

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

КАМИШНА ІРИНА ІВАНІВНА

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

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

14.03.04 – патологічна фізіологія

Реферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Тернопіль – 2023

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Тернопільському національному медичному університеті імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Вастьянов Руслан Сергійович**, Одеський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В. В. Підвисоцького;
- доктор медичних наук, професор **Зяблицев Сергій Володимирович**, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, в .о. завідувача кафедри патофізіології;
- доктор біологічних наук, професор **Гарбузова Вікторія Юрївна**, Сумський державний університет МОН України, завідувачка кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології.

Захист відбудеться 08 листопада 2023 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Учений секретар докторської ради Д 58.601.01

Іван КЛІЩ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. 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 (Taylor P. et al., 2018). Масштабні обсерваційні дослідження та мета-аналізи показали, що приблизно 4-7 % населення США та Європи страждають від недиагностованого гіпотиреозу (Gottwald-Hostalek U. et al., 2022). Ще одним поширеним захворюванням ЩЗ є хронічний автоімунний тиреоїдит (АІТ), який вражає 3-5 % осіб у всьому світі і найчастіше призводить до гіпотиреозу (Chaker L. et al., 2022, Li Q. et al., 2022). 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 спричинюють пошкодження імунної системи, а також реалізують ефект на рівні цільових органів, зокрема ЩЗ (Kravchenko V., 2020; Pasyechko N., et al. 2020). З огляду на актуальність тематики, проблема вивчення етіології, патогенезу, епідеміології, діагностики та лікування АІТ набуває важливого медичного та соціального значення (Pankiv V., et al. 2020; Hegedüs L. et al., 2022).

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 (Bernal J. et al., 2000; Sawicka-Gutaj N. et al., 2022). Найпоширенішими психоневрологічними проявами тиреоїдних розладів є депресія, тривога та когнітивні порушення (Jurado-Flores M. et al., 2022), що підтверджується низкою досліджень (Nuguru S. et al., 2022.; Ryun J. et al., 2022; Ye Y. et al., 2022) у пацієнтів із гіпотиреозом. З іншого боку, АІТ також пов'язаний із розвитком депресії та тривожних розладів (Siegmann E.M. et al., 2018).

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 (Nogueira A. B. et al., 2022). Нейрогенез регулюється ендогенними сигнальними молекулами, включаючи гормони і фактори росту (Costa V. et al., 2015; An J. et al., 2022; Leschik J. et al., 2022). Багато регуляторних генів нейрогенезу не тільки транскрибуються, але і транслюються в клітинах крові. Аналіз транскрипційної

активності генів, що регулюють нейрогенез, у клітинах периферичної крові у пацієнтів із захворюваннями ШЗ, 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 ШЗ на розвиток психоневрологічних ускладнень.

Значущим у цьому аспекті є мозковий нейротрофічний фактор (BDNF), який відіграє важливу роль у процесах навчання та пам'яті (Sable H. J. et al., 2021). Регуляція BDNF безпосередньо залежить від гормонів ШЗ і він має важливе значення у розвитку мозку плода (Hung P. L. et al., 2018). BDNF експресується в різних клітинах, включаючи нервові, і може проходити через гематоенцефалічний бар'єр (Puhlmann L. M. C. et al., 2021). Попередні дослідження продемонстрували взаємозв'язок між рівнями BDNF, функцією центральної і периферичної нервових систем (Xiong L. L. et al., 2021; Li Y. et al., 2022). 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 (Peters R. B. et al., 2021; Wang C. S. et al., 2022; Gliwińska A. et al., 2023; Wang T. et al., 2023). Зважаючи на цю важливу роль BDNF, у кількох дослідженнях вивчали зв'язок між ТГ та експресією цього нейротрофіну в мозку, що розвивається (Memarpour S. et al., 2020; Madhusudhan U. et al., 2022). 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 (Peng S. et al., 2018; Rana T. et al., 2021).

Виникнення психоневрологічних ускладнень, прогнозування їх розвитку та перебіг у хворих з тиреоїдною патологією значною мірою детермінується генетичними чинниками. Білок BDNF кодується геном *BDNF*, серед одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) якого одним з найбільш вивчених є поліморфізм rs6265 (Martens L. et al., 2021). Важливим є дослідження патогенетичного зв'язку поліморфізму гена *BDNF* (rs6265) із виникненням когнітивних, депресивних і тривожних розладів при захворюваннях ШЗ.

