blood serum levels in thyroid pathology patients. J Med Life. 2022 Jan;15(1):109-16. doi: 10.25122/jml-2021-0372.

262. Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Endocr Regul. 2022 Jul 13;56(3):178-89. doi: 10.2478/enr-2022-0019.

263. Kamyshna I. The Transcriptional Activity of Genes Regulating Neurogenesis in the Blood of Patients with Primary Hypothyroidism and Autoimmune. In: Proceedings of the 6th European Congress on Neurology and Brain Disorders; 2022 November 17-18; Rome. Rome; 2022, p 56.

264. Kamyshna I. Effect of vitamin D on serum BDNF level in patients with hypothyroidism caused by autoimmune thyroiditis. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022;18(5):297-301. doi: 10.22141/2224-0721.18.5.2022.1189..

265. Kamyshna I. The impact of cholecalciferol on cognitive performance in individuals diagnosed with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2023;1(81):32-8. doi: 10.30978/CEES-2023-1-32

266. Kamyshna I. Vitamin D in the treatment of anxiety in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism in the West-Ukrainian population. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2022;3 (79):20-4. doi: 10.30978/CEES-2022-3-20

267. Kanagasabai R, Karthikeyan K, Vedam K, Qien W, Zhu Q, Ilangovan G. Hsp27 protects adenocarcinoma cells from UV-induced apoptosis by Akt and p21-dependent pathways of survival. Mol Cancer Res. 2010; 8(10):1399-412. doi:10.1158/1541-7786.MCR-10-0181

268. Kaneko I, Sabir MS, Dussik CM, Whitfield GK, Karrys A, Hsieh JC, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D regulates expression of the tryptophan hydroxylase 2 and leptin genes: implication for behavioral influences of vitamin D. FASEB J. 2015 Sep;29(9):4023-35. doi: 10.1096/fj.14-269811.

269. Kantrowitz JT, Javitt DC. N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia? Brain Res Bull. 2010 Sep 30;83(3-4):108-21. doi: 10.1016/j.brainresbull.2010.04.006.

270. Kapoor R, van Hogerlinden M, Wallis K, Ghosh H, Nordstrom K, Vennstrom B, Vaidya VA. Unliganded thyroid hormone receptor alpha1 impairs

adult hippocampal neurogenesis. *FASEB J.* 2010 Dec;24(12):4793-805. doi: 10.1096/fj.10-161802.

271. Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi A, Noguchi J. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci.* 2010 Mar;33(3):121-9. doi: 10.1016/j.tins.2010.01.001.

272. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2020 Mar 1;28(5):115327. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115327.

273. Kaviani M, Nikooyeh B, Zand H, Yaghmaei P, Neyestani TR. Effects of vitamin D supplementation on depression and some involved neurotransmitters. *J Affect Disord.* 2020 May 15;269:28-35. doi: 10.1016/j.jad.2020.03.029.

274. Ketchesin KD, Stinnett GS, Seasholtz AF. Corticotropin-releasing hormone-binding protein and stress: from invertebrates to humans. *Stress.* 2017;20(5):449-64. doi: 10.1080/10253890.2017.1322575.

275. Kheirollahi M, Kazemi E, Ashouri S. Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene Val66Met Polymorphism and Risk of Schizophrenia: A Meta-analysis of Case-Control Studies. *Cell Mol Neurobiol.* 2016 Jan;36(1):1-10. doi: 10.1007/s10571-015-0229-z.

276. Khozam SA, Sumaili AM, Alflan MA, Shawabkeh RAS. Association Between Vitamin D Deficiency and Autoimmune Thyroid Disorder: A Systematic Review. *Cureus.* 2022 Jun 12;14(6):e25869. doi: 10.7759/cureus.25869.

277. Kim D. Low vitamin D status is associated with hypothyroid Hashimoto's thyroiditis. *Hormones (Athens).* 2016 Jul;15(3):385-93. doi: 10.14310/horm.2002.1681.

278. Kim D. The Role of Vitamin D in Thyroid Diseases. *Int J Mol Sci.* 2017 Sep 12;18(9):1949. doi: 10.3390/ijms18091949.

279. Kim EY, Kim SH, Rhee SJ, Huh I, Ha K, Kim J, et al. Relationship between thyroid-stimulating hormone levels and risk of depression among the



general population with normal free T4 levels. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Aug;58:114-9. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.04.016.

280. Kim JW, Autry AE, Na ES, Adachi M, Björkholm C, Kavalali ET, Monteggia LM. Sustained effects of rapidly acting antidepressants require BDNF-dependent MeCP2 phosphorylation. *Nat Neurosci*. 2021 Aug;24(8):1100-9. doi: 10.1038/s41593-021-00868-8.

281. Kirim S, Keskek SO, Köksal F, Haydardedeoglu FE, Bozkirli E, Toledano Y. Depression in patients with euthyroid chronic autoimmune thyroiditis. *Endocr J*. 2012;59(8):705-8. doi: 10.1507/endocrj.ej12-0035.

282. Kmieć P, Minkiewicz I, Rola R, Sworczak K, Żmijewski MA, Kowalski K. Vitamin D status including 3-epi-25(OH)D3 among adult patients with thyroid disorders during summer months. *Endokrynol Pol*. 2018;69(6):653-60. doi: 10.5603/EP.a2018.0065.

283. Ko P, Burkert R, McGrath J, Eyles D. Maternal vitamin D3 deprivation and the regulation of apoptosis and cell cycle during rat brain development. *Brain Res Dev Brain Res*. 2004 Oct 15;153(1):61-8. doi: 10.1016/j.devbrainres.2004.07.013.

284. Koduah P, Paul F, Dörr JM. Vitamin D in the prevention, prediction and treatment of neurodegenerative and neuroinflammatory diseases. *EPMA J*. 2017 Nov 15;8(4):313-25. doi: 10.1007/s13167-017-0120-8.

285. Köhnke C, Herrmann M, Berger K. Associations of major depressive disorder and related clinical characteristics with 25-hydroxyvitamin D levels in middle-aged adults. *Nutr Neurosci*. 2022 Jun;25(6):1209-18. doi: 10.1080/1028415X.2020.1843892.

286. Köhrle J, Frädlich C. Deiodinases control local cellular and systemic thyroid hormone availability. *Free Radic Biol Med*. 2022 Nov 20;193(Pt 1):59-79. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.09.024.

287. Komisarenko YI, Bobryk MI. Vitamin D Deficiency and Immune Disorders in Combined Endocrine Pathology. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Oct 9;9:600. doi: 10.3389/fendo.2018.00600.

288. Korman BD, Kastner DL, Gregersen PK, Remmers EF. STAT4: genetics, mechanisms, and implications for autoimmunity. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2008 Sep;8(5):398-403. doi: 10.1007/s11882-008-0077-8.

289. Koromilas C, Liapi C, Schulpis KH, Kalafatakis K, Zarros A, Tsakiris S. Structural and functional alterations in the hippocampus due to hypothyroidism. *Metab Brain Dis.* 2010 Sep;25(3):339-54. doi: 10.1007/s11011-010-9208-8.

290. Kotkowska A, Sewerynek E, Domańska D, Pastuszek-Lewandoska D, Brzezińska E. Single nucleotide polymorphisms in the STAT3 gene influence AITD susceptibility, thyroid autoantibody levels, and IL6 and IL17 secretion. *Cell Mol Biol Lett.* 2015 Mar;20(1):88-101. doi: 10.1515/cmble-2015-0004.

291. Kotkowska Z, Strzelecki D. Depression and Autoimmune Hypothyroidism-Their Relationship and the Effects of Treating Psychiatric and Thyroid Disorders on Changes in Clinical and Biochemical Parameters Including BDNF and Other Cytokines-A Systematic Review. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022 Mar 24;15(4):391. doi: 10.3390/ph15040391.

292. Kotwal SK, Kotwal S, Gupta R, Singh JB, Mahajan A. Cerebellar ataxia as presenting feature of hypothyroidism. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60:183-5.. doi: 10.1590/2359-3997000000121

293. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cell Mol Neurobiol.* 2018 Apr;38(3):579-93. doi: 10.1007/s10571-017-0510-4.

294. Kozak R, Campbell BM, Strick CA, Horner W, Hoffmann WE, Kiss T, et al. Reduction of brain kynurenic acid improves cognitive function. *J. Neurosci.* 2014;34:10592-602. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1107-14.2014.

295. Krashin E, Piekiełko-Witkowska A, Ellis M, Ashur-Fabian O. Thyroid Hormones and Cancer: A Comprehensive Review of Preclinical and Clinical Studies. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Feb 13;10:59. doi: 10.3389/fendo.2019.00059.

296. Kravchenko VI, Andrusyshyna IM, Luzanchuk IA, Polumbryk MO, Tarashchenko YM. Association Between Thyroid Hormone Status and Trace Elements in Serum of Patients with Nodular Goiter. *Biol Trace Elem Res*. 2020 Aug;196(2):393-9. doi: 10.1007/s12011-019-01943-9.

297. Kristensen B, Hegedüs L, Lundy SK, Brimnes MK, Smith TJ, Nielsen CH. Characterization of Regulatory B Cells in Graves' Disease and Hashimoto's Thyroiditis. *PLoS One*. 2015 May 27;10(5):e0127949. doi: 10.1371/journal.pone.0127949.

298. Kristensen B. Regulatory B and T cell responses in patients with autoimmune thyroid disease and healthy controls. *Dan Med J*. 2016 Feb;63(2):B5177..

299. Kroenke K, Spitzer RL, Williams JB, Monahan PO, Löwe B. Anxiety disorders in primary care: prevalence, impairment, comorbidity, and detection. *Ann Intern Med*. 2007 Mar 6;146(5):317-25. doi: 10.7326/0003-4819-146-5-200703060-00004.

300. Kroenke K, Spitzer RL, Williams JB. The PHQ-9: validity of a brief depression severity measure. *J Gen Intern Med*. 2001 Sep;16(9):606-13. doi: 10.1046/j.1525-1497.2001.016009606.x.

301. Krysiak R, Kowalcze K, Okopień B. The impact of exogenous vitamin D on thyroid autoimmunity in euthyroid men with autoimmune thyroiditis and early-onset androgenic alopecia. *Pharmacol Rep*. 2021 Oct;73(5):1439-47. doi: 10.1007/s43440-021-00295-3.

302. Krysiak R, Kowalcze K, Okopień B. The impact of vitamin D on thyroid autoimmunity and hypothalamic-pituitary-thyroid axis activity in myo-inositol-treated and myo-inositol-naïve women with autoimmune thyroiditis: A pilot study. *J Clin Pharm Ther*. 2022 Nov;47(11):1759-67. doi: 10.1111/jcpt.13730.

303. Krysiak R, Szkróbka W, Okopień B. The Effect of Vitamin D on Thyroid Autoimmunity in Levothyroxine-Treated Women with Hashimoto's

Thyroiditis and Normal Vitamin D Status. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017 Apr;125(4):229-33. doi: 10.1055/s-0042-123038.

304. Lai RH, Hsu CC, Yu BH, Lo YR, Hsu YY, Chen MH, Juang JL. Vitamin D supplementation worsens Alzheimer's progression: Animal model and human cohort studies. *Aging Cell*. 2022 Aug;21(8):e13670. doi: 10.1111/accel.13670.

305. Lam P, Cheng CY, Hong CJ, Tsai SJ. Association study of a brain-derived neurotrophic factor (Val66Met) genetic polymorphism and panic disorder. *Neuropsychobiology*. 2004;49(4):178-81. doi: 10.1159/000077362.

306. Landel V, Annweiler C, Millet P, Morello M, Féron F. Vitamin D, Cognition and Alzheimer's Disease: The Therapeutic Benefit is in the D-Tails. *J Alzheimers Dis*. 2016 May 11;53(2):419-44. doi: 10.3233/JAD-150943.

307. Laughlin GA, Kritz-Silverstein D, Bergstrom J, Reas ET, Jassal SK, Barrett-Connor E, et al. Vitamin D Insufficiency and Cognitive Function Trajectories in Older Adults: The Rancho Bernardo Study. *J Alzheimers Dis*. 2017;58(3):871-83. doi:10.3233/JAD-161295

308. Leal G, Bramham CR, Duarte CB. BDNF and Hippocampal Synaptic Plasticity. *Vitam Horm*. 2017;104:153-95. doi: 10.1016/bs.vh.2016.10.004.

309. Ledda F, Paratcha G, Sandoval-Guzmán T, Ibáñez CF. GDNF and GFRalpha1 promote formation of neuronal synapses by ligand-induced cell adhesion. *Nat Neurosci*. 2007 Mar;10(3):293-300. doi: 10.1038/nn1855.

310. Lee C. Genome-Wide Expression Quantitative Trait Loci Analysis Using Mixed Models. *Front Genet*. 2018 Aug 21;9:341. doi: 10.3389/fgene.2018.00341

311. Lee PR, Brady D, Koenig JJ. Thyroid hormone regulation of N-methyl-D-aspartic acid receptor subunit mRNA expression in adult brain. *J Neuroendocrinol*. 2003 Jan;15(1):87-92. doi: 10.1046/j.1365-2826.2003.00959.x.

