

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В РАЗВИТИИ ДИФФУЗНОГО ЭУТИРЕОИДНОГО ЗОБА

Н.В. Галкина, Е.А. Трошина, Н.В. Мазурина

ФГУ “Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий” (директор академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

Представлены результаты изучения ассоциации полиморфных маркеров генов *TSHR* (rs 3783949, замена – A/C), *NIS* (rs 7250346, замена – C/G), *DUOX1* (rs2467825, замена – A/G), *DUOX2* (rs7171366, замена – G/T), *TPO* (rs 17091737, замена – G/T) с развитием диффузного эутиреоидного зоба. Для анализа ассоциации сравнивались между собой частоты аллелей и генотипов в двух группах, подобранных соответственно по полу и возрасту: ДЭЗ (n = 100) и контрольной (n = 100). Повышенный риск развития ДЭЗ имели носители следующих генотипов: GG и CG гена *NIS*: OR = 2,07 (95% CI = 1,18–3,64); AG и AA гена *DUOX1*: OR = 1,92 (95% CI = 1,08–3,39); TT гена *TPO*: OR = 2,09 (95% CI = 1,19–3,7). Пониженный риск развития ДЭЗ выявлен у носителей генотипов: CC гена *NIS*: OR = 0,48 (95% CI = 0,27–0,85); GG гена *DUOX1*: OR = 0,52 (95% CI = 0,29–0,92); GG и TG гена *TPO*: OR = 0,48; (95% CI = 0,27–0,83). Различия частот аллелей и генотипов генов *DUOX2* и *TSHR* в сравниваемых группах были выражены слабо и не достигали статистической значимости. Полиморфные маркеры генов *NIS*, *DUOX1*, *TPO* ассоциированы с развитием ДЭЗ среди популяции г. Москвы.

The Genetic Predisposition for Diffuse Euthyroid Goiter Development in Moscow Population

N.V. Galkina, E.A. Troshina, N.V. Mazurina

Federal Endocrinological Research Center, Moscow

The aim of the study was to investigate the linkage of diffuse euthyroid goiter (DEG) in Moscow population to polymorphisms of *TSHR* (rs 3783949, alleles - A/C), *NIS* (rs 7250346, alleles - C/G), *DUOX1* (rs2467825, alleles - A/G), *DUOX2* (rs7171366, alleles - G/T), *TPO* (rs17091737, alleles - G/T). To approach the problem, the prevalence of these polymorphisms was estimated in two age- and sex-matched groups: in DEG patients (n = 100) and in the control group (n = 100). High risk DEG formation was found in patients with the following genotypes: GG and CG of *NIS*, OR = 2.07 (95% CI 1.18–3.64); AG and AA of *DUOX1*, OR = 1.92 (95% CI 1.08–3.39); TT of *TPO*, OR = 2.09 (95% CI 1.19–3.7). Low risk DEG formation was found in patients with the following genotypes: CC of *NIS*, OR = 0.48 (95% CI 0.27–0.85); GG of *DUOX1*, OR = 0.52 (95% CI 0.29–0.92); GG and TG of *TPO*, OR = 0.48 (95% CI 0.27–0.83). No significant difference between genotypes prevalence of *DUOX2* and *TSHR* in two comparable groups was observed. Our results provide the first confirmation of linkage of diffuse euthyroid goiter to polymorphisms of *NIS*, *DUOX1* and *TPO* in Moscow population.

Диффузный эутиреоидный зоб (ДЭЗ) – первая стадия формирования йододефицитных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). В подавляющем большинстве случаев причиной ДЭЗ является недостаточное поступление в организм йода. Однако ряд закономерностей позволяет предположить и влияние генетических факторов на его формирование [1]. Так, в одном и том же регионе при одинаковом йодном обеспечении зоб определяется не у всего населения, а лишь у части. Важность генетических факторов подтверждена многими популяционными, се-

мейными и близнецовыми исследованиями [2]. Кроме того, непосредственной причиной ДЭЗ, например, как варианта спорадического зоба могут быть мутации таких генов, как *TPO*, *NIS*, *TG*, *TSHR* [3, 4]. В настоящее время основным подходом в изучении генетической предрасположенности к определенной патологии является методика использования полиморфных маркеров, сцепленных с различными генами-кандидатами. Сущность подхода заключается в проверке гипотезы: связано ли наличие маркера с развитием и/или быстрым прогрессированием за-