Вітамін D, крім загальноновизнаної ролі в метаболізмі кальцію, також впливає на імунну регуляцію (Komisarenko Y. I., Vobryk M. I., 2018). В окремих дослідженнях встановлено зниження рівня вітаміну D у сироватці крові в осіб із тиреоїдитом Хашимото (ТХ) порівняно з контрольною групою (Giovinazzo S. et al., 2017). Активна форма вітаміну D – 1,25 (OH)₂D, є важливим імуномодулятором, оскільки він запускає вроджені та адаптивні імунні реакції через зв'язування з рецепторами вітаміну D (VDR) (Lithgow H. et al., 2021). Серед понад шістдесяти SNP, ідентифікованих у гені *VDR*, деякі, включаючи rs731236, rs1544410, rs2228570 і rs7975232, були пов'язані з ризиком розвитку аутоімунних захворювань ШЗ (АЗШЗ) (Long X. et al., 2016; Giovinazzo S. et al., 2017). Ряд досліджень свідчить про позитивний захисний вплив вітаміну D при АЗШЗ, але механізм його дії до кінця не з'ясований (Roehlen N. et al., 2018). Клінічні

дослідження демонструють сильний взаємозв'язок між рівнями вітаміну D у сироватці крові та когнітивними порушеннями у пацієнтів із АЗЩЗ (Xu J. et al., 2018). 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 (Wei Y. et al., 2022). Сучасні дані свідчать про те, що глутамат-опосередкована нейротрансмісія може бути важливою мішенню для гормонів ЩЗ (Tomczyk T., Urbańska E. M. 2018). 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 алейний стан генів *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213) у структурі інших чинників ризику, що супроводжуються розвитком психоневрологічних порушень при 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 автоімунний тиреоїдит і гіпотиреоз з метою попередження прогресування психоневрологічних ускладнень при тиреоїдній патології.

Вище наведені дані визначили актуальність і практичну цінність наукової роботи та стали підґрунтям для проведення 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 ім. С. М. Савенка 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 алельний 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 – автоімунний тиреоїдит (АІТ), автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом (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 раза (p≤0,037-0,001), у групі контролю – в 1,38-2,07 раза (p≤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 раза за кожним генотипом аналізованих генів окремо (p≤0,01-0,001): сильніше у носіїв *TT*-варіанту гена *BDNF* (rs6265) – у 3,14-3,35 раза (p≤0,006-0,001), вірогідно у власників *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) – у 2,61-3,92 раза (p<0,001). 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≤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 (ПОГ, АІТ з Г), особливо у носіїв основного А-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 й 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*, *VEGF* і підвищену – *NTRK1-2*, *NPY1R*, *BCL2*, *BAX*.

Уперше діагностовано у половини пацієнтів із патологією ЩЗ (47,37 %) носіїв Т-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 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 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 ($p\leq 0,045-0,001$). Не має аналогів модель багатофакторного множинного лінійного регресійного аналізу, в якій додатково підтверджено прогностичний вплив сироваткових концентрацій BDNF, GRIN2, вільного Т4, АТТГ і 25(OH)D на рівень «тривоги» із коефіцієнтами детермінації $R^2=84,7$ %, кореляції $r_{xy}=0,9$ ($p<0,001$).

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 Т-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 Т-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(OH)D ($p < 0,001$). Доповнено наукові дані, що 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 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(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 у 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.