312. Lee Y, Lim SW, Kim SY, Chung JW, Kim J, Myung W, et al. Association between the BDNF Val66Met Polymorphism and Chronicity of

Depression. *Psychiatry Investig.* 2013 Mar;10(1):56-61. doi: 10.4306/pi.2013.10.1.56.

313. LeMoult J, Gotlib IH. Depression: A cognitive perspective. *Clin Psychol Rev.* 2019 Apr;69:51-66. doi: 10.1016/j.cpr.2018.06.008.

314. Leschik J, Gentile A, Cicek C, Péron S, Tevosian M, Beer A, et al. Brain-derived neurotrophic factor expression in serotonergic neurons improves stress resilience and promotes adult hippocampal neurogenesis. *Prog Neurobiol.* 2022 Oct;217:102333. doi: 10.1016/j.pneurobio.2022.102333.

315. Levi A, Eldridge JD, Paterson BM. Molecular cloning of a gene sequence regulated by nerve growth factor. *Science.* 1985;229(4711):393-5. doi: 10.1126/science.3839317.

316. Leyhe T, Müssig K. Cognitive and affective dysfunctions in autoimmune thyroiditis. *Brain Behav Immun.* 2014 Oct;41:261-6. doi: 10.1016/j.bbi.2014.03.008.

317. Li Q, Yang W, Li J, Shan Z. Emerging trends and hot spots in autoimmune thyroiditis research from 2000 to 2022: A bibliometric analysis. *Front Immunol.* 2022 Aug 11;13:953465. doi: 10.3389/fimmu.2022.953465.

318. Li R, Huang FS, Abbas AK, Wigström H. Role of NMDA receptor subtypes in different forms of NMDA-dependent synaptic plasticity. *BMC Neurosci.* 2007 Jul 26;8:55. doi: 10.1186/1471-2202-8-55.

319. Li Y, Li F, Qin D, Chen H, Wang J, Wang J, et al. The role of brain derived neurotrophic factor in central nervous system. *Front Aging Neurosci.* 2022 Sep 8;14:986443. doi: 10.3389/fnagi.2022.986443.

320. Li Y, Luikart BW, Birnbaum S, Chen J, Kwon CH, Kernie SG, et al. TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron.* 2008 Aug 14;59(3):399-412. doi: 10.1016/j.neuron.2008.06.023.

321. Lima FR, Gervais A, Colin C, Izembart M, Neto VM, Mallat M. Regulation of microglial development: a novel role for thyroid hormone. *J*

Neurosci. 2001 Mar 15;21(6):2028-38. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-06-02028.2001.

322. Lin HY, Glinsky GV, Mousa SA, Davis PJ. Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells. *Oncotarget*. 2015;6(17):14735-43. doi: 10.18632/oncotarget.4023

323. Lin LF, Zhang TJ, Collins F, Armes LG. Purification and initial characterization of rat B49 glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Neurochem*. 1994 Aug;63(2):758-68. doi: 10.1046/j.1471-4159.1994.63020758.x.

324. Lin YJ, Hsin IL, Sun HS, Lin S, Lai YL, Chen HY, et al. NTF3 Is a Novel Target Gene of the Transcription Factor POU3F2 and Is Required for Neuronal Differentiation. *Molecular Neurobiology*. 2018;55(11):8403-13. doi: 10.1007/s12035-018-0995-y.

325. Lindholm D, Castrén E, Tsoulfas P, Kolbeck R, Berzaghi Mda P, Leingärtner A, et al. Neurotrophin-3 induced by tri-iodothyronine in cerebellar granule cells promotes Purkinje cell differentiation. *J Cell Biol*. 1993 Jul;122(2):443-50. doi: 10.1083/jcb.122.2.443.

326. Lindholm P, Saarma M. Cerebral dopamine neurotrophic factor protects and repairs dopamine neurons by novel mechanism. *Mol Psychiatry*. 2022 Mar;27(3):1310-21. doi: 10.1038/s41380-021-01394-6.

327. Lindvall O, Kokaia Z, Bengzon J, Elmér E, Kokaia M. Neurotrophins and brain insults. *Trends Neurosci*. 1994 Nov;17(11):490-6. doi: 10.1016/0166-2236(94)90139-2.

328. Lithgow H, Florida-James G, Ross M, Duncan G, Leggate M. Exercise acutely increases vitamin D receptor (VDR) expression in T-lymphocytes in vitamin D deficient men, independent of age. *Exp Physiol*. 2021 Jul;106(7):1460-9. doi: 10.1113/EP089480.

329. Liu B, Wang Z, Lin L, Yang H, Gao F, Gong T, et al. Brain GABA+ changes in primary hypothyroidism patients before and after levothyroxine treatment: A longitudinal magnetic resonance spectroscopy study. *Neuroimage Clin*. 2020;28:102473. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102473.

330. Liu JH, Zhang M, Wang Q, Wu DY, Jie W, Hu NY, et al. Distinct roles of astroglia and neurons in synaptic plasticity and memory. *Mol Psychiatry*. 2022 Feb;27(2):873-85. doi: 10.1038/s41380-021-01332-6.
331. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
332. Loh HH, Lim LL, Yee A, Loh HS. Association between subclinical hypothyroidism and depression: an updated systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry*. 2019 Jan 8;19(1):12. doi: 10.1186/s12888-018-2006-2.
333. Long X., Wu W. F., Hu Z. Q., Zhou Z. M. Association between vitamin D receptor polymorphisms and the risk of Graves' disease. *Chinese Journal of Gerontology*. 2016;35(12):3254-6.
334. Lopez RB, Denny BT, Fagundes CP. Neural mechanisms of emotion regulation and their role in endocrine and immune functioning: A review with implications for treatment of affective disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018 Dec;95:508-14. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.10.019.
335. Lorente L, Martín MM, Almeida T, Pérez-Cejas A, Ramos L, Argueso M, et al. Serum Levels of Substance P and Mortality in Patients with a Severe Acute Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci*. 2016 Jun 22;17(6):991. doi: 10.3390/ijms17060991.
336. Lorenzini T, Dotta L, Giacomelli M, Vairo D, Badolato R. STAT mutations as program switchers: turning primary immunodeficiencies into autoimmune diseases. *J Leukoc Biol*. 2017 Jan;101(1):29-38. doi: 10.1189/jlb.5RI0516-237RR.
337. Losenkov IS, Mulder NJV, Levchuk LA, Vyalova NM, Loonen AJM, Bosker FJ, et al. Association Between BDNF Gene Variant Rs6265 and the Severity of Depression in Antidepressant Treatment-Free Depressed Patients. *Front Psychiatry*. 2020 Feb 12;11:38. doi: 10.3389/fpsy.2020.00038.

338. Lovinger DM. Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum. *Neuropharmacology*. 2010 Jun;58(7):951-61. doi: 10.1016/j.neuropharm.2010.01.008.

339. Łukaszyk E, Bień-Barkowska K, Bień B. Cognitive Functioning of Geriatric Patients: Is Hypovitaminosis D the Next Marker of Cognitive Dysfunction and Dementia? *Nutrients*. 2018 Aug 16;10(8):1104. doi: 10.3390/nu10081104.

340. Luo X, Ou R, Dutta R, Tian Y, Xiong H, Shang H. Association Between Serum Vitamin D Levels and Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol*. 2018 Nov 12;9:909. doi: 10.3389/fneur.2018.00909.

341. Luty J, Ruckemann-Dziurdzińska K, Witkowski JM, Bryl E. Immunological aspects of autoimmune thyroid disease – Complex interplay between cells and cytokines. *Cytokine*. 2019 Apr;116:128-33. doi: 10.1016/j.cyto.2019.01.003.

342. Ma J, Wu D, Li C, Fan C, Chao N, Liu J, et al. Lower Serum 25-Hydroxyvitamin D Level is Associated With 3 Types of Autoimmune Thyroid Diseases. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Sep;94(39):e1639. doi: 10.1097/MD.0000000000001639.

343. Ma L, Yin M, Wu X, Wu C, Yang S, Sheng J, et al. Expression of trophinin and bystin identifies distinct cell types in the germinal zones of adult rat brain. *Eur J Neurosci*. 2006;23(9):2265-76. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04782.x.

344. Ma YY, Cepeda C, Cui CL. The role of striatal NMDA receptors in drug addiction. *Int Rev Neurobiol*. 2009;89:131-46. doi: 10.1016/S0074-7742(09)89006-5.

345. Máčová L, Bičíková M, Ostatníková D, Hill M, Stárka L. Vitamin D, neurosteroids and autism. *Physiol Res*. 2017 Sep 26;66(Suppl 3):S333-S340. doi: 10.33549/physiolres.933721.



346. Madhusudhan U, M K, Singaravelu V, Ganji V, John N, Gaur A. Brain-Derived Neurotrophic Factor-Mediated Cognitive Impairment in Hypothyroidism. *Cureus*. 2022 Apr 1;14(4):e23722. doi: 10.7759/cureus.23722.

347. Marini F, Bartoccini E, Cascianelli G, Voccoli V, Baviglia MG, Magni MV, et al. Effect of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in embryonic hippocampal cells. *Hippocampus*. 2010 Jun;20(6):696-705. doi: 10.1002/hipo.20670.

348. Martens L, Herrmann L, Colic L, Li M, Richter A, Behnisch G, et al. Met carriers of the BDNF Val66Met polymorphism show reduced Glx/NAA in the pregenual ACC in two independent cohorts. *Sci Rep*. 2021 Mar 24;11(1):6742. doi: 10.1038/s41598-021-86220-3.

349. Martin TC, Ilieva KM, Visconti A, Beaumont M, Kiddle SJ, Dobson RJB, et al. Dysregulated Antibody, Natural Killer Cell and Immune Mediator Profiles in Autoimmune Thyroid Diseases. *Cells*. 2020 Mar 9;9(3):665. doi: 10.3390/cells9030665.

350. Masi G, Brovedani P. The hippocampus, neurotrophic factors and depression: possible implications for the pharmacotherapy of depression. *CNS Drugs*. 2011 Nov 1;25(11):913-31. doi: 10.2165/11595900-000000000-00000.

351. Mazokopakis EE, Papadomanolaki MG, Tsekouras KC, Evangelopoulos AD, Kotsiris DA, Tzortzinis AA. Is vitamin D related to pathogenesis and treatment of Hashimoto's thyroiditis? *Hell J Nucl Med*. 2015 Sep-Dec;18(3):222-7.

352. Mazur A, Frączek P, Tabarkiewicz J. Vitamin D as a Nutri-Epigenetic Factor in Autoimmunity-A Review of Current Research and Reports on Vitamin D Deficiency in Autoimmune Diseases. *Nutrients*. 2022 Oct 14;14(20):4286. doi: 10.3390/nu14204286.

353. Medici M, Direk N, Visser WE, Korevaar TI, Hofman A, Visser TJ, et al. Thyroid function within the normal range and the risk of depression: a population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Apr;99(4):1213-9. doi: 10.1210/jc.2013-3589.

354. Meeker RB, Williams KS. The p75 neurotrophin receptor: at the crossroad of neural repair and death. *Neural Regen Res.* 2015 May;10(5):721-5. doi: 10.4103/1673-5374.156967..

355. Mei L, Xiong WC. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci.* 2008 Jun;9(6):437-52. doi: 10.1038/nrn2392.

356. Mei S, Chen W, Chen S, Hu Y, Dai X, Liu X. Evaluation of the Relationship Between *BDNF* Val66Met Gene Polymorphism and Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Meta-Analysis. *Front Psychiatry.* 2022 Apr 28;13:888774. doi: 10.3389/fpsyt.2022.888774.

357. Memarpour S, Beheshti F, Baghcheghi Y, Vafaei AA, Hosseini M, Rashidy-Pour A. Neuronal Nitric Oxide Inhibitor 7-Nitroindazole Improved Brain-Derived Neurotrophic Factor and Attenuated Brain Tissues Oxidative Damage and Learning and Memory Impairments of Hypothyroid Juvenile Rats. *Neurochem Res.* 2020 Nov;45(11):2775-85. doi: 10.1007/s11064-020-03128-6.

358. Mercado NM, Stancati JA, Sortwell CE, Mueller RL, Boezwinkle SA, Duffy MF, et al. The *BDNF* Val66Met polymorphism (rs6265) enhances dopamine neuron graft efficacy and side-effect liability in rs6265 knock-in rats. *Neurobiol Dis.* 2021 Jan;148:105175. doi: 10.1016/j.nbd.2020.105175.

359. Mikos H, Mikos M, Rabska-Pietrzak B, Niedziela M. The clinical role of serum concentrations of selected cytokines: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 in diagnosis of autoimmune thyroid disease (AITD) in children. *Autoimmunity.* 2014 Nov;47(7):466-72. doi: 10.3109/08916934.2014.914175.

360. Minnone G, De Benedetti F, Bracci-Laudiero L. NGF and Its Receptors in the Regulation of Inflammatory Response. *Int J Mol Sci.* 2017;18(5):1028. doi: 10.3390/ijms18051028.

361. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein P. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Front Cell Neurosci.* 2019 Aug 7;13:363. doi: 10.3389/fncel.2019.00363.

362. Mirhosseini N, Brunel L, Muscogiuri G, Kimball S. Physiological serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with improved thyroid function-observations from a community-based program. *Endocrine*. 2017 Dec;58(3):563-573. doi: 10.1007/s12020-017-1450-y.