Таблица 1. Характеристика параметров в группах ДЭЗ и контрольной

Параметр	ДЭЗ (n = 100)	контрольная (n = 100)	p
Пол:			
мужчины	10% (n = 10)	12% (n = 12)	0,82 ($\chi^2 = 0,05$)
женщины	90% (n = 90)	88% (n = 88)	
Возраст, лет	32,3 ± 10,4	34,3 ± 8,2	0,97

болевания [5]. На сегодняшний день отсутствуют данные об ассоциации полиморфных маркеров генов-кандидатов тиреоидной патологии с йододефицитным зобом на популяционном уровне. Проведенное нами исследование должно было дать ответ на вопрос, существуют ли в московской популяции предрасполагающие или защитные генетические факторы (маркеры) для данной патологии и можно ли с их помощью прогнозировать развитие болезни. Поскольку в патогенезе ДЭЗ важную роль играют ферментативные системы, обеспечивающие поступление йода в щитовидную железу и его внутриклеточные реакции, наибольший интерес представляет поиск генетических маркеров в генах, кодирующих основные компоненты этих систем: натрий-йодидного симпортера – *NIS*, тиреоидной пероксидазы – *TPO*, системы генерации перекиси водорода – *DUOX1*, *DUOX2*, ТТГ-рецептора – *TSHR*.

Целью исследования: изучение зависимости между распределением аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *TSHR* (rs 3783949, замена – А/С), *NIS* (rs 7250346, замена – С/Г), *DUOX1* (rs 2467825, замена – А/Г), *DUOX2* (rs 7171366, замена – Г/Т), *TPO* (rs 17091737, замена – Г/Т) и развитием диффузного эутиреоидного зоба у взрослых в условиях легкого йодного дефицита.

Материал и методы

В ходе работы необходимо было выполнить сравнительное одномоментное исследование по изучению распределения аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *TSHR* (rs 3783949, замена – А/С), *NIS* (rs 7250346, замена – С/Г), *DUOX1* (rs 2467825, замена – А/Г), *DUOX2* (rs 7171366, замена – Г/Т), *TPO* (rs 17091737, замена – Г/Т) у больных ДЭЗ и в контрольной группе. Сравнивались между собой частоты аллелей и генотипов изучаемых полиморфных маркеров в 2 группах, подобранных соответственно по полу и возрасту: ДЭЗ (n = 100) и контрольной (n = 100). При статистической значимости различий частот проводился расчет рисков (отношение шансов – OR) с 95%-ным доверительным интервалом (95%-ный CI). OR = 1 рассматривали как отсутствие ассоциации, OR > 1 – как положительную ассоциацию (повышенный риск развития ДЭЗ), OR < 1 – как отрицательную ассоциацию (понижен-

ный риск развития ДЭЗ). Группа больных с ДЭЗ была сформирована согласно следующим критериям:

- 1) увеличение объема ЩЖ по данным пальпации (критерии ВОЗ, 2001) и данным УЗИ (более 18 мл у женщин и более 25 мл у мужчин);
- 2) отсутствие узловых образований и гипоехогенности структуры ЩЖ по данным УЗИ;
- 3) антитела к ТПО не определяются;
- 4) уровень ТТГ в пределах нормальных значений;
- 5) отсутствие беременности;
- 6) отсутствие в анамнезе данных о патологии ЩЖ и/или о получении препаратов йода, лития, а также тиреоидных гормонов, оральных контрацептивов в течение последних 6 мес.

Контрольную группу составили люди, отобранные случайным образом из травматологических отделений московских больниц. Сравнительная характеристика групп ДЭЗ и контрольной представлена в табл. 1.

Ультразвуковое исследование щитовидной железы проводилось в отделении функциональной диагностики ФГУ “ЭНЦ Росмедтехнологий” с использованием ультразвукового сканера Hewlett Packard Image Point НХ датчиком с переменной частотой 10 МГц, с полем зрения 3,5 см.

Определение уровня ТТГ в сыворотке крови выполняли методом усиленной хемилюминесценции с использованием автоматического анализатора Architect (Abbott). Границы нормы для базального уровня ТТГ – 0,25–3,50 мЕд/л.

Определение уровня АТ-ТПО проводили методом иммуноферментного анализа на диагностических наборах “Тиреоид ИФА-антитела ТПО” (“Алкор-Био”). Границы нормы для базального уровня АТ-ТПО 0 – 40 Ед/л.