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 гіпотиреозом сприяло зниженню ТТГ у 1,78 і 1,82 рази ($p < 0,05$), зростанню та нормалізації рівня вільного Т4 ($p < 0,05$) і елевації BDNF – у 7,4 і 2,1 рази ($p \leq 0,045-0,001$), 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 рази ($p < 0,001$), але тільки за вище означеної комбінації препаратів. Додаткове призначення до лікування хворих на гіпотиреоз, спричинений 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 i TP53* – у 3,93-37,96 рази ($p \leq 0,039-0,001$), а також зменшення транскрипційної активності генів *BAX, GDNF, CD40, FOS, GDNF, GFRA1, IL1B i STAT3* – у 4,43-35,85 рази ($p \leq 0,021-0,001$) 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.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджено 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 національного медичного університету, кафедри сімейної медицини Буковинського державного медичного університету, Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин, у практичну роботу лікувально-профілактичних установ первинного та вторинного рівнів надання медичної допомоги: Чернівецького обласного ендокринологічного центру, КНП «Міська поліклініка № 3» Чернівецької міської ради, Збараської центральної лікарні Тернопільської області, КНП «Білогірська багатoproфільна лікарня», КНП «Білогірський ЦПМСД» Білогірської селищної ради Шепетівського району Хмельницької області, Волочиської багатoproфільної лікарні Хмельницької області, терапевтичному відділенні ДУ «Територіальне медичне об'єднання Міністерства внутрішніх справ 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, проаналізувала та узагальнила отримані дані, сформулювала основні наукові положення і висновки, написала й 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 дисертації. 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.

Обсяг та структура 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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. У дослідженні взяли участь 480 осіб, серед них 355 пацієнтів із патологією ЩЗ та 125 осіб контрольної групи. 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».

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. Етап скринінгу пройшли 335 хворих з патологією щитоподібної залози із наступним підписанням інформованої згоди на участь у дослідженні.

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, карциноми та аденоми 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 ($46,98 \pm 8,00$) 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 (рис. 1).