363. Mishra J, Vishwakarma J, Malik R, Gupta K, Pandey R, Maurya SK, et al. Hypothyroidism Induces Interleukin-1-Dependent Autophagy Mechanism as a Key Mediator of Hippocampal Neuronal Apoptosis and Cognitive Decline in Postnatal Rats. *Mol Neurobiol*. 2021 Mar;58(3):1196-211. doi: 10.1007/s12035-020-02178-9.

364. Miyamoto A, Wake H, Ishikawa AW, Eto K, Shibata K, Murakoshi H, et al. Microglia contact induces synapse formation in developing somatosensory cortex. *Nat Commun*. 2016 Aug 25;7:12540. doi: 10.1038/ncomms12540.

365. Mizuno Y, Takahashi K, Totsune K, Ohneda M, Konno H, Murakami O, et al. Decrease in cerebellin and corticotropin-releasing hormone in the cerebellum of olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome. *Brain Res*. 1995 Jul 17;686(1):115-8. doi: 10.1016/0006-8993(95)00467-5.

366. Mogensen TH. STAT3 and the Hyper-IgE syndrome: Clinical presentation, genetic origin, pathogenesis, novel findings and remaining uncertainties. *JAKSTAT*. 2013 Apr 1;2(2):e23435. doi: 10.4161/jkst.23435.

367. Molnár I. Interactions among thyroid hormone (FT<sub>4</sub>), chemokine (MCP-1) and neurotrophin (NGF- $\beta$ ) levels studied in Hungarian postmenopausal and obese women. *Cytokine*. 2020 Mar;127:154948. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154948..

368. Molteni R, Fumagalli F, Magnaghi V, Roceri M, Gennarelli M, Racagni G. Modulation of fibroblast growth factor-2 by stress and corticosteroids: from development to adult brain plasticity, *Brain research*, *Brain research reviews*. 2001;37(1-3):249-58. doi: 10.1016/S0165-0173(01)00128-X.

369. Mondal AC, Fatima M. Direct and indirect evidences of BDNF and NGF as key modulators in depression: role of antidepressants treatment. *Int J Neurosci*. 2019 Mar;129(3):283-296. doi: 10.1080/00207454.2018.1527328.

370. Montero-Pedrazuela A, Venero C, Lavado-Autric R, Fernández-Lamo I, García-Verdugo JM, Bernal J, Guadaño-Ferraz A. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Mol Psychiatry*. 2006 Apr;11(4):361-71. doi: 10.1038/sj.mp.4001802.

371. Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron*. 1994 Mar;12(3):529-40. doi: 10.1016/0896-6273(94)90210-0.

372. Mori F, Ribolsi M, Kusayanagi H, Siracusano A, Mantovani V, Marasco E, et al. Genetic variants of the NMDA receptor influence cortical excitability and plasticity in humans. *J Neurophysiol*. 2011 Oct;106(4):1637-43. doi: 10.1152/jn.00318.2011.

373. Mulugeta A, Lumsden A, Hyppönen E. Relationship between Serum 25(OH)D and Depression: Causal Evidence from a Bi-Directional Mendelian Randomization Study. *Nutrients*. 2020 Dec 30;13(1):109. doi: 10.3390/nu13010109.

374. Mundo E, Tharmalingham S, Neves-Pereira M, Dalton EJ, Macciardi F, Parikh SV, et al. Evidence that the N-methyl-D-aspartate subunit 1 receptor gene (GRIN1) confers susceptibility to bipolar disorder. *Mol Psychiatry*. 2003 Feb;8(2):241-5. doi: 10.1038/sj.mp.4001218.

375. Nandi S, Alviña K, Lituma PJ, Castillo PE, Hébert JM. Neurotrophin and FGF Signaling Adapter Proteins, FRS2 and FRS3, Regulate Dentate Granule Cell Maturation and Excitatory Synaptogenesis. *Neuroscience*. 2018 Jan 15;369:192-201. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.017.

376. Nasrolahi A, Javaherforooshzadeh F, Jafarzadeh-Gharehziaaddin M, Mahmoudi J, Asl KD, Shabani Z. Therapeutic potential of neurotrophic factors in

Alzheimer's Disease. *Mol Biol Rep.* 2022 Mar;49(3):2345-57. doi: 10.1007/s11033-021-06968-9.

377. Navale SS, Mulugeta A, Zhou A, Llewellyn DJ, Hyppönen E. Vitamin D and brain health: an observational and Mendelian randomization study. *Am J Clin Nutr.* 2022 Aug 4;116(2):531-40. doi: 10.1093/ajcn/nqac107.

378. Naveilhan P, Neveu I, Wion D, Brachet P. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, an inducer of glial cell line-derived neurotrophic factor. *Neuroreport.* 1996 Sep 2;7(13):2171-5. doi: 10.1097/00001756-199609020-00023.

379. Nedic Erjavec G, Sagud M, Nikolac Perkovic M, Svob Strac D, Konjevod M, Tudor L, et al. Depression: Biological markers and treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2021 Mar 8;105:110139. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110139.

380. Neto FL, Borges G, Torres-Sanchez S, Mico JA, Berrocoso E. Neurotrophins role in depression neurobiology: a review of basic and clinical evidence. *Curr Neuropharmacol.* 2011 Dec;9(4):530-52. doi: 10.2174/157015911798376262.

381. Nica AC, Dermitzakis ET. Expression quantitative trait loci: present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013 May 6;368(1620):20120362. doi: 10.1098/rstb.2012.0362.

382. Nogueira AB, Hoshino HSR, Ortega NC, Dos Santos BGS, Teixeira MJ. Adult human neurogenesis: early studies clarify recent controversies and go further. *Metab Brain Dis.* 2022 Jan;37(1):153-172. doi: 10.1007/s11011-021-00864-8.

383. Notaras M, van den Buuse M. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): Novel Insights into Regulation and Genetic Variation. *Neuroscientist.* 2019 Oct;25(5):434-54. doi: 10.1177/1073858418810142.

384. Notaras M, van den Buuse M. Neurobiology of BDNF in fear memory, sensitivity to stress, and stress-related disorders. *Mol Psychiatry.* 2020 Oct;25(10):2251-74. doi: 10.1038/s41380-019-0639-2.

385. Nuguru SP, Rachakonda S, Sripathi S, Khan MI, Patel N, Meda RT. Hypothyroidism and Depression: A Narrative Review. *Cureus*. 2022 Aug 20;14(8):e28201. doi: 10.7759/cureus.28201.
386. Numakawa T, Odaka H, Adachi N. Actions of Brain-Derived Neurotrophin Factor in the Neurogenesis and Neuronal Function, and Its Involvement in the Pathophysiology of Brain Diseases. *Int J Mol Sci*. 2018 Nov 19;19(11):3650. doi: 10.3390/ijms19113650.
387. Ogunkolade BW, Boucher BJ, Prah JM, Bustin SA, Burrin JM, Noonan K, et al. Vitamin D receptor (VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretory capacity, and VDR genotype in Bangladeshi Asians. *Diabetes*. 2002 Jul;51(7):2294-300. doi: 10.2337/diabetes.51.7.2294.
388. Opferman JT, Kothari A. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development. *Cell Death Differ*. 2018;25:37-45. doi: 10.1038/cdd.2017.170
389. Ortiga-Carvalho TM, Sidhaye AR, Wondisford FE. Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Oct;10(10):582-91. doi: 10.1038/nrendo.2014.143.
390. Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Fujimoto M, Matsubara T, et al. Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *Journal of Psychiatric Research*. 2008;42(14):1145-53,. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.01.010.
391. Pallanti S, Tofani T, Zanardelli M, Di Cesare Mannelli L, Ghelardini C. BDNF and ARTEMIN are increased in drug-naïve non-depressed GAD patients: preliminary data. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*. 2014;18(4):255-60,. doi: 10.3109/13651501.2014.940051.
392. Panicker V, Evans J, Bjørø T, Åsvold BO, Dayan CM, Bjerkeset O. A paradoxical difference in relationship between anxiety, depression and thyroid function in subjects on and not on T4: findings from the HUNT study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 Oct;71(4):574-80. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03521.

393. Pankiv VI, Yuzvenko TY, Pankiv IV. Type 2 diabetes mellitus and subclinical hypothyroidism: focusing on the role of cholecalciferol. *Problems of Endocrine Pathology*. 2019;68(2):46-51. doi: 10.21856/j-PEP.2019.2.07.
394. Paoletti P, Bellone C, Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Jun;14(6):383-400. doi: 10.1038/nrn3504.
395. Paoletti P, Neyton J. NMDA receptor subunits: function and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol*. 2007 Feb;7(1):39-47. doi: 10.1016/j.coph.2006.08.011.
396. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Jan;14(1):7-23. doi: 10.1038/nrn3379.
397. Parker GB, Brotchie H, Graham RK. Vitamin D and depression. *J Affect Disord*. 2017 Jan 15;208:56-61. doi: 10.1016/j.jad.2016.08.082.
398. Paschos KA, Veletza S, Chatzaki E. Neuropeptide and sigma receptors as novel therapeutic targets for the pharmacotherapy of depression. *CNS Drugs*. 2009 Sep;23(9):755-72. doi: 10.2165/11310830-000000000-00000.
399. Paschou SA, Bletsas E, Stampouloglou PK, Tsigkou V, Valatsou A, Stefanaki K, et al. Thyroid disorders and cardiovascular manifestations: an update. *Endocrine*. 2022 Mar;75(3):672-83. doi: 10.1007/s12020-022-02982-4.
400. Pasquin S, Sharma M, Gauchat JF. Ciliary neurotrophic factor (CNTF): New facets of an old molecule for treating neurodegenerative and metabolic syndrome pathologies. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015 Oct;26(5):507-15. doi: 10.1016/j.cytogfr.2015.07.007.
401. Pasyechko N, Kulchinska V, Naumova L. Subclinical hypothyroidism in pregnant women in the iodine deficiency region: to treat or not to treat? *International Journal of Endocrinology (Ukraine)*. 2020;16(6):471-7. doi: 10.22141/2224-0721.16.6.2020.215385.
402. Patrick RP, Ames BN. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: relevance for ADHD, bipolar disorder,

schizophrenia, and impulsive behavior. *FASEB J.* 2015 Jun;29(6):2207-22. doi: 10.1096/fj.14-268342.

403. Patrick RP, Ames BN. Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. *FASEB J.* 2014 Jun;28(6):2398-413. doi: 10.1096/fj.13-246546.

404. Penckofer S, Byrn M, Adams W, Emanuele MA, Mumby P, Kouba J, Wallis DE. Vitamin D Supplementation Improves Mood in Women with Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res.* 2017;2017:8232863. doi: 10.1155/2017/8232863.

405. Peng S, Li W, Lv L, Zhang Z, Zhan X. BDNF as a biomarker in diagnosis and evaluation of treatment for schizophrenia and depression. *Discov Med.* 2018 Oct;26(143):127-136.

406. Pentz R, Iulita MF, Ducatenzeiler A, Bennett DA, Cuello AC. The human brain NGF metabolic pathway is impaired in the pre-clinical and clinical continuum of Alzheimers disease. *Mol Psychiatry.* 2021 Oct;26(10):6023-37. doi: 10.1038/s41380-020-0797-2.

407. Perez JA, Clinton SM, Turner CA, Watson SJ, Akil H. A new role for FGF2 as an endogenous inhibitor of anxiety. *J Neurosci.* 2009 May 13;29(19):6379-87. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4829-08.2009.

408. Pertile RAN, Cui X, Hammond L, Eyles DW. Vitamin D regulation of GDNF/Ret signaling in dopaminergic neurons. *FASEB J.* 2018 Feb;32(2):819-28. doi: 10.1096/fj.201700713R.

409. Peters RB, Xavier J, Mondin TC, Cardoso TA, Ferreira FB, Teixeira L, et al. BDNF Val66Met polymorphism and resilience in major depressive disorder: the impact of cognitive psychotherapy. *Braz J Psychiatry.* 2021 Feb 1;43(1):22-8. doi: 10.1590/1516-4446-2019-0726.

410. Petryshen TL, Sabeti PC, Aldinger KA, Fry B, Fan JB, Schaffner SF, et al. Population genetic study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Mol Psychiatry.* 2010 Aug;15(8):810-5. doi: 10.1038/mp.2009.24.



411. Pettersen JA. Does high dose vitamin D supplementation enhance cognition?: A randomized trial in healthy adults. *Exp Gerontol*. 2017 Apr;90:90-7. doi: 10.1016/j.exger.2017.01.019.

412. Pezeshki B, Ahmadi A, Karimi A. The Effect of Vitamin D Replacement on Patient with Subclinical Hypothyroidism: A Pilot Randomized Clinical Trial. *Galen Med J*. 2020 May 21;9:e1592. doi: 10.31661/gmj.v9i0.1592.

413. Pfothenauer KM, Shubrook JH. Vitamin D Deficiency, Its Role in Health and Disease, and Current Supplementation Recommendations. *J Am Osteopath Assoc*. 2017 May 1;117(5):301-305. doi: 10.7556/jaoa.2017.055.