Генетические методы исследования

rs 3783949 (замена – А/С гена *TSHR*), rs 7250346 (замена – С/Г гена *NIS*), rs 2467825 (замена – А/Г гена *DUOX1*), rs 7171366 (замена – Г/Т гена *DUOX2*), rs 17091737, (замена – Г/Т гена *TPO*) представляют собой нумерацию нуклеотидов согласно базе данных SNP (Database of Single Nucleotide Polymorphisms, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), где содержится подробная информация о каждом нуклеотиде. Для

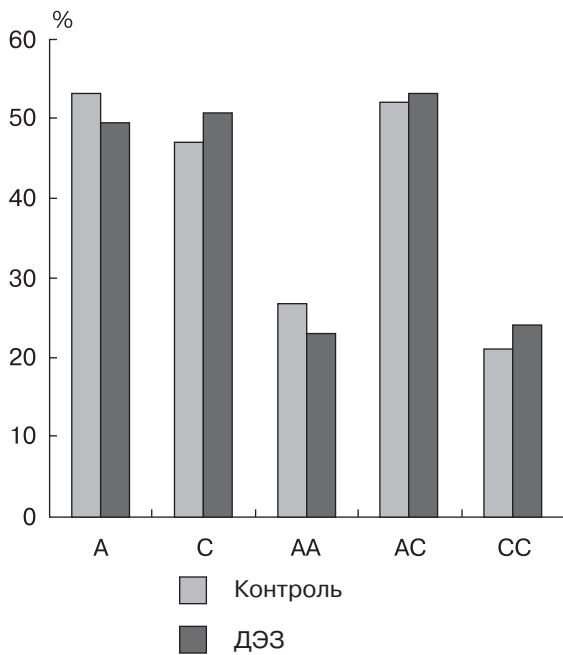


Рис. 1. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 3783949, замена – А/С гена *TSHR* в группах контрольной и ДЭЗ.

типирования полиморфных вариантов изучаемых генов-кандидатов были использованы препараты ДНК лейкоцитов, полученных из 5 мл венозной крови больных. Анализ полиморфизма проводился методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в лаборатории молекулярной генетики наследственных заболеваний Института молекулярной генетики РАН (директор профессор С.В. Костров).

Описание метода. Геномную ДНК выделяли методом фенолхлороформной экстракции после инкубации образцов протеинкиназой К в 0,1%-ном растворе додецилсульфата натрия. ПЦР проводили на амплификаторе фирмы “ДНК-технология” (Россия) в пробирках Eppendorf по 0,5 мл. Смесь для амплификации объемом 20 мкл содержала 2 мкл 10 × ПЦР-буфера (500 мМ трис-НСl, рН 8,8; 150 мМ (NH₄)₂SO₄; 50 мМ MgCl₂; 2 мг/мл BSA; 0,1% tween; 0,1% желатин); 1мМ каждого dNTP (dATP, dCTP,

Таблица 2. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 3783949, замена - А/С гена *TSHR* в контрольной и ДЭЗ группах

Генетический маркер	контрольная	ДЭЗ	χ^2	p
Аллель А	0,530	0,495	0,49	0,4838
Аллель С	0,470	0,505	0,49	0,4838
Генотип AA	0,270	0,230	0,43	0,5136
Генотип AC	0,520	0,530	0,02	0,8874
Генотип CC	0,210	0,240	0,26	0,6115

dGTP, dTTP); 5–10 пМ каждого праймера, количество которых варьировало в зависимости от исследуемого локуса; 0,25 ед. термостабильной ДНК-полимеразы (*Taq*-полимераза, фирма “Силекс”, г. Москва); 0,1–0,2 мкг геномной ДНК и деионизированной воды до 20 мкл. Для анализа фрагментов ДНК, получаемых в ходе ПЦР, проводили вертикальный электрофорез в 6% ПААГ, 0,5 × ТВЕ. Для выявления сайта рестрикции проводили рестрикционный анализ, включающий амплификацию исследуемого локуса, инкубацию реакционной смеси в течение ночи при соответствующей температуре и электрофорез. По окончании электрофореза гель выдерживали 5 мин в растворе бромистого этидия. Анализ геля проводили под ультрафиолетовым светом.

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета прикладных программ *statistica* (StatSoft Inc., версия 6.0, США.), *MEDCALC*, программного обеспечения *MS Excel 2000* (Microsoft). Оценку вида распределения выполняли с использованием теста Колмогорова – Смирнова. Для сравнения относительных частот признаков в независимых выборках применялся тест χ^2 . Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Расчет отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом выполнен с использованием программы *MEDCALC*:

$$OR = a \times d / b \times c,$$

где *a* – частота наличия исследуемого генотипа в группе ДЭЗ; *b* – частота наличия исследуемого генотипа в контрольной группе; *c* и *d* – частота отсутствия исследуемого генотипа в ДЭЗ и контрольной группе соответственно.