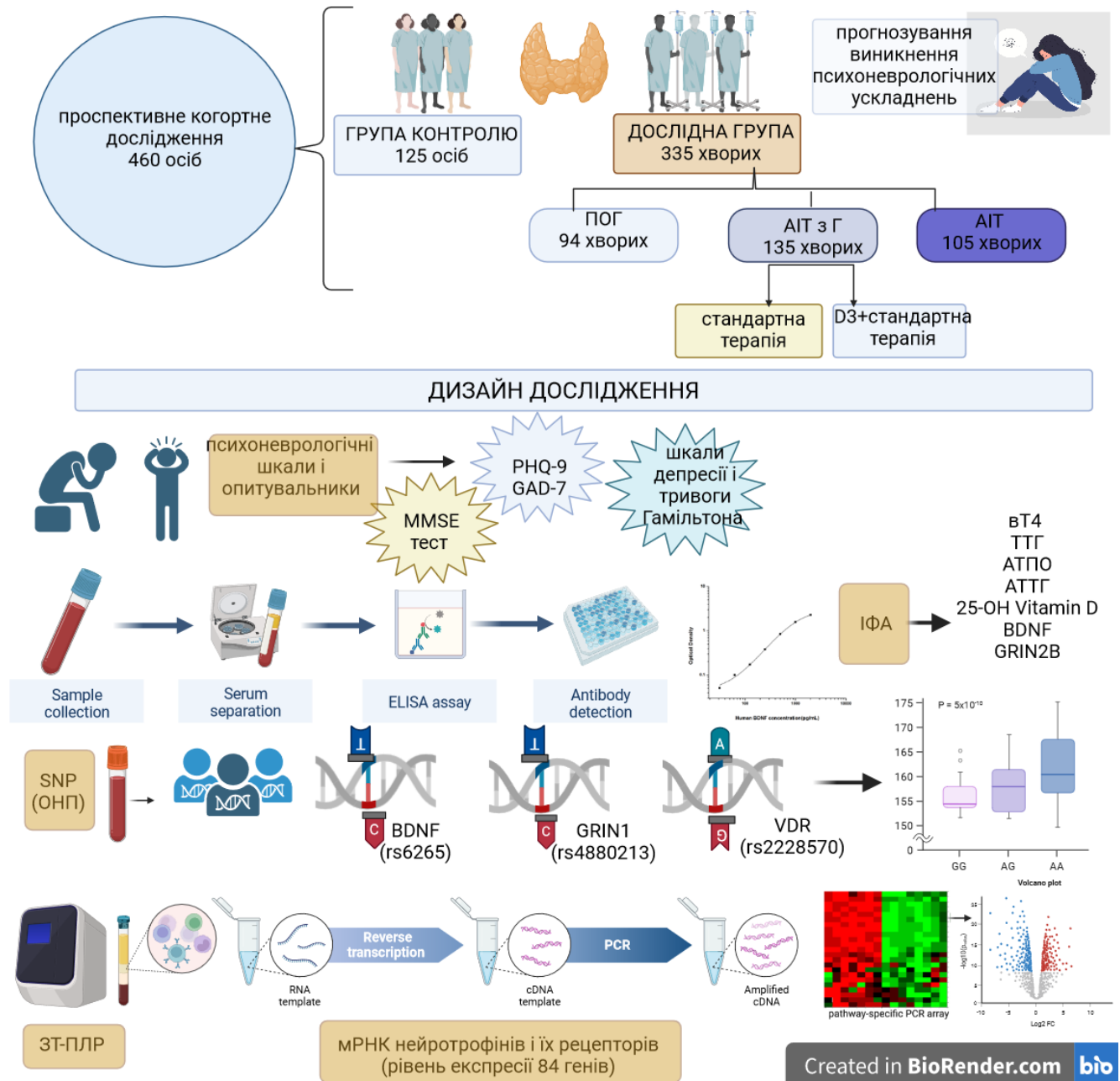


Рисунок 1 – Дизайн дослідження

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.

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 проведені з дотриманням усіх загально-прийнятих біоетичних норм.

Обстежуваним виконали комплекс досліджень: клінічні (неврологічне обстеження та психо-неврологічні 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.

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).

Рівні тривожності визначали за скринінговим методом GAD-7. PHQ-9 і GAD-7 є доказовими інструментами, розробленими на основі методу скринінгу *Primary Care Evaluation of Mental Disorders (PRIME-MD)*. Виявлення зниження когнітивних функцій здійснювалось за допомогою міні-обстеження психічного стану - MMSE тесту. Крім того, ми визначали тяжкість депресії та рівень тривожності, використовуючи шкалу оцінки депресії Гамільтона і шкалу оцінки тривожності Гамільтона.

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 кожній 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). Рівні GRIN2B у сироватках пацієнтів і здорових суб'єктів оцінювали за допомогою набору для імуноферментного аналізу ELISA Kit (Elabscience®, США), 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).

Для 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.

Для генотипування та визначення асоціацій із захворюваннями ЦЗ3 одонуклетидного 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», («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.

Генотипування за допомогою TaqMan зондів і TaqMan Genotyping Master Mix (4371355) здійснювали на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, 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. 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.

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

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].

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 χ^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 ШІП'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.

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті нашого дослідження встановлено, що перебіг післяопераційного та гіпотиреозу на фоні АІТ супроводжується зниженням у сироватці крові рівнів BDNF у 3,34 і 3,15 раза та T4 – у 2,6 і 2,2 раза ($p < 0,001$). Водночас у пацієнтів з АІТ рівень BDNF вірогідно не відрізнявся від показника контрольної групи. 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. Також установили зниження вмісту 25(OH)D – у 1,8-2,03 раза відповідно ($p < 0,001$).

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 %), кваліть (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. Серед неврологічних скарг спостерігалась нестійкість при ходьбі у 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 було виявлено.

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.

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.

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.

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 спостерігались помірні когнітивні порушення, що передували деменції. 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, ніж 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 %).

Проаналізувавши частоту алелів і генотипів *BDNF* (rs6265) у пацієнтів з патологією ЩЗ і контрольної групи ми виявили, що відносна частота досліджуваних поліморфних варіантів генів між групами дослідження не відрізнялась. Тест відношення шансів (ВШ) показав, 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 % ($p > 0,05$). У кількісному відношенні домінуючим алелем є *C* варіант ($P_c = 0,81$ проти $P_T = 0,19$), що загалом формує нормальний популяційний розподіл ($F = 0,19$, $p > 0,05$).

Аналіз моделей успадкування із урахуванням поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) 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; $p > 0,05$].

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 %. Серед населення Америки частота зустрічання склала 85 % для *C*-алеля та 15 % для *T*-алеля.

При аналізі розподілу поліморфних варіантів гена *BDNF* (rs6265) у пацієнтів залежно від різної тиреоїдної патології 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.

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 % ($p > 0,05$). 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 ($F = 0,15$, $p > 0,05$).

Аналіз моделей успадкування із урахуванням поліморфних варіантів гена *VDR* (rs2228570) виявив, що найдієвішою є рецесивна модель із інформаційним критерієм Акайке 15,46 [$ВШ = 0,63$; 95 % ДІ: 0,25 – 1,74]; ($p > 0,05$).