414. Pignolo A, Mastrilli S, Davì C, Arnao V, Aridon P, Dos Santos Mendes FA, et al. Vitamin D and Parkinson's Disease. *Nutrients*. 2022 Mar 14;14(6):1220. doi: 10.3390/nu14061220.

415. Plantone D, Primiano G, Manco C, Locci S, Servidei S, De Stefano N. Vitamin D in Neurological Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 21;24(1):87. doi: 10.3390/ijms24010087.

416. Pludowski P, Takacs I, Boyanov M, Belaya Z, Diaconu CC, Mokhort T, et al. Clinical Practice in the Prevention, Diagnosis and Treatment of Vitamin D Deficiency: A Central and Eastern European Expert Consensus Statement. *Nutrients*. 2022 Apr 2;14(7):1483. doi: 10.3390/nu14071483.

417. Pocivavsek A, Wu HQ, Potter MC, Elmer GI, Pellicciari R, Schwarcz R. Fluctuations in endogenous kynurenic acid control hippocampal glutamate and memory. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36:2357-67. doi: 10.1038/npp.2011.127.

418. Pöyhönen S, Er S, Domanskyi A, Airavaara M. Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: Expression and Properties in Neurodegeneration and Injury. *Front Physiol*. 2019 Apr 26;10:486. doi: 10.3389/fphys.2019.00486.

419. Puhlmann LMC, Linz R, Valk SL, Vrticka P, Vos de Wael R, Bernasconi A, et al. Association between hippocampal structure and serum brain-

derived neurotrophic factor (BDNF) in healthy adults: A registered report. *Neuroimage*. 2021 Apr 11;118011. doi: 10.1016/j.neuroimage.2021.118011.

420. Pyun JM, Park YH, Kim S. Subclinical Hypothyroidism and Cognitive Impairment. *J Alzheimers Dis*. 2022;88(2):757-762. doi: 10.3233/JAD-220302.

421. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? *J Immunol Res*. 2015; 2015:979167. <https://doi.org/10.1155/2015/979167>.

422. Rahman A, Khan KM, Al-Khaledi G, Khan I, Al-Shemary T. Over activation of hippocampal serine/threonine protein phosphatases PP1 and PP2A is involved in lead-induced deficits in learning and memory in young rats. *Neurotoxicology*. 2012;33(3):370-83. doi: 10.1016/j.neuro.2012.02.014.

423. Ramos-Chavez LA, Lugo Huitron R, Gonzalez Esquivel D, Pineda B, Ríos C, Silva-Adaya D, et al. Relevance of Alternative Routes of Kynurenic Acid Production in the Brain. *Oxid Med Cell Longev* 2018 May 24;2018;5272741. doi: 10.1155/2018/5272741.

424. Rana T, Behl T, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Abdeen A, et al. Exploring the role of neuropeptides in depression and anxiety. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2022 Mar 2;114:110478. doi: 10.1016/j.pnpbp.2021.110478.

425. Rana T, Behl T, Sehgal A, Srivastava P, Bungau S. Unfolding the Role of BDNF as a Biomarker for Treatment of Depression. *J Mol Neurosci*. 2021 Oct;71(10):2008-21. doi: 10.1007/s12031-020-01754-x.

426. Rangel-Gomez M, Meeter M. Neurotransmitters and Novelty: A Systematic Review. *J Psychopharmacol*. 2016 Jan;30(1):3-12. doi: 10.1177/0269881115612238.

427. Rauti R, Cellot G, D'Andrea P, Colliva A, Scaini D, Tongiorgi E, Ballerini L. BDNF impact on synaptic dynamics: extra or intracellular long-term release differently regulates cultured hippocampal synapses. *Mol Brain*. 2020 Mar 17;13(1):43. doi: 10.1186/s13041-020-00582-9.

428. Reemst K, Noctor SC, Lucassen PJ, Hol EM. The Indispensable Roles of Microglia and Astrocytes during Brain Development. *Front Hum Neurosci*. 2016 Nov 8;10:566. doi: 10.3389/fnhum.2016.00566.

429. Remaud S, Gothié JD, Morvan-Dubois G, Demeneix BA. Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014 Apr 28;5:62. doi: 10.3389/fendo.2014.00062.

430. Reutlinger C, Helbig I, Gawelczyk B, Subero JI, Tönnies H, Muhle H, et al. Deletions in 16p13 including GRIN2A in patients with intellectual disability, various dysmorphic features, and seizure disorders of the rolandic region. *Epilepsia*. 2010 Sep;51(9):1870-3. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02555.x.

431. Rex CS, Lin CY, Kramár EA, Chen LY, Gall CM, Lynch G. Brain-derived neurotrophic factor promotes long-term potentiation-related cytoskeletal changes in adult hippocampus. *J Neurosci*. 2007 Mar 14;27(11):3017-29. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4037-06.2007.

432. Robot-Jazi B, Mobini S, Chahardoli R, Mansouri F, Nodehi M, Esfahanian F, Saboor Yaraghi AA. The Impact of Vitamin D Supplementation on the IFN $\gamma$ -IP10 Axis in Women with Hashimoto's Thyroiditis Treated with Levothyroxine: A Double-blind Randomized Placebo-controlled Trial. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2022 Aug 12;21(4):407-17. doi: 10.18502/ijaai.v21i4.10288.

433. Roehlen N, Doering C, Hansmann ML, Gruenwald F, Vorlaender C, Bechstein WO, et al. Vitamin D, FOXO3a, and Sirtuin1 in Hashimoto's Thyroiditis and Differentiated Thyroid Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Sep 11;9:527. doi: 10.3389/fendo.2018.00527.

434. Romero-Gómez B, Guerrero-Alonso P, Carmona-Torres JM, Notario-Pacheco B, Cobo-Cuenca AI. Mood Disorders in Levothyroxine-Treated Hypothyroid Women. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Nov 28;16(23):4776. doi: 10.3390/ijerph16234776.

435. Roozafzoon R, Goodarzi A, Vouseoghi N, Sedaghati M, Yaghmaei P, Zarrindast MR. Expression of NMDA receptor subunits in human peripheral blood

lymphocytes in opioid addiction. *Eur J Pharmacol.* 2010;638(1-3):29-32. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.04.017.

436. Roseboom PH, Nanda SA, Fox AS, Oler JA, Shackman AJ, Shelton SE, et al. Neuropeptide Y receptor gene expression in the primate amygdala predicts anxious temperament and brain metabolism. *Biol Psychiatry.* 2014 Dec 1;76(11):850-7. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.11.012.

437. Rossi S, Studer V, Moscatelli A, Motta C, Coghe G, Fenu G, et al. Opposite roles of NMDA receptors in relapsing and primary progressive multiple sclerosis. *PLoS One.* 2013 Jun 28;8(6):e67357. doi: 10.1371/journal.pone.0067357.

438. Ruggeri RM, Vicchio TM, Giovinazzo S, Certo R, Alibrandi A, Trimarchi F, et al. TP53 polymorphism may contribute to genetic susceptibility to develop Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest.* 2015 Nov;38(11):1175-82. doi: 10.1007/s40618-015-0292-9.

439. Sable HJ, MacDonnchadh JJ, Lee HW, Butawan M, Simpson RN, Krueger KM, Bloomer RJ. Working memory and hippocampal expression of BDNF, ARC, and P-STAT3 in rats: effects of diet and exercise. *Nutr Neurosci.* 2021 Feb 16:1-14. doi: 10.1080/1028415X.2021.1885230.

440. Şahin S, Gürgen SG, Yazar U, İnce İ, Kamaşak T, Acar Arslan E, et al. Vitamin D protects against hippocampal apoptosis related with seizures induced by kainic acid and pentylenetetrazol in rats. *Epilepsy Res.* 2019 Jan;149:107-16. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2018.12.005.

441. Saito T, Chiba Y, Abe K, Hattori S, Katsuse O, Takahashi Y, Suda A. An exploratory investigation of antibodies to NMDA-type glutamate receptor subunits in serum and cerebrospinal fluid among psychiatric patients with anti-thyroid antibodies. *Heliyon.* 2020 Dec 8;6(12):e05677. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05677.

442. Saji Parel N, Krishna PV, Gupta A, Uthayaseelan K, Uthayaseelan K, Kadari M, et al. Depression and Vitamin D: A Peculiar Relationship. *Cureus.* 2022 Apr 21;14(4):e24363. doi: 10.7759/cureus.24363.

443. Salazar P, Cisternas P, Codocedo JF, Inestrosa NC. Induction of hypothyroidism during early postnatal stages triggers a decrease in cognitive performance by decreasing hippocampal synaptic plasticity. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017 Apr;1863(4):870-883. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.01.002.

444. Samario-Román J, Larqué C, Pánico P, Ortiz-Huidobro RI, Velasco M, Escalona R, Hiriart M. NGF and Its Role in Immunoendocrine Communication during Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 19;24(3):1957. doi: 10.3390/ijms24031957.

445. Samuels MH. Thyroid disease and cognition. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2014 Jun;43(2):529-43. doi: 10.1016/j.ecl.2014.02.006.

446. Sánchez-Huerta KB, Montes S, Pérez-Severiano F, Alva-Sánchez C, Ríos C, Pacheco-Rosado J. Hypothyroidism reduces glutamate-synaptic release by ouabain depolarization in rat CA3-hippocampal region. *J Neurosci Res.* 2012 Apr;90(4):905-12. doi: 10.1002/jnr.22806.

447. Santos P, Herrmann AP, Elisabetsky E, Piato A. Anxiolytic properties of compounds that counteract oxidative stress, neuroinflammation, and glutamatergic dysfunction: a review. *Braz J Psychiatry.* 2019 Mar-Apr;41(2):168-78. doi: 10.1590/1516-4446-2018-0005.

448. Sao T, Yoshino Y, Yamazaki K, Ozaki Y, Mori Y, Ochi S, et al. MEF2C mRNA expression and cognitive function in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2018 Mar;72(3):160-7. doi: 10.1111/pcn.12618..

449. Sasi M, Vignoli B, Canossa M, Blum R. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflugers Arch.* 2017 Jun;469(5-6):593-610. doi: 10.1007/s00424-017-1964-4.

450. Sathyanesan M, Newton SS. Antidepressant-like effects of trophic factor receptor signaling. *Front Mol Neurosci.* 2022 Aug 23;15:958797. doi: 10.3389/fnmol.2022.958797.

451. Sawicka-Gutaj N, Zawalna N, Gut P, Ruchala M. Relationship between thyroid hormones and central nervous system metabolism in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Rep.* 2022 Oct;74(5):847-58. doi: 10.1007/s43440-022-00377-w.

452. Scarmeas N, Anastasiou CA, Yannakoulia M. Nutrition and prevention of cognitive impairment. *Lancet Neurol.* 2018 Nov;17(11):1006-15. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30338-7.

453. Seidler K, Barrow M. Intermittent fasting and cognitive performance – Targeting BDNF as potential strategy to optimise brain health. *Front Neuroendocrinol.* 2022 Apr;65:100971. doi: 10.1016/j.yfrne.2021.100971.

454. Selvakumar GP, Iyer SS, Kempuraj D, Raju M, Thangavel R, Saeed D, et al. Glia Maturation Factor Dependent Inhibition of Mitochondrial PGC-1 $\alpha$  Triggers Oxidative Stress-Mediated Apoptosis in N27 Rat Dopaminergic Neuronal Cells. *Mol Neurobiol.* 2018;55(9):7132-52. doi: 10.1007/s12035-018-0882-6.

455. Sepidarkish M, Farsi F, Akbari-Fakhrabadi M, Namazi N, Almasi-Hashiani A, Maleki Hagiagha A, Heshmati J. The effect of vitamin D supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacol Res.* 2019 Jan;139:141-52. doi: 10.1016/j.phrs.2018.11.011.

456. Shabani S, Farbood Y, Mard SA, Sarkaki A, Ahangarpour A, Khorsandi L. The regulation of pituitary-thyroid abnormalities by peripheral administration of levothyroxine increased brain-derived neurotrophic factor and reelin protein expression in an animal model of Alzheimer's disease. *Can J Physiol Pharmacol.* 2018 Mar;96(3):275-80. doi: 10.1139/cjpp-2016-0434.

457. Shafiee SM, Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Effects of maternal hypothyroidism during pregnancy on learning, memory and hippocampal BDNF in rat pups: Beneficial effects of exercise. *Neuroscience.* 2016;329:151-61. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.04.048.

458. Shalizi A, Gaudillière B, Yuan Z, Stegmüller J, Shirogane T, Ge Q, et al. A calcium-regulated MEF2 sumoylation switch controls postsynaptic differentiation. *Science*. 2006 Feb 17;311(5763):1012-7. doi: 10.1126/science.1122513.

459. Shang Y, Wang N, Zhang E, Liu Q, Li H, Zhao X. The Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism Is Associated With Female Obsessive-Compulsive Disorder: An Updated Meta-Analysis of 2765 Obsessive-Compulsive Disorder Cases and 5558 Controls. *Front Psychiatry*. 2022 Jan 12;12:685041. doi: 10.3389/fpsyt.2021.685041.

460. Sharif K, Sharif Y, Watad A, Yavne Y, Lichtbroun B, Bragazzi NL, et al. Vitamin D, autoimmunity and recurrent pregnancy loss: More than an association. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Sep;80(3):e12991. doi: 10.1111/aji.12991.