OR = 1 рассматривали как отсутствие ассоциации.

OR > 1 свидетельствовало о наличие предрасположенности к развитию патологии (фактор риска), OR < 1 – о предохраняющем действии генетического маркера к развитию патологии (защитный фактор).

Результаты

1. *TSHR* (rs 3783949)

Различия частот аллелей и генотипов полиморфного маркера А/С гена *TSHR* в сравниваемых группах были выражены слабо и не достигали статистической значимости (табл. 2, рис. 1).

2. *NIS* (rs 7250346)

При сравнении 2 групп между собой выявлено достоверное увеличение доли аллеля G в 1,5 раза у лиц с ДЭЗ (33,5%) по сравнению с контрольной группой (22,5%), ведущее к увеличению как гомози-

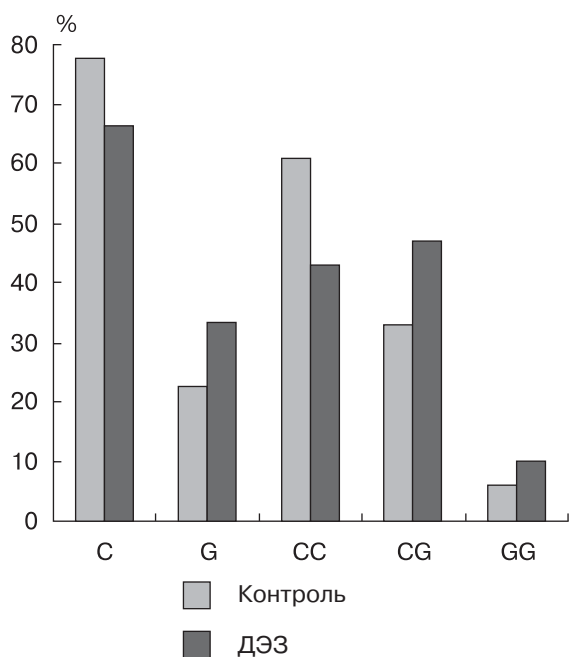


Рис. 2. Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 7250346, замена – С/Г гена NIS в группах контрольной и ДЭЗ.

готного его носительства – генотипа GG, так и гетерозиготного – генотипа CG. Так, доля генотипа GG в группе ДЭЗ составила 10%, а в контрольной – только 6% (различия отсутствуют), доля генотипа CG – 47 и 33% соответственно (различия статистически значимы). Доля же аллеля С и генотипа CC в группе ДЭЗ (66,5 и 43% соответственно), напротив, достоверно ниже, чем в контрольной группе (77,5 и 61% соответственно). Данные представлены в табл. 3. Таким образом, основные различия между группами заключаются в уменьшении доли аллеля С и генотипа CC на фоне увеличения аллеля G и гетерозиготного генотипа CG в группе ДЭЗ (рис. 2), что послужило основанием объединения долей генотипов CG и GG для сравнения с долей генотипа CC в обеих группах с целью расчета отношения шансов. Итак, на основании полученных данных можно сделать заключение о том, что носители генотипов GG и CG имеют повышенный риск развития ДЭЗ ($OR = 2,07$; 95%-ный CI = 1,18–3,64), а также о том, что носители генотипа CC имеют пониженный риск развития ДЭЗ ($OR = 0,48$; 95%-ный CI = 0,27–0,85).

3. DUOX1 (rs 2467825)

При сравнительном анализе частот генотипов выявлено в группе ДЭЗ достоверное увеличение носителей AG-генотипа (64%), в контрольной – максимальное накопление носителей GG генотипа (49%). В распределении аллелей наблюдается тенденция к увеличе-

Таблица 3. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 7250346, замена – С/Г гена NIS в группах контрольной и ДЭЗ

Генетический маркер	контрольная	ДЭЗ	χ^2	p
Аллель С	0,775	0,665	6,00	0,0143
Аллель G	0,225	0,335	6,00	0,0143
Генотип CC	0,610	0,430	6,49	0,0109
Генотип CG	0,330	0,470	4,08	0,0433
Генотип GG	0,060	0,100	1,09	0,2972

Таблица 4. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 2467825, замена – А/Г гена DUOX1 в группах контрольной и ДЭЗ