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. 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.

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

Проаналізовано частоти алелів та генотипів *NMDA* (rs4880213) у пацієнтів із захворюваннями ШЗ та контрольної групи. Відносна частота цих поліморфних варіантів гена не відрізнялася в обох групах. 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 % ($p>0,05$). У кількісному відношенні домінуючим алелем є *C* варіант ($P_C=0,55$ проти $P_T=0,45$), що загалом формує нормальний популяційний розподіл ($F=0,03$, $p>0,05$).

Проаналізувавши усі моделі успадкування з урахуванням поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213) найкращою виявилась рецесивна модель із інформаційним критерієм Акайке 16,39 [ВШ=1,44; 95 % ДІ: 0,51 – 5,2]; ($p>0,05$).

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

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

(rs6265), *VDR* (rs2228570), та *NMDA* (rs4880213) траплялись у поодиноких випадках. Носіїв *TT/AA/TT*, *TT/AG/TT*, та *TT/GG/TT* комбінацій генотипів у обстеженій популяції виявлено не було.

Епідеміологічний аналіз не підтвердив поєднання генотипів аналізованих генів в якості факторів ризику появи ПОГ, АІТ з Г та АІТ в обстеженій популяції. 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]. 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]. Також було встановлено, що носійство комбінації *CT/GG/CT* генотипів значно зменшує ризик розвитку тривоги (OR=0,1233; 95 % CI OR: 0,0197 – 0,7730; p=0,0344).

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 *p* для кожного SNP *BDNF* (rs6265), *VDR* (rs2228570) та *NMDA* (rs4880213).

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 IMM1L*, *KIF18A*, *HPS5*, *NAV2*, *LGR4*, *CCDC34*) у різних тканинах. 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 ШЗ ($\beta=-0,28$, $p=5,49E-09$), у мозку ($\beta=-0,19$, $p=0,0000563$), у нирках ($\beta=-0,28$, $p=1,17E-06$) та інших тканинах.

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. Алель *T* rs4880213 асоційований з індукцією транскрипційної активності гена *MAN1B1* в ШЗ ($\beta=0,16$, $p=8,35E-07$), 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 фібробластах ($\beta=-0,16$, $p=3,48E-06$) та в судинах ($\beta=-0,19$, $p=1,59E-05$), *FAM166A* в очах ($\beta=-0,09$, $p=0,00814$).

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). Вплив на експресію чинять як алель *A*, так і алель *G* rs2228570. Так, алель *A* rs2228570 асоційований з підвищеною експресією гена *VDR* у CD4+ Т-клітинах крові ($\beta=2,93$, $p=0,00336$), гена *RAPGEF3* у CD14+ моноцитах крові ($\beta=0,20$, $p=0,00354$), а алель *G* rs2228570 викликає транскрипційну індукцію генів *HDAC7* в CD8+Т-клітинах крові ($\beta=0,14$, $p=0,000429$) і *PCED1B* в активованих CD4+ Т-клітинах крові ($\beta=0,09$, $p=0,00271$)

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. 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.

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. Найнижчим був рівень BDNF у носіїв генотипу *TT* у всіх групах пацієнтів, порівняно з носіями генотипу *CC*. 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* ($p < 0,001$). 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 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 – в 4,11 ($p < 0,001$) і 3,29 ($p=0,00143$) раза 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*.

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 % CI OR: 0,002; 0,9159; p=0,021]. Разом з тим, носійство *T*-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 ($r=-0,96$; $p<0,001$).

Рівень 25(OH)D у всіх групах пацієнтів був значно нижчим, порівняно з контрольною групою. 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* ($p=0,026$).

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 %) ($p<0,001$).

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.

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 ($r=-0,24$; $p<0,001$).

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. Водночас, значущої різниці в рівні BDNF між різними генотипами *VDR* rs2228570 у дослідній групі не виявлено.

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. 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 виявлено 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.

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.

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 раза ($p < 0,001$), зростаючи за АІТ з Г – у 1,52-1,66 раза ($p < 0,001$) відповідно, підвищуючи клінічну ймовірність розвитку судомного синдрому, змін настрою (психотичної нестабільності), втрату пам'яті, когнітивних розладів тощо.