461. Shi L, Campbell G, Jones WD, et al.; MAQC Consortium. The MicroArray Quality Control (MAQC)-II study of common practices for the development and validation of microarray-based predictive models. *Nat Biotechnol*. 2010 Aug;28(8):827-38. doi: 10.1038/nbt.1665.

462. Shin DY, Kim KJ, Kim D, Hwang S, Lee EJ. Low serum vitamin D is associated with anti-thyroid peroxidase antibody in autoimmune thyroiditis. *Yonsei Med J*. 2014 Mar;55(2):476-81. doi: 10.3349/ymj.2014.55.2.476.

463. Shinoda Y, Sadakata T, Yagishita K, Kinameri E, Katoh-Semba R, Sano Y, Furuichi T. Aspects of excitatory/inhibitory synapses in multiple brain regions are correlated with levels of brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin-3. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Feb 5;509(2):429-34. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.12.100.

464. Siegmann EM, Müller HHO, Luecke C, Philipsen A, Kornhuber J, Grömer TW. Association of Depression and Anxiety Disorders With Autoimmune Thyroiditis: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2018 Jun 1;75(6):577-84. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2018.0190.

465. Siemińska L, Wojciechowska C, Kos-Kudła B, Marek B, Kajdaniuk D, Nowak M, et al. Serum concentrations of leptin, adiponectin, and interleukin-6 in postmenopausal women with Hashimoto's thyroiditis. *Endokrynol Pol.* 2010 Jan-Feb;61(1):112-6.

466. Simsek Y, Cakır I, Yetmis M, Dizdar OS, Baspınar O, Gokay F. Effects of Vitamin D treatment on thyroid autoimmunity. *J Res Med Sci.* 2016 Oct 18;21:85. doi: 10.4103/1735-1995.192501.

467. Singh S, Rana P, Kumar P, Shankar LR, Khushu S. Hippocampal Neurometabolite Changes in Hypothyroidism: An In Vivo (1) H Magnetic Resonance Spectroscopy Study Before and After Thyroxine Treatment. *J Neuroendocrinol.* 2016 Sep;28(9). doi: 10.1111/jne.12399.

468. Singh R, Upadhyay G, Kumar S, Kapoor A, Kumar A, Tiwari M, Godbole M. Hypothyroidism alters the expression of Bcl-2 family genes to induce enhanced apoptosis in the developing cerebellum. *J Endocrinol.* 2003;176:39-46. doi: 10.1677/joe.0.1760039].

469. Sintzel MB, Rametta M, Reder AT. Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review. *Neurol Ther.* 2018 Jun;7(1):59-85. doi: 10.1007/s40120-017-0086-4.

470. Siokas V, Kardaras D, Aloizou AM, Asproudis I, Boboridis KG, Papageorgiou E, Hadjigeorgiou GM, Tsironi EE, Dardiotis E. BDNF rs6265 (Val66Met) Polymorphism as a Risk Factor for Blepharospasm. *Neuromolecular Med.* 2019 Mar;21(1):68-74. doi: 10.1007/s12017-018-8519-5.

471. Sirakov M, Plateroti M. Thyroid Hormone Signaling and Function: News from Classical and Emerging Models. *Cells.* 2022 Jan 28;11(3):453. doi: 10.3390/cells11030453.

472. Skibinska M, Kapelski P, Rajewska-Rager A, Szczepankiewicz A, Narozna B, Duda J, et al. Correlation of metabolic parameters, neurotrophin-3, and neurotrophin-4 serum levels in women with schizophrenia and first-onset depression. *Nord J Psychiatry.* 2019;73(2):96-103. doi: 10.1080/08039488.2018.1563213.



473. Snyder SE, Salton SR. Expression of VGF mRNA in the adult rat central nervous system. *J Comp Neurol*. 1998 Apr 27;394(1):91-105.

474. Sonoyama T, Stadler LKJ, Zhu M, Keogh JM, Henning E, Hisama F, et al. Human BDNF/TrkB variants impair hippocampal synaptogenesis and associate with neurobehavioural abnormalities. *Sci Rep*. 2020 Jun 3;10(1):9028. doi: 10.1038/s41598-020-65531-x.

475. Stanilova SA, Gerenova JB, Miteva LD, Manolova IM. The role of transforming growth factor- $\beta$ 1 gene polymorphism and its serum levels in Hashimoto's thyroiditis. *Curr Pharm Biotechnol*. 2018;19(7):581-9. doi: 10.2174/1389201019666180802142803.

476. Stepien BK., Huttner WB. Transport, metabolism, and function of thyroid hormones in the developing mammalian brain. *Front. Endocrinol*. 2019;10:209. doi: 10.3389/fendo.2019.00209.

477. Stolakis V, Kalafatakis K, Botis J, Zarros A, Liapi C. The regulatory role of neurotensin on the hypothalamic-anterior pituitary axons: emphasis on the control of thyroid-related functions. *Neuropeptides*. 2010 Feb;44(1):1-7. doi: 10.1016/j.npep.2009.09.005.

478. Stożek K, Grubczak K, Marolda V, Eljaszewicz A, Moniuszko M, Bossowski A. Lower proportion of CD19<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup> and CD19<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup> but not CD1d<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> B cells in children with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity*. 2020 Feb;53(1):46-55. doi: 10.1080/08916934.2019.1697690.

479. Sulejmanovic M, Begić A, Mujaric-Bousbia F, Salkic S, Ramas A. The Relationship Between Thyroid Antibodies and Vitamin D Level in Primary Hypothyroidism. *Med Arch*. 2020 Oct;74(5):359-62. doi: 10.5455/medarh.2020.74.359-362.

480. Sultan S. Neuroimaging changes associated with vitamin D Deficiency – a narrative review. *Nutr Neurosci*. 2022 Aug;25(8):1650-8. doi: 10.1080/1028415X.2021.1888206.

481. Sun L, Zhang X, Dai F, Shen J, Ren C, Zuo C, Zhang Q. Elevated interleukin-1 $\beta$  in peripheral blood mononuclear cells contributes to the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases, especially of Hashimoto thyroiditis. *Endocr Res.* 2016 Aug;41(3):185-92. doi: 10.3109/07435800.2015.1124439.

482. Szarowicz CA, Steece-Collier K, Caulfield ME. New Frontiers in Neurodegeneration and Regeneration Associated with Brain-Derived Neurotrophic Factor and the rs6265 Single Nucleotide Polymorphism. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 20;23(14):8011. doi: 10.3390/ijms23148011.

483. Tabasi N, Rastin M, Mahmoudi M, Ghoryani M, Mirfeizi Z, Rabe SZ, Reihani H. Influence of vitamin D on cell cycle, apoptosis, and some apoptosis related molecules in systemic lupus erythematosus. *Iran J Basic Med Sci.* 2015 Nov;18(11):1107-11.

484. Takeda S, Sato N, Morishita R. Systemic inflammation, blood-brain barrier vulnerability and cognitive/non-cognitive symptoms in Alzheimer disease: relevance to pathogenesis and therapy. *Front Aging Neurosci.* 2014 Jul 29;6:171. doi: 10.3389/fnagi.2014.00171.

485. Talaei A, Ghorbani F, Asemi Z. The Effects of Vitamin D Supplementation on Thyroid Function in Hypothyroid Patients: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Indian J Endocrinol Metab.* 2018 Sep-Oct;22(5):584-588. doi: 10.4103/ijem.IJEM\_603\_17.

486. Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM, Okosieme OE. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* 2018 May;14(5):301-16. doi: 10.1038/nrendo.2018.18.

487. Taylor WD, Züchner S, McQuoid DR, Payne ME, MacFall JR, Steffens DC, et al. The brain-derived neurotrophic factor VAL66MET polymorphism and cerebral white matter hyperintensities in late-life depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2008 Apr;16(4):263-71. doi: 10.1097/JGP.0b013e3181591c30.

488. Terock J, Bonk S, Frenzel S, Wittfeld K, Garvert L, Hosten N, et al. Vitamin D deficit is associated with accelerated brain aging in the general population. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2022 Dec;327:111558. doi: 10.1016/j.pscychresns.2022.111558.

489. Tomczyk T, Urbańska EM. Experimental hypothyroidism raises brain kynurenic acid – Novel aspect of thyroid dysfunction. *Eur J Pharmacol*. 2020; Sep 15;883:173363. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173363.

490. Tousson E, Ibrahim W, Arafa N, Akela MA. Monoamine concentrations changes in the PTU-induced hypothyroid rat brain and the ameliorating role of folic acid. *Hum Exp Toxicol*. 2012 Mar;31(3):282-9. doi: 10.1177/0960327111405863.

491. Tronko M, Brenner AV, Bogdanova T, Shpak V, Oliynyk V, Cahoon EK, et al. Thyroid neoplasia risk is increased nearly 30 years after the Chernobyl accident. *Int J Cancer*. 2017 Oct 15;141(8):1585-8. doi: 10.1002/ijc.30857.

492. Tsai SJ. Critical Issues in *BDNF* Val66Met Genetic Studies of Neuropsychiatric Disorders. *Front Mol Neurosci*. 2018 May 15;11:156. doi: 10.3389/fnmol.2018.00156.

493. Tyler WJ, Perrett SP, Pozzo-Miller LD. The role of neurotrophins in neurotransmitter release. *Neuroscientist*. 2002 Dec;8(6):524-31. doi: 10.1177/1073858402238511.

494. Uddin MS, Mamun AA, Rahman MM, Jeandet P, Alexiou A, Behl T, et al. Natural Products for Neurodegeneration: Regulating Neurotrophic Signals. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jun 21;2021:8820406. doi: 10.1155/2021/8820406.

495. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*. 2004 Sep 1;338(2):143-56. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014.

496. Urbanska EM, Chmiel-Perzynska I, Perzynski A, Derkacz M, Owe-Larsson B. Endogenous kynurenic acid and neurotoxicity. In: Kostrzewa, R. (Ed.), *Handbook of Neurotoxicity*. Springer, New York; 2014, p. 421-453.
497. Urbina-Varela R, Soto-Espinoza MI, Vargas R, Quiñones L, Del Campo A. Influence of *BDNF* Genetic Polymorphisms in the Pathophysiology of Aging-related Diseases. *Aging Dis.* 2020 Dec 1;11(6):1513-26. doi: 10.14336/AD.2020.0310.
498. Valencia-Sanchez C, Pittock SJ, Mead-Harvey C, Dubey D, Flanagan EP, Lopez-Chiriboga S, et al. Brain dysfunction and thyroid antibodies: autoimmune diagnosis and misdiagnosis. *Brain Commun.* 2021 Jan 5;3(2):fcaa233. doi: 10.1093/braincomms/fcaa233.
499. van Etten E, Verlinden L, Giulietti A, Ramos-Lopez E, Branisteanu DD, Ferreira GB, et al. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism: functional impact on the immune system. *Eur J Immunol.* 2007 Feb;37(2):395-405. doi: 10.1002/eji.200636043.
500. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 2002 Jun 18;3(7):RESEARCH0034. doi: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034.
501. Venero C, Guadaño-Ferraz A, Herrero AI, Nordström K, Manzano J, de Escobar GM, et al. Anxiety, memory impairment, and locomotor dysfunction caused by a mutant thyroid hormone receptor alpha1 can be ameliorated by T3 treatment. *Genes Dev.* 2005 Sep 15;19(18):2152-63. doi: 10.1101/gad.346105.
502. Verpelli C, Sala C. Molecular and synaptic defects in intellectual disability syndromes. *Curr Opin Neurobiol.* 2012 Jun;22(3):530-6. doi: 10.1016/j.conb.2011.09.007.
503. Vilar M, Mira H. Regulation of Neurogenesis by Neurotrophins during Adulthood: Expected and Unexpected Roles. *Front Neurosci.* 2016 Feb 9;10:26. doi: 10.3389/fnins.2016.00026.

504. Walz JC, Magalhães PV, Giglio LM, Cunha AB, Stertz L, Fries GR, et al. Increased serum neurotrophin-4/5 levels in bipolar disorder. *J Psychiatr Res.* 2009;43(7):721-3. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.10.005.

505. Wang CS, Kavalali ET, Monteggia LM. BDNF signaling in context: From synaptic regulation to psychiatric disorders. *Cell.* 2022 Jan 6;185(1):62-76. doi: 10.1016/j.cell.2021.12.003.

506. Wang F, Zeng X, Zhu Y, Ning D, Liu J, Liu C, et al. Effects of thyroxine and donepezil on hippocampal acetylcholine content, acetylcholinesterase activity, synaptotagmin-1 and SNAP-25 expression in hypothyroid adult rats. *Mol Med Rep.* 2015 Feb;11(2):775-82. doi: 10.3892/mmr.2014.2825.

507. Wang J, Lv S, Chen G, Gao C, He J, Zhong H, Xu Y. Meta-analysis of the association between vitamin D and autoimmune thyroid disease. *Nutrients.* 2015 Apr 3;7(4):2485-98. doi: 10.3390/nu7042485.

508. Wang R, Wang Y, Hu R, Chen X, Song M, Wang X. Decreased plasma levels of neureglin-1 in drug naïve patients and chronic patients with schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2015 Oct 8;606:220-4. doi: 10.1016/j.neulet.2015.09.010.

509. Wang T, Li T, Hao S, Han Y, Cai Y. Association of plasma BDNF levels with different stages of Alzheimer's disease: a cross-sectional study. *Neurol Res.* 2023 Mar;45(3):234-240. doi: 10.1080/01616412.2022.2129760.

510. Wang W, Li Y, Meng X. Vitamin D and neurodegenerative diseases. *Heliyon.* 2023 Jan 12;9(1):e12877. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e12877.

511. Wang X, Cheng W, Ma Y, Zhu J. Vitamin D receptor gene FokI but not TaqI, ApaI, BsmI polymorphism is associated with Hashimoto's thyroiditis: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017 Jan 30;7:41540. doi: 10.1038/srep41540.

512. Wei Y, Chang L, Hashimoto K. Molecular mechanisms underlying the antidepressant actions of arketamine: beyond the NMDA receptor. *Mol Psychiatry.* 2022 Jan;27(1):559-73. doi: 10.1038/s41380-021-01121-1.

513. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol*. 2001 May 25;177(1-2):145-59. doi: 10.1016/s0303-7207(01)00406-3.

514. Wieland DR, Wieland JR, Wang H, Chen YH, Lin CH, Wang JJ, Weng CH. Thyroid Disorders and Dementia Risk: A Nationwide Population-Based Case-Control Study. *Neurology*. 2022 Aug 16;99(7):e679-87. doi: 10.1212/WNL.0000000000200740.

515. Wiens SC, Trudeau VL. Thyroid hormone and gamma-aminobutyric acid (GABA) interactions in neuroendocrine systems. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2006 Jul;144(3):332-44. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.01.033.

516. Wilkinson M, Brown RE, editors. *An Introduction to Neuroendocrinology* 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge University Press; 2015. 496 p. Neurotransmitters, p. 78-119.

517. Wolf SS, Hyde TM, Saunders RC, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE. Autoradiographic characterization of neurotensin receptors in the entorhinal cortex of schizophrenic patients and control subjects. *J Neural Transm Gen Sect*. 1995;102(1):55-65. doi: 10.1007/BF01276565.

518. Wrzosek M, Łukaszewicz J, Wrzosek M, Jakubczyk A, Matsumoto H, Piątkiewicz P, et al. Vitamin D and the central nervous system. *Pharmacol Rep*. 2013;65(2):271-8. doi: 10.1016/s1734-1140(13)71003-x.

519. Wu Q, Lemus MB, Stark R, Bayliss JA, Reichenbach A, Lockie SH, Andrews ZB. The temporal pattern of cfos activation in hypothalamic, cortical, and brainstem nuclei in response to fasting and refeeding in male mice. *Endocrinology*. 2014 Mar;155(3):840-53. doi: 10.1210/en.2013-1831.

520. Wu SL, Wang WF, Shyu HY, Ho YJ, Shieh JC, Fu YP, et al. Association analysis of GRIN1 and GRIN2B polymorphisms and Parkinson's disease in a hospital-based case-control study. *Neurosci Lett*. 2010 Jul 5;478(2):61-5. doi: 10.1016/j.neulet.2010.04.063.

521. Wu W, Ren F, Guo M, Yang J, Xiao Y, Liu W. Increased expression of CX3CL1 and CX3CR1 in papillary thyroid carcinoma. *Histol Histopathol*. 2020 Oct;35(10):1189-96. doi: 10.14670/HH-18-265.

522. Wu Z, Martinez-Fong D, Trédaniel J, Forgez P. Neurotensin and its high affinity receptor 1 as a potential pharmacological target in cancer therapy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013 Jan 17;3:184. doi: 10.3389/fendo.2012.00184.

523. Wysokiński A. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and neurotrophin-3 (NT-3) in depressed patients with schizophrenia. *Nord J Psychiatry*. 2016;70(4):267-71. doi: 10.3109/08039488.2015.1087592.

524. Xia H, Zhang G, Du X, Zhang Y, Yin G, Dai J, et al. Suicide attempt, clinical correlates, and BDNF Val66Met polymorphism in chronic patients with schizophrenia. *Neuropsychology*. 2018 Feb;32(2):199-205. doi: 10.1037/neu0000383.

525. Xiao L, Muhali FS, Cai TT, Song RH, Hu R, Shi XH, et al. Association of single-nucleotide polymorphisms in the STAT3 gene with autoimmune thyroid disease in Chinese individuals. *Funct Integr Genomics*. 2013 Nov;13(4):455-61. doi: 10.1007/s10142-013-0337-0.

526. Xiong LL, Chen J, Du RL, Liu J, Chen YJ, Hawwas MA, et al. Brain-derived neurotrophic factor and its related enzymes and receptors play important roles after hypoxic-ischemic brain damage. *Neural Regen Res*. 2021 Aug;16(8):1453-9. doi: 10.4103/1673-5374.303033.

527. Xu J, Zhu XY, Sun H, Xu XQ, Xu SA, Suo Y, et al. Low vitamin D levels are associated with cognitive impairment in patients with Hashimoto thyroiditis. *BMC Endocr Disord*. 2018 Nov 26;18(1):87. doi: 10.1186/s12902-018-0314-7.

528. Yalcin MM, Altinova AE, Cavnar B, Bolayir B, Akturk M, Arslan E, et al. Is thyroid autoimmunity itself associated with psychological well-being in euthyroid Hashimoto's thyroiditis? *Endocr J*. 2017 Apr 29;64(4):425-9. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0418.

529. Yang H, Zhang J, Breyer RM, Chen C. Altered hippocampal long-term synaptic plasticity in mice deficient in the PGE2 EP2 receptor. *J Neurochem.* 2009;108(1):295-304. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05766.x.

530. Yang P, Arnold SA, Habas A, Hetman M, Hagg T. Ciliary neurotrophic factor mediates dopamine D2 receptor-induced CNS neurogenesis in adult mice. *J Neurosci.* 2008 Feb 27;28(9):2231-41. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3574-07.2008.

531. Yang S, Liu Y, Jiang N, Chen J, Leach L, Luo Z, Wang M. Genome-wide eQTLs and heritability for gene expression traits in unrelated individuals. *BMC Genomics.* 2014 Jan 9;15(1):13. doi: 10.1186/1471-2164-15-13.

532. Yao M, Dooley PC, Schuijers JA, Grills BL. The effects of hypothyroidism on nerve growth factor and norepinephrine concentrations in weight-bearing and non-weight-bearing bones of rats. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2004 Sep;4(3):319-24.

533. Yazici D, Yavuz D, Tarcin O, Sancak S, Deyneli O, Akalin S. Vitamin D receptor gene ApaI, TaqI, FokI and BsmI polymorphisms in a group of Turkish patients with Hashimoto's thyroiditis. *Minerva Endocrinol.* 2013 Jun;38(2):195-201.

534. Ye Y, Wang Y, Li S, Guo J, Ding L, Liu M. Association of Hypothyroidism and the Risk of Cognitive Dysfunction: A Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2022 Nov 14;11(22):6726. doi: 10.3390/jcm11226726.

535. Yuan J, Guo X, Liu Z, Zhao X, Feng Y, Song S, et al. Vitamin D receptor activation influences the ERK pathway and protects against neurological deficits and neuronal death. *Int J Mol Med.* 2018 Jan;41(1):364-72. doi: 10.3892/ijmm.2017.3249.

536. Yuan Z, Yu Z, Zhang Y, Yang H. Analysis of the Clinical Diagnostic Value of GMFB in Cerebral Infarction. *Curr Pharm Biotechnol.* 2020;21(10):955-63. doi: 10.2174/1389201021666200210102425.

537. Zakharyan R, Boyajyan A, Arakelyan A, Gevorgyan A, Mrazek F, Petrek M. Functional variants of the genes involved in neurodevelopment and



susceptibility to schizophrenia in an Armenian population. *Hum Immunol.* 2011 Sep;72(9):746-8. doi: 10.1016/j.humimm.2011.05.018.

538. Zakrocka I, Turski WA, Kocki T. Angiotensin-converting enzyme inhibitors modulate kynurenic acid production in rat brain cortex in vitro. *Eur J Pharmacol.* 2016;789:308-12. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.07.023.

539. Zhang C, Li Z, Wu Z, Chen J, Wang Z, Peng D, et al. A study of N-methyl-D-aspartate receptor gene (GRIN2B) variants as predictors of treatment-resistant major depression. *Psychopharmacology (Berl).* 2014 Feb;231(4):685-93. doi: 10.1007/s00213-013-3297-0.

540. Zhang GQ, Jiao Q, Shen CT, Song HJ, Zhang HZ, Qiu ZL, Luo QY. Interleukin 6 regulates the expression of programmed cell death ligand 1 in thyroid cancer. *Cancer Sci.* 2021 Mar;112(3):997-1010. doi: 10.1111/cas.14752.

541. Zhang J, Rong P, Zhang L, He H, Zhou T, Fan Y, et al. IL4-driven microglia modulate stress resilience through BDNF-dependent neurogenesis. *Sci Adv.* 2021 Mar 17;7(12):eabb9888. doi: 10.1126/sciadv.abb9888.

542. Zhang Q, Wang Z, Sun M, Cao M, Zhu Z, Fu Q, et al. Association of high vitamin d status with low circulating thyroid-stimulating hormone independent of thyroid hormone levels in middle-aged and elderly males. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:631819. doi: 10.1155/2014/631819.

543. Zhang Y, Chen K, Sloan SA, Bennett ML, Scholze AR, O'Keefe S, et al. An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex. *J Neurosci.* 2014 Sep 3;34(36):11929-47. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014.

544. Zhu C, Zhang Y, Wang T, Lin Y, Yu J, Xia Q, et al. Vitamin D supplementation improves anxiety but not depression symptoms in patients with vitamin D deficiency. *Brain Behav.* 2020 Nov;10(11):e01760. doi: 10.1002/brb3.1760.

545. Zhu S, Li Y, Bennett S, Chen J, Weng IZ, Huang L, et al. The role of glial cell line-derived neurotrophic factor family member artemin in

neurological disorders and cancers. *Cell Prolif.* 2020 Jul;53(7):e12860. doi: 10.1111/cpr.12860.

546. Zhu Y, Ning D, Wang F, Liu C, Xu Y, Jia X, Zhu D. Effect of thyroxine on munc-18 and syntaxin-1 expression in dorsal hippocampus of adult-onset hypothyroid rats. *Eur J Histochem.* 2012 May 22;56(2):e22. doi: 10.4081/ejh.2012.22.

547. Zundler S, Neurath MF. Integrating Immunologic Signaling Networks: The JAK/STAT Pathway in Colitis and Colitis-Associated Cancer. *Vaccines (Basel).* 2016;4(1):5. doi: 10.3390/vaccines4010005.

## ДОДАТОК А

### Список праць здобувача, опублікованих за темою дисертації:

1. Bilous II, Pavlovych LB, Chornenka ZhA. Current situation with thyroid gland disease incidence in Chernivtsi region. The scientific heritage. 2017;11(11):53-56. *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*
2. Bilous II. Features of the peripheral nervous system affection in patients with primary hypothyroidism. Клінічна та експериментальна патологія. 2018;1(63):13-16. DOI: 10.24061/1727-4338.XVII.1.63.2018.3
3. Bilous II, Pavlovych LB. Symptoms of organic brain damage in primary hypothyroidism. Sciences of Europe. 2018;1(25):24-26. *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*
4. Bilous II, Korda MM, Krynytska IY, Kamyshnyi AM. Nerve impulse transmission pathway-focused genes expression analysis in patients with primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Endocrine Regulations. 2020 Apr 1;54(2):109-118. DOI: 10.2478/enr-2020-0013. **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*
5. Bilous I, Pavlovych L, Krynytska I, Marushchak M, Kamyshnyi A. Apoptosis and Cell Cycle Pathway-Focused Genes Expression Analysis in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2020 May 20;8(B):784-792. DOI: 10.3889/oamjms.2020.4760 **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

6. Bilous II, Pavlovych LL, Kamyshnyi AM. Primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis alter the transcriptional activity of genes regulating neurogenesis in the blood of patients. *Endocrine Regulations*. 2021 Jan 29;55(1):5-15. DOI: 10.2478/enr-2021-0002. **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

7. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Transcriptional Activity of Neurotrophins Genes and Their Receptors in the Peripheral Blood in Patients with Thyroid Diseases in Bukovinian Population of Ukraine. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2021 May 2;9(A):208-216. DOI: 10.3889/oamjms.2021.6037 **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

8. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Association between Serum Brain-derived Neurotrophic Factor and 25-OH Vitamin D Levels with Vitamin D Receptors Gene Polymorphism (rs2228570) in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2021 Aug 31;9(A):659-664. DOI: 10.3889/oamjms.2021.6631 **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

9. Kamyshna II, Pavlovych LB, Malyk IV, Kamyshnyi AM. 25-OH Vitamin D blood serum linkage with VDR gene polymorphism (rs2228570) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population. *Journal of Medicine and Life*. 2021 Jul-Aug;14(4):549-556. DOI: 10.25122/jml-2021-0101. **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

10. Kamyshna II, Pavlovych LB, Maslyanko VA, Kamyshnyi AM. Analysis of the transcriptional activity of genes of neuropeptides and their

receptors in the blood of patients with thyroid pathology. *Journal of Medicine and Life*. 2021 Mar-Apr;14(2):243-249. DOI: 10.25122/jml-2020-0183.