Використовуючи ПЛР-еррей, орієнтований на шляхи нейротрофінів та їх рецепторів (Neurotrophins and Receptors RT² Profiler PCR Array), 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 автоантитіл, таких як АТПО та АТТГ.

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 раза ($p \leq 0,003-0,001$), за зростання такої для *GDNF* – у 5-10,7 раза ($p \leq 0,005$).

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 раза ($p \leq 0,03$), за зниження такої для *GDNF* і *NTSR1* – у 3,6-21,0 раза ($p \leq 0,005$) відповідно.

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

Експресія окремих генів-регуляторів нейрогенезу зменшена у всіх хворих, незалежно від патології ЩЗ: *NGFR*, *NRG1* і *NTF3* – у 4,43-17,4 раза ($p \leq 0,015$), 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 раза ($p < 0,001$), а у хворих на АІТ без гіпотиреозу – для генів *GFRA3*, *NTRK1* і *NTRK2* у 6,4-10,5 раза ($p \leq 0,002$).

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 раза ($p \leq 0,002$). За гіпотиреозу (ПОГ, АІТ з Г) додатково нижчу експресію виявили в генів *CRHBP*, *GMFB*, *VGF* – у 4,54-5,96 раза ($p \leq 0,014$). 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 раза ($p \leq 0,013$).

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

Вивчення транскрипційної активності генів нейропептидів та їх рецепторів засвідчила вірогідне зростання 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 *PNOС* 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 суттєво під впливом патології ЩЗ.

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

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. 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*.

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

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

Загалом, встановлені нами зміни транскрипційної активності генів нейротрофінів, їх рецепторів, а також низки інших генів можуть бути обумовлені геномними ефектами тиреоїдних гормонів (рисунок 2).

Рисунок 2 – Вплив тиреоїдних гормонів на експресію генів ключових нейротрофінів і їх рецепторів

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 (рис.2).