**(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

11. Kamyshna II, Pavlovych LB, Sydoruk LP, Malyk IV, Kamyshnyi AM. BDNF blood serum linkage with BDNF gene polymorphism (rs6265) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population. *Endocrine Regulations*. 2021 Dec 7;55(4):193-203. DOI: 10.2478/enr-2021-0021.

**(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

12. Kamyshna I, Pavlovych L, Maslyanko V, Chornenka Z. Epidemiological assessment of dynamics of the prevalence and incidence of the thyroid gland diseases in Ukraine and Chernivtsi region. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021;20(3):75-81. DOI: 10.24061/1727-4338.XX.3.77.2021.11 *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

13. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Transcription Factors and Regulators Pathway-focused Genes Expression Analysis in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2022;23(11):1396-1404. DOI: 10.2174/1389201023666220217123454. **(SCOPUS, Q2)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

14. Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Association between NMDA gene polymorphism (rs4880213) and GRIN2B blood serum levels in thyroid pathology patients. *Journal of Medicine and Life*. 2022 Jan;15(1):109-116. DOI: 10.25122/jml-2021-0372. **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано*

*джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

15. Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. *Endocrine Regulations*. 2022 Jul 13;56(3):178-189. DOI: 10.2478/enr-2022-0019. **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

16. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Expression of cytokines and cytokine receptors-genes in patients with different forms of thyroid pathology in ukrainian population. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 2022;23(4)6:299-308. DOI: 10.2478/sjecr-2021-0038 **(SCOPUS, Q4)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

17. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi AM. Prediction of the Development of Depression in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2022 Jan. 31;10(B):137-145. DOI: 10.3889/oamjms.2022.7896 **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

18. Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Vitamin D alters the transcriptional profile of blood cells in patients with primary hypothyroidism. *Фізіологічний журнал*. 2022;68(5):16-24. DOI: 10.15407/fz68.05.016 **(SCOPUS, Q4)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

19. Kamyshna I. Effect of vitamin D on serum BDNF level in patients with hypothyroidism caused by autoimmune thyroiditis *Міжнародний*

ендокринологічний журнал. 2022;18(5):297-301. DOI: 10.22141/2224-0721.18.5.2022.1189. **(SCOPUS, Q4)**

20. Kamyshna I. The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022;18(7):208-212. DOI: 10.22141/2224-0721.18.4.2022.1173 **(SCOPUS, Q4)**

21. Kamyshna I. Vitamin D in the treatment of anxiety in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism in the West-Ukrainian population. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2022;3(79):20-24. DOI: 10.30978/CEES-2022-3-20

22. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv V, Pankiv I, Kamyshnyi A. Anxiety disorders and prediction of their development in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Feb 05;10(B):1-10. DOI: 10.3889/oamjms.2022.9746 **(SCOPUS, Q3)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

23. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Bytsko N, Kamyshnyi A The complex influence of the combination of BDNF (rs6265), VDR (rs2228570) and NMDA (rs4880213) genotypes on the development of cognitive disorders in patients with thyroid pathology. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(1):9-15. DOI: 10.22141/2224-0721.19.1.2023.1235 **(SCOPUS, Q4)** *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

24. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Kamyshnyi A Evaluation of the influence of single-nucleotide polymorphisms of BDNF (rs6265), VDR (rs2228570) and NMDA (rs4880213) genes on gene expression in different tissues. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(2):83-88. DOI: 10.22141/2224-0721.19.2.2023.1250 **(SCOPUS, Q4)**

*(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, проведено дослідження, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

25. Kamyshna, I. The impact of cholecalciferol on cognitive performance in individuals diagnosed with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2023;1(81):32-38. DOI: 10.30978/CEES-2023-1-32

26. Білоус П, Павлович ЛБ. Особливості ураження нервової системи при первинному гіпотиреозі. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018;14(2):168-172. DOI: 10.22141/2224-0721.14.2.2018.130563 *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, описано й узагальнено результати, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

27. Білоус П. Клінічні особливості полінейропатії у хворих на первинний гіпотиреоз. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018;14(4):409-410.

28. Bilous P. Neurological disorders of patients with endocrine pathology. В: *Матеріали 99 підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»*; 2018 лют. 12, 14, 19; Чернівці. Чернівці; 2018, с. 197-198.

29. Bilous P, Kamyshnyi A, Pavlovych L. Changes the Transcriptional Activity of Genes Regulating Neurogenesis in the Blood of Patients with Thyroid Endocrine Pathology. *Neurology*. 2021;96(15 Suppl):4375. *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, описано й узагальнено результати, підготовлено тези до друку).*

30. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Neurogenesis pathway-focused gene expression analysis in patients with primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. *Endocrine Abstracts*. 2021;73:AEP658. DOI: 10.1530/endoabs.73.AEP658 *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, описано й узагальнено результати, підготовлено тези до друку).*



31. Kamyshna II. Differential expression of mRNA Neurogenesis Pathway-focused Genes in Patients with Different Forms of Thyroid Pathology. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги; 2021 верес. 23–24; Тернопіль. Тернопіль; 2021, с. 86-87.

32. Kamyshna I, Kamyshnyi A. Primary hypothyroidism and autoimmune thyroiditis affect the expression of mRNA nerve impulse transmission genes in the blood of patients. In: Proceedings of the 3<sup>rd</sup> Edition of World Congress Endocrinology, Diabetes and Metabolism; 2022 October 04-05; London. London; 2022, p 29. *(Здобувачем проаналізовано джерела літератури, описано й узагальнено результати, підготовлено тези до друку).*

33. Kamyshna I. The Transcriptional Activity of Genes Regulating Neurogenesis in the Blood of Patients with Primary Hypothyroidism and Autoimmune. In: Proceedings of the 6th European Congress on Neurology and Brain Disorders; 2022 November 17-18; Rome. Rome; 2022, p 56.

34. Kamyshna II. Cognitive impairment in patients with thyroid pathology. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги; 2022 верес. 29-30; Тернопіль. Тернопіль; 2022, p. 125-126.

35. Kamyshna II. Anxiety disorders in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. In: Proceedings of the XI International Scientific and Practical Conference Problems of the Development of Science and the View of Society; 2023 March 21-24; Graz. Graz; 2023, p. 160-162.

36. Kamyshna II. Depression disorders in patients with hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. In: Proceedings of the XIII International Scientific and Practical Conference Theoretical and Applied Aspects of the Development of Science; 2023 May 09-12; Bilbao. Bilbao; 2023, p. 205-206.

37. Kamyshna II. Cognitive disorders in patients with thyroid pathology.  
In: Proceedings of the XIV International Scientific and Practical Conference  
Development, Education, Culture: Integration Trends in the Modern World; 2023  
April 11-14; Oslo. Oslo; 2023, p. 211-213.

## ДОДАТОК Б

### Відомості про апробацію результатів дисертації:

- Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Ендокринні та неврологічні захворювання: проблеми коморбідності» (м. Чернівці, 13-4 вересня 2018 р.) – *стендова доповідь, публікація тез;*
- 99 підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького персоналу ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці, 12, 14, 19 лютого; 2018 р.) – *усна доповідь, публікація тез;*
- American Academy of Neurology 75 years, Autoimmune Neurology (April 13, 2021) – *публікація тез;*
- IV Національний конгрес з клінічної імунології, алергології та імунореабілітації (м. Чернівці, 19-21 травня 2021 р.) – *усна доповідь;*
- Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги» (м. Тернопіль, 23-24 вересня 2021 р.) – *усна доповідь, публікація тез;*
- науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання ендокринології та ендокринної хірургії» (м. Київ, 29-30 вересня 2022 р.) – *усна доповідь;*
- Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Перспективи розвитку медичної та фізичної реабілітації на різних рівнях надання медичної допомоги» (м. Тернопіль, 29-30 вересня 2022 р.) – *усна доповідь, публікація тез;*
- World Congress «Endocrinology, Diabetes and Metabolism» (London, UK; October 04-05, 2022) – *усна доповідь, публікація тез;*
- 6th European Congress on Neurology and Brain Disorders (Rome, Italy; November 17-18, 2022) – *усна доповідь, публікація тез;*

- 23rd European Congress of Endocrinology (Online; 22-26 May, 2021) – *публікація тез*;
- XI International Scientific and Practical Conference «Problems of the Development of Science and the View of Society» (Graz, Austria; March 21-24, 2023) – *публікація тез*;
- XIII International Scientific and Practical Conference «Theoretical and Applied Aspects of the Development of Science» (Bilbao, Spain; May 09-12, 2023) – *публікація тез*;
- XIV International Scientific and Practical Conference «Development, Education, Culture: Integration Trends in the Modern World» (Oslo, Norway; April 11-14, 2023) – *публікація тез*;
- науково-практична конференція «Коморбідний ендокринологічний пацієнт – 2023. Сесія 2» (онлайн-формат, 24 квітня 2023 р.) – *усна доповідь*.

## ДОДАТОК В.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти  
науково-педагогічної роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І.Я. Горбачевського  
професор Аркадій ШУЛЬГАЙ

« 26 » листопада 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Спосіб ранньої діагностики та прогнозування психоневрологічних порушень при патології щитоподібної залози з урахуванням гуморальних маркерів нейротрансмісії та молекулярних чинників».
2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, м-н Волі 1, 46000; доц. Камишна І.І.
3. **Джерело інформації:**
  - Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Association between Serum Brain-derived Neurotrophic Factor and 25-OH Vitamin D Levels with Vitamin D Receptors Gene Polymorphism (rs2228570) in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. Open Access Maced J Med Sci [Internet]. 2021 Aug. 31 [cited 2021 Oct. 7];9(A):659-64. Available from: <https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/6631>
  - Kamyshna I., Pavlovych L, Malyk I., Kamyshnyi A. 25-OH Vitamin D blood serum linkage with VDR gene polymorphism (rs2228570) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian Population Journal of Medicine and Life. 2021; 14 (4): 549–556.
  - Kamyshna I., Pavlovych L, Sydoruchuk L., Malyk I., Kamyshnyi A. BDNF blood serum linkage with BDNF gene polymorphism (rs6265) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population Endocr Regul. 2021;55(4):101-111.
  - Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Association between NMDA gene polymorphism (rs4880213) and GRIN2B blood serum levels in thyroid pathology patients. J Med Life. 2022 Jan;15(1):109-116. doi: 10.25122/jml-2021-0372. PMID: 35186144; PMCID: PMC8852646.
  - Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Endocr Regul. 2022 Jul 13;56(3):178-189. doi: 10.2478/enr-2022-0019. PMID: 35843716.
  - Kamyshna I, Pavlovych L, Kamyshnyi A. Prediction of the development of depression in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Jan 31; 10(B):137-45 <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.7896>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського
5. **Терміни впровадження:** січень 2023 р. – травень 2023 р.
6. **Форма впровадження:** у наукову роботу (застосування методики), навчальний процес (в матеріали лекцій, практичних занять, самостійної роботи).
7. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти стосовно способів ранньої діагностики та прогнозування психоневрологічних порушень з урахуванням клінічних та генетичних предиктів.

Завідувачка кафедри  
патологічної фізіології  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І.Я. Горбачевського,  
д.мед.н., професорка



Ольга ДЕНЕФІЛЬ



## ДОДАТОК В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти  
науково-педагогічної роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І.Я.Горбачевського  
професор Аркадій ШУЛЬГАЙ

« 4 » 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Спосіб ранньої діагностики та прогнозування психоневрологічних порушень при патології щитоподібної залози з урахуванням гуморальних маркерів нейротрансмісії та молекулярних чинників».
2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, м-н Волі 1, 46000; доц. Камишна І.І.
3. **Джерело інформації:**
  - Kamyshna I, Pavlovysh L, Kamyshnyi A. Association between Serum Brain-derived Neurotrophic Factor and 25-OH Vitamin D Levels with Vitamin D Receptors Gene Polymorphism (rs2228570) in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. Open Access Maced J Med Sci [Internet]. 2021 Aug. 31 [cited 2021 Oct. 7];9(A):659-64. Available from: <https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/6631>
  - Kamyshna I., Pavlovysh L, Malyk I., Kamyshnyi A. 25-OH Vitamin D blood serum linkage with VDR gene polymorphism (rs2228570) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian Population Journal of Medicine and Life. 2021; 14 (4): 549–556.
  - Kamyshna I., Pavlovysh L, Sydorshuk L., Malyk I., Kamyshnyi A. BDNF blood serum linkage with BDNF gene polymorphism (rs6265) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population Endocr Regul. 2021;55(4):101-111.
  - Kamyshna II, Pavlovysh LB, Kamyshnyi AM. Association between NMDA gene polymorphism (rs4880213) and GRIN2B blood serum levels in thyroid pathology patients. J Med Life. 2022 Jan;15(1):109-116. doi: 10.25122/jml-2021-0372. PMID: 35186144; PMCID: PMC8852646.
  - Kamyshna II, Pavlovysh LB, Kamyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Endocr Regul. 2022 Jul 13;56(3):178-189. doi: 10.2478/enr-2022-0019. PMID: 35843716.
  - Kamyshna I, Pavlovysh L, Kamyshnyi A. Prediction of the development of depression in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Jan 31; 10(B):137-45 <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.7896>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра медичної реабілітації Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського
5. **Терміни впровадження:** січень 2023 р. – травень 2023 р.
6. **Форма впровадження:** у наукову роботу (застосування методики), навчальний процес (в матеріали лекцій, практичних занять, самостійної роботи).
7. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти стосовно способів ранньої діагностики та прогнозування психоневрологічних порушень з урахуванням клінічних та генетичних предиктів.

Завідувач кафедри  
медичної реабілітації  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І.Я. Горбачевського,  
д.мед.н., професор



Ігор МИСУЛА

## ДОДАТОК В.3



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиції для впровадження:** Прогнозування розвитку когнітивних порушень при тиреоїдній патології

**2. Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, м-н Волі 1, 46000; доц. Камишна І.І.

**3. Джерело інформації:** Kamyshna II, Pavlovych LB, Kamyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. *Endocr Regul.* 2022 Jul 13;56(3):178-189. doi: 10.2478/enr-2022-0019. PMID: 35843716.

**4. Впроваджено** в навчально-педагогічний процес на кафедрі ендокринології Івано-Франківського національного медичного університету.

**5. Терміни впровадження:** 2022-2023 навчальний рік.

**6. Результати впровадження:** використання результатів роботи Камишної І.І. в навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів та лікарів про удосконалення ранньої діагностики і прогнозування розвитку когнітивних порушень при патології щитоподібної залози, що дозволяє завчасно застосувати комплекс заходів з попередження прогресування порушень когніції з подальшим використанням в майбутній практичній діяльності.

**7. Зауваження пропозиції:** зауважень немає.

Завідувачка кафедри ендокринології  
 Івано-Франківського національного  
 медичного університету  
 д.мед.н., професор

„5” вересня 2022 р.

Надія СКРИПНИК



## ДОДАТОК В.4



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Спосіб ранньої діагностики та прогнозування психоневрологічних порушень при патології щитоподібної залози з урахуванням гуморальних маркерів нейротрансмісії та молекулярних чинників».
2. **Установа-розробник:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, м-н Воли 1, 46000; доц. Камишна І.І.
3. **Джерело інформації:**
  - Kamiyshna I, Pavlovych L, Kamiyshnyi A. Association between Serum Brain-derived Neurotrophic Factor and 25-OH Vitamin D Levels with Vitamin D Receptors Gene Polymorphism (rs2228570) in Patients with Autoimmune Thyroiditis and Hypothyroidism. Open Access Maced J Med Sci [Internet]. 2021 Aug. 31 [cited 2021 Oct. 7];9(A):659-64. Available from: <https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/6631>
  - Kamiyshna I., Pavlovych L, Malyk I., Kamiyshnyi A. 25-OH Vitamin D blood serum linkage with VDR gene polymorphism (rs2228570) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population Journal of Medicine and Life. 2021; 14 (4): 549–556.
  - Kamiyshna I., Pavlovych L, Sydorchuk L., Malyk I., Kamiyshnyi A. BDNF blood serum linkage with BDNF gene polymorphism (rs6265) in thyroid pathology patients in the West-Ukrainian population Endocr Regul. 2021;55(4):101-111.
  - Kamiyshna II, Pavlovych LB, Kamiyshnyi AM. Association between NMDA gene polymorphism (rs4880213) and GRIN2B blood serum levels in thyroid pathology patients. J Med Life. 2022 Jan;15(1):109-116. doi: 10.25122/jml-2021-0372. PMID: 35186144; PMCID: PMC8852646.
  - Kamiyshna II, Pavlovych LB, Kamiyshnyi AM. Prediction of the cognitive impairment development in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. Endocr Regul. 2022 Jul 13;56(3):178-189. doi: 10.2478/enr-2022-0019. PMID: 35843716.
  - Kamiyshna I, Pavlovych L, Kamiyshnyi A. Prediction of the development of depression in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2022 Jan 31; 10(B):137-45 <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.7896>
  - Kamiyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, Pankiv V, Maslyanko V, Kamiyshnyi A Evaluation of the influence of single-nucleotide polymorphisms of *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) and *NMDA* (rs4880213) genes on gene expression in different tissues Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2023. - Т.19, № 2. – С. 8-14.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра сімейної медицини Буковинського державного медичного університету
5. **Терміни впровадження:** травень 2023 р. – грудень 2023 р.
6. **Форма впровадження:** у наукову роботу (застосування методики), навчальний процес (в матеріали лекцій, практичних занять, самоїсної роботи).
7. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, лікарів-слухачів, аспірантів, здобувачів стосовно способів ранньої діагностики та прогнозування психоневрологічних порушень з урахуванням клінічних та генетичних предиктив.

Завідувачка кафедри  
 сімейної медицини Буковинського  
 державного медичного університету,  
 д.мед.н., професорка ЗВО

Лариса СИДОРЧУК



## ДОДАТОК В.5

«Затверджую»  
Заступник директора з наукових питань  
Українського науково-практичного центру  
ендокринної хірургії, трансплантації  
ендокринних органів і тканин  
МОЗ України

  
Т.Ю. Юзвенко  
« 30 » січня 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції для впровадження:** Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом на тлі аутоімунного тиреоїдиту
- 2. Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів:** Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Волі, 1  
**Автор:** доц. Камишна І.І.
- 3. Джерело інформації** Kamyshna I. The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. International Journal of Endocrinology (Ukraine). 2022;18(7):7–11.
- 4. Де впроваджено:** Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України
- 5. Строк впровадження** 09.2022 – 03. 2023
- 6. Загальна кількість спостережень** 27
- 7. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, закладених в джерелі інформації:**  
Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом, спричиненим аутоімунним тиреоїдитом, рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тижнів. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. У решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40%	на 40%

## 8. Зауваження, пропозиції – немає

**Відповідальний за впровадження:** завідувач відділу профілактики, лікування цукрового діабету та його ускладнень, Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України

« 30 » січня 2023 р.

  
Паньків В.І.

## ДОДАТОК В.6

«Затверджую»  
Генеральний директор  
Обласне комунальне некомерційне підприємство  
«Чернівецький обласний ендокринологічний центр»



М.ІО. Леонова

2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

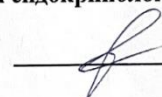
1. Назва пропозиції для впровадження: Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та аутоімунним тиреоїдитом з
2. Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів: Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Волі, 1  
Автори: доц. Камішна І.І.
3. Джерело інформації The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
4. Де впроваджено: «Чернівецький обласний ендокринологічний центр»
5. Строк впровадження протягом 2022 – 2023 рр.
6. Загальна кількість спостережень 32
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації: Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим аутоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тижнів. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих 1 групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 41 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 32 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 19,7 % пацієнтів зникла депресія. Нами спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. У решти пацієнтів цієї групи мало місце зниження депресивних проявів з середньої тяжкості до легкої.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 41 %

8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:

Медичний директор  
Обласне комунальне некомерційне підприємство  
«Чернівецький обласний ендокринологічний центр»

 І.І. Яковець

“ 4 ” 2023 р.



## ДОДАТОК В.7

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
**В.О. директора КНП**  
**«Міська поліклініка №3»**  
**Чернівецької міської ради**  
**Василь БОЙКО**  
 (керівник установи, в якій проведено впровадження)  
 14257878  
 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та автоімунним тиреоїдитом
2. Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів: Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Волі, 1  
 Автори: доц. Камишна І.І.
3. Джерело інформації The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
4. Де впроваджено: КНП «Міська поліклініка №3» Чернівецької міської ради
5. Строк впровадження протягом 2023 -2024 рр.
6. Загальна кількість спостережень 28
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації: Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим автоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тиж. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих І групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 40 %

## 8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:  
 завідувач відділення сімейної медицини  
 КНП «Міська поліклініка №3»  
 Чернівецької міської ради  
 «14» Січня 2023 р.



Василь БОЙКО

## ДОДАТОК В.8

«Затверджую»  
 Директор КНП «Збаразька центральна лікарня»  
 Чепіль Г.В.  
 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та аутоімунним тиреоїдитом з
- Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів:** Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Волі, 1  
**Автори:** доц. Камишна І.І.
- Джерело інформації** The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
- Де впроваджено:** КНП «Збаразька Центральна Лікарня»
- Строк впровадження** протягом 2023 -2024 рр.
- Загальна кількість спостережень** 28
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації:** Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим аутоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тиж. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих 1 групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 40 %

8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:  
 «Збаразька центральна лікарня»

медичний директор КНП  
 Коваль О.В.

« 9 » 12 2023 р



## ДОДАТОК В.9

«Затверджую»  
 Генеральний директор  
 КНП «Білогірська багатoproфільна лікарня»  
 Білогірської селищної ради  
 Шепетівського району  
 Хмельницької області  
 О.Лівінчук  
 « 21 » березня 2023 року

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та аутоімунним тиреоїдитом/
2. Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів: Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Воли, І  
 Автори: доц. Камишна І.І.
3. Джерело інформації The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
4. Де впроваджено: КНП Білогірська багатoproфільна лікарня
5. Строк впровадження протягом 2023 -2024 рр.
6. Загальна кількість спостережень 28
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації: Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим аутоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тиж. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих І групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 40 %

8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:

медичний директор  
 КНП Білогірська БЛ

В.Любовецький

« 21 » березня 2023 р

## ДОДАТОК В.10

«Затверджую»

Генеральний директор  
КНП «Білогірський ЦПМСД»

Білогірської селищної ради

Шепетівського району

Хмельницької області

В.Яремчук

« 23 » березня 2023 року



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та аутоімунним тиреоїдитом/
- Заклад, що його розробив, поштова адреса, п. і, по батькові авторів:** Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Воли. I  
**Автори:** доц. Камішна І.І.
- Джерело інформації** The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
- Де впроваджено:** КНП Білогірський ЦПМСД
- Строк впровадження** протягом 2023 -2024 рр.
- Загальна кількість спостережень** 28
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації:** Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим аутоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тиж. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих I групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 40 %

8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:

медичний директор  
КНП Білогірський ЦПМСД  
В.Яремчук

« 23 » березня 2023 р



## ДОДАТОК В.11

Затверджую  
Директор КНП  
«Волочиська багатопрофільна лікарня»  
Волочиської міської ради  
Віктор ЧУБАР  
2023 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції для впровадження:** Призначення холекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та аутоімунним тиреоїдитом
- 2. Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів:** Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Волі, 1  
**Автори:** доц. Камишна І.І.
- 3. Джерело інформації** The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
- 4. Де впроваджено:** КНП «Волочиська багатопрофільна лікарня» Волочиської міської ради
- 5. Строк впровадження** протягом 2023 -2024 рр.
- 6. Загальна кількість спостережень** 28
- 7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації:** Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим аутоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення холекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тиж. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих І групи, які отримували холекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням холекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 40 %

8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:

Директор КНП  
«Волочиська багатопрофільна лікарня»  
Волочиської міської ради

Віктор ЧУБАР



“ 21 ” 2023 р

## ДОДАТОК В.12

«Затверджую»  
 Начальник ДУ «ТМО МВС України  
 по Закарпатській області»  
 лікар Іван Лемко

« 4 » \_\_\_\_\_ 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Призначення колекальциферолу в комплексному лікуванні депресивних розладів у пацієнтів з гіпотиреозом та аутоімунним тиреоїдитом
2. Заклад, що його розробив, поштова адреса, п., і., по батькові авторів: Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, 46001, м. Тернопіль, М. Воли, 1  
 Автори: доц. Камишна І.І.
3. Джерело інформації The role of vitamin D for the management of depression in the Western Ukrainian population with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / Kamyshna I. // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2022.- Т.18, №7, 7–11.
4. Де впроваджено: Державна установа «Територіальне медичне об'єднання МВС України по Закарпатській області»
5. Строк впровадження 01.2023 – 05.2023
6. Загальна кількість спостережень 18
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, які закладені в джерелі інформації: Для зменшення депресивних порушень у пацієнтів з гіпотиреозом спричиненим аутоімунним тиреоїдитом рекомендовано додаткове призначення колекальциферолу у дозі 4000 МО/добу (28 000 МО/тиждень) впродовж 12 тиж. Після лікування спостерігається зниження рівня депресії за шкалою Гамільтона. Так, у хворих 1 групи, які отримували колекальциферол і L-тироксин, рівень депресії за шкалою Гамільтона знизився на 40 %, тоді як у пацієнтів, які отримували тільки L-тироксин, рівень депресії знизився на 25 %. Аналізуючи ефективність лікування хворих з додатковим призначенням колекальциферолу на фоні L-тироксину у 21,4 % пацієнтів зникла депресія. Крім того, спостерігалось зниження проявів депресії в інших пацієнтів цієї групи. Так, у решти хворих ступінь депресивних проявів зменшився від середньої тяжкості до легкого депресивного розладу.

Показники	За даними авторів	За даними організації, що впроваджує
Зменшення депресивних порушень за шкалою Гамільтона	на 40 %	на 40 %

8. Зауваження, пропозиції – немає

Відповідальний за впровадження:

« 4 » \_\_\_\_\_ 2023 р.

завідувач терапевтичного  
 відділення ДУ «ТМО МВС України  
 по Закарпатській області»

Никитюк Л.А.