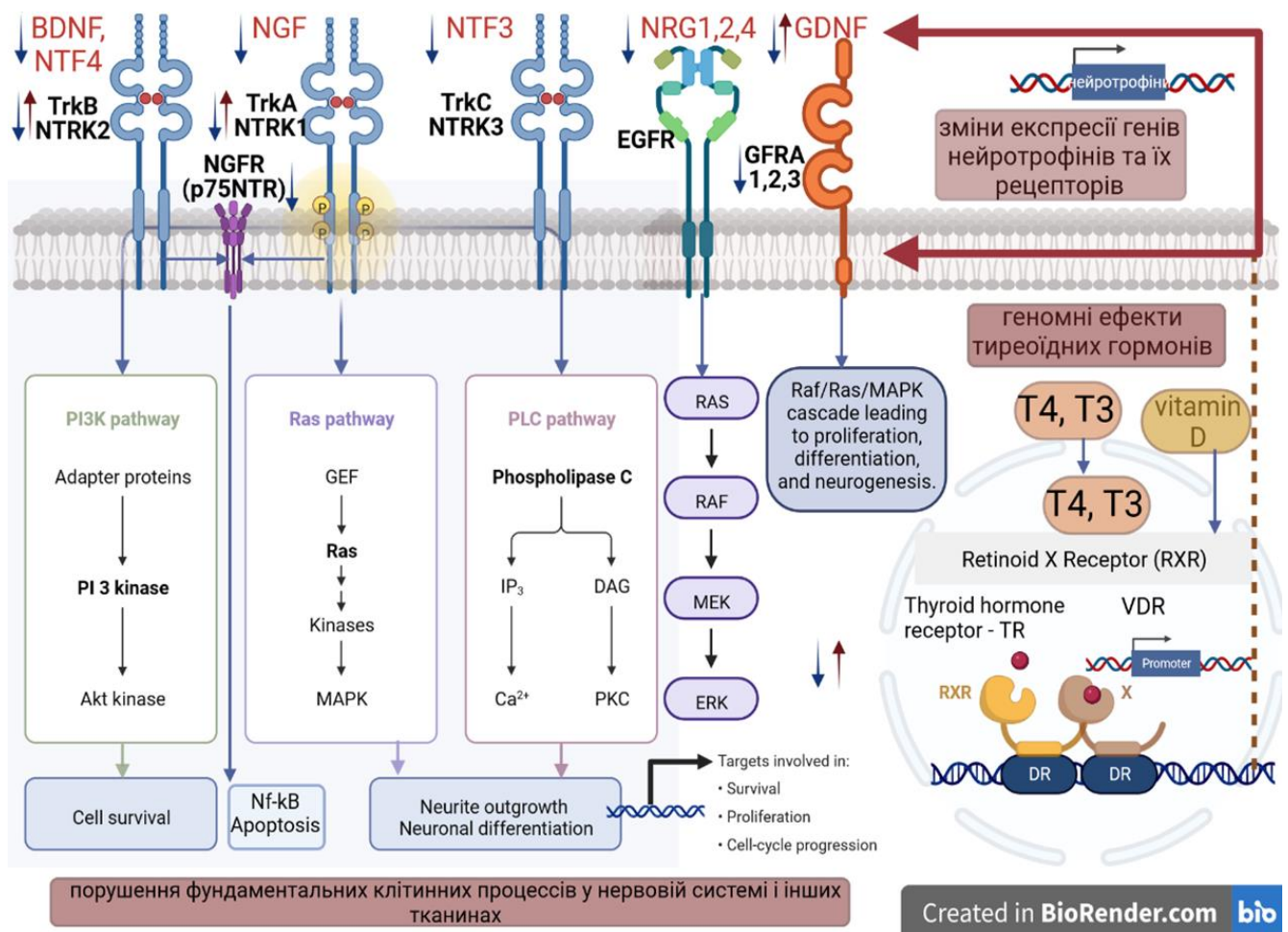


Рисунок 2 – Вплив тиреоїдних гормонів на експресію генів ключових нейротрофінів і їх рецепторів

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. Встановлено, що 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.

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 ($p < 0,001$).

Аналіз кореляції між тривогою і рівнями ТТГ, вТ4, АТТГ і АТПО, 25(ОН)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(ОН)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 ($r = 0,201$; $p = 0,01$).

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(ОН)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(ОН)D на рівень «тривоги» із коефіцієнтами детермінації $R^2 = 84,7$ %, кореляції $r_{xy} = 0,9$ ($p < 0,001$):

$$Y_{\text{тривога}} = 18,132 - 0,005 \times X_{\text{BDNF}} + 0,269 \times X_{\text{GRIN2B}} - 0,764 \times X_{\text{fT4}} + 0,104 \times X_{\text{АТТГ}} - 0,116 \times X_{\text{25(ОН)D}}.$$

Тривога виявлена в 32,5 % ($p < 0,001$) хворих з дефіцитом 25(ОН)D та в 23,7 % хворих із субоптимальним рівнем 25(ОН)D ($p < 0,001$). Засвідчені тривожні розлади за шкалою Гамільтона у 66,2 % ($p < 0,001$) хворих з дефіцитом 25(ОН)D та в 69,7 % хворих із субоптимальним рівнем 25(ОН)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*. Шанси тривоги були в 6,086 раза більші в групі зі зниженим рівнем 25(ОН)D, порівняно з нормальним рівнем, відносна різниця в шансах була статистично значущою [95 % ДІ: 1,602 – 23,119].

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 ($p<0,001$). Шанси тривоги були в 23,73 раза більші в групі з наявністю АІТ, порівняно з відсутністю АІТ, відносна різниця в шансах була статистично значущою (95 % ДІ: 8,914 – 63,175).

Згідно з даними, отриманими при порівнянні депресії за шкалою Гамільтона, були виявлені статистично значущі відмінності залежно від поліморфізму генів *BDNF* (rs6265). 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* ($p<0,001$).

Порівнюючи депресію за шкалою Гамільтона залежно від поліморфізму гена *VDR* (rs2228570), поліморфізму гена *NMDA* (rs4880213), статистично значущих відмінностей не було виявлено ($p>0,05$).

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 %, $\chi^2=37,93$; $p<0,001$).

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 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.

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.

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; $p < 0,001$).

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 ($r = 0,228$; $p = 0,043$).

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.

Легкий депресивний розлад виявлений у 32,5 % ($p < 0,001$) хворих із 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.

У хворих на патологію ЦЗ 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; $p=0,025$].

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).

Згідно з даними, отриманими при порівнянні когнітивних порушень за шкалою MMSE, 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 % ($p<0,001$).

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).

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.

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.

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 рази (95 % ДІ: 3,447-15,294; $p < 0,001$).

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; $p = 0,01$).

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 ($r = -0,166$; $p = 0,035$).

У моделі множинної логістичної лінійної регресії підтверджується додатково прогностичний вплив сироваткових концентрацій *BDNF*, ТТГ і АТТГ на появу когнітивної дисфункції у хворих на патологію ЦЗ із коефіцієнтом детермінації Найджелкерка $R^2 = 77,1$ % ($p < 0,001$):

$$Y_{\text{MMSE}} = 28,507 + 0,002 \times X_{\text{BDNF}} - 0,269 \times X_{\text{ТТГ}} - 0,076 \times X_{\text{АТТГ}}.$$

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.

При дослідженні впливу холекальциферолу на гуморальні маркери нейротрансмісії, гормональну активність щитоподібної залози, когнітивні функції, депресію та тривожність у хворих на АІТ із гіпотиреозом було виявлено 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 ($p=0,045$).

Аналіз експресії генів показав, що в пацієнтів з первинним гіпотиреозом внаслідок АІТ експресія генів *BDNF*, *FAS*, *FGF2*, *HSPB1*, *IL10*, *NGF*, *NGFR*, *NRG1*, *NTF3*, *NTF4*, *TGFBI* і *TP53* підвищилась після лікування холекальциферолом і L-тироксином. 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.

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 зросла з 28,6 до 78,6 % у першій групі та з 21,4 до 50 % у хворих 2 групи.

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 ($p=0,003$). 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 % ($p<0,001$).

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 вагоме прикладне значення зазначеного дослідження.

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 раза 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 раза, вТ4 – у 2,6 і 2,2 раза ($p < 0,001$), зростанням та різноспрямованими змінами концентрації GRIN2B: зменшенням у хворих на післяопераційний гіпотиреоз у 3,45 раза ($p < 0,001$) і зростанням у пацієнтів із автоімунним тиреоїдитом на тлі гіпотиреозу – у 1,58 раза ($p < 0,001$). Установлено зниження вмісту 25(OH)D – у 1,8-2,03 раза ($p < 0,001$).

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 раза ($p \leq 0,037-0,001$), у групі контролю – у 1,38-2,07 раза ($p \leq 0,044-0,001$). 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 раза 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 раза ($p \leq 0,006-0,001$) і власників *A*-алеля гена *VDR* (rs2228570) – у 2,61-3,92 раза ($p < 0,001$). 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 А-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 Т-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 СС-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 автоімунного тиреоїдиту (95 % ДІ: 8,914-63,175; $p<0,001$).

7. Депресивні розлади вірогідно частіше розвиваються у носіїв Т-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 Т-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 автоімунного тиреоїдиту. ROC-аналіз підтвердив в якості прогностичних предикторів появи депресивних порушень такі серологічні маркери, як *BDNF*, ТТГ, вільний Т4, АТПО та 25(ОН)D ($p<0,001$). 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 автоімунного 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(ОН)D – у 161 раз ($p<0,001$), а за зниження сироваткової концентрації *BDNF* – у 3,29 рази ($p=0,025$) відповідно.

8. Когнітивні порушення у хворих на тиреоїдну патологію асоціюють із SNP поліморфізмом гена *BDNF* (rs6265): у носіїв Т-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 СС-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 Т-алеля гена *BDNF* (rs6265), на 5,60-19,23 % ($p<0,05$). Ризик когнітивних порушень за гіпотиреозу зростає у 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 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(ОН)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 Т-алеля гена *BDNF* (rs6265) – у 6,32 рази ($p=0,006$), 24,9 і 21,73 рази ($p<0,05$) відповідно.

9. Комплексне лікування хворих на автоімунний тиреоїдит з гіпотиреозом сприяло зниженню ТТГ у 1,78 і 1,82 рази ($p<0,05$), зростанню та нормалізації рівня вільного Т4 ($p<0,05$) і елевації *BDNF* – у 7,4 і 2,1 рази ($p\leq 0,045-0,001$), 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 ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ 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, Sydorchuk 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 ІІ, 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 ІІ. Клінічні особливості полінейропатії у хворих на первинний гіпотиреоз. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018;14(4):409-410.

28. 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.

29. Bilous II, 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 3rd 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, р. 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.