Генетический маркер	контрольная	ДЭЗ	χ^2	p
Аллель А	0,305	0,340	0,56	0,4540
Аллель G	0,695	0,660	0,56	0,4540
Генотип AA	0,100	0,020	5,67	0,0172
Генотип AG	0,410	0,640	10,61	0,0011
Генотип GG	0,490	0,340	4,63	0,0314

нию содержания аллеля А в группе ДЭЗ (34%) относительно контрольной группы (30,5%) на фоне уменьшения содержания аллеля G в группе ДЭЗ (66%) относительно контрольной группы (69,6%) (табл. 4, рис. 3). Данное распределение аллелей и генотипов выявили, применив способ объединения генотипов для расчета шансов: AA + AG против GG. На основании полученных данных можно сделать вывод: носители генотипа GG имеют пониженный риск развития ДЭЗ ($OR = 0,52$; 95%-ный CI = 0,29–0,92), а носители генотипа AG и AA – повышенный риск ($OR = 1,92$; 95%-ный CI = 1,08–3,39).

4. DUOX2 (rs 7171366)

Различия в распределении аллелей и генотипов полиморфного маркера T/G гена DUOX2 отсутствовали (табл. 5, рис. 4).

5. TPO (rs 17091737)

При сравнительном анализе частот выявлены изменения в виде накопления аллелей Т и генотипов ТТ на фоне уменьшения содержания аллелей G и генотипов GG в группе лиц с ДЭЗ относительно контрольной группы (рис. 5). Так, в группе ДЭЗ относительно контрольной доля аллеля Т увеличилась в 1,7 раза (73 против 59,5%), а генотипа ТТ – в 1,5 раза (53 против 35%). Доля аллеля G, наоборот, уменьшилась в 1,5 раза (27 против 40,5%), а генотипа GG – в 2,3 раза (7 против 16%). Различия статистически

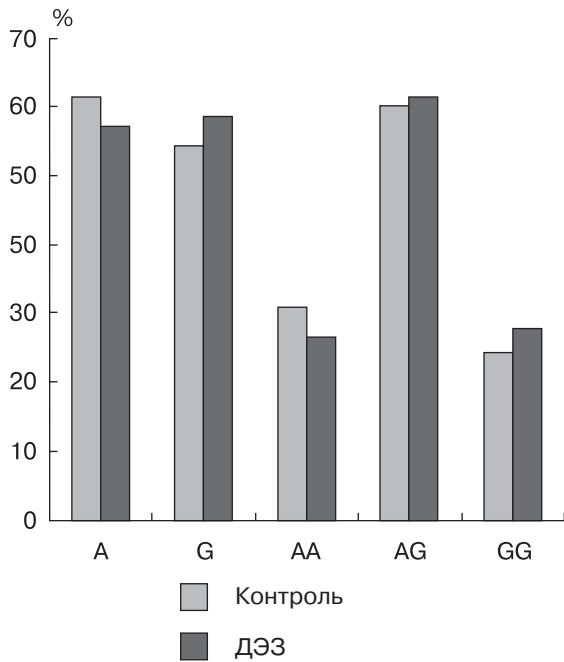


Рис. 3. Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 2467825, замена – А/С гена *DUOX1* в группах контрольной и ДЭЗ.

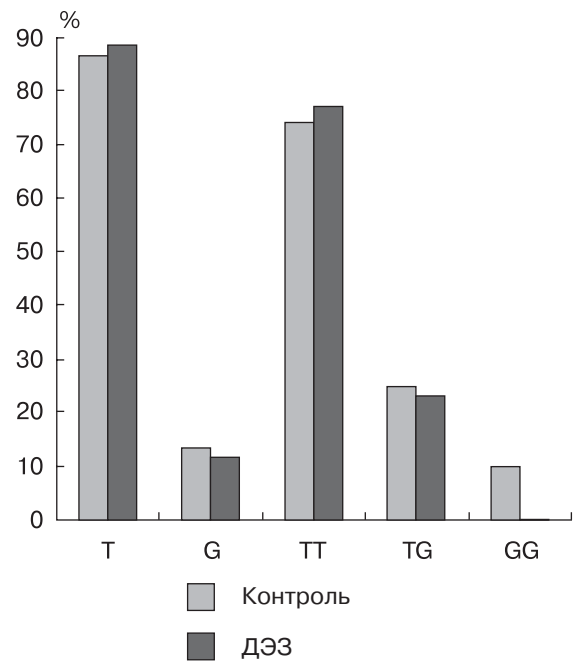


Рис. 4. Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера rs7171366, замена – G/Т гена *DUOX2* в группах контрольной и ДЭЗ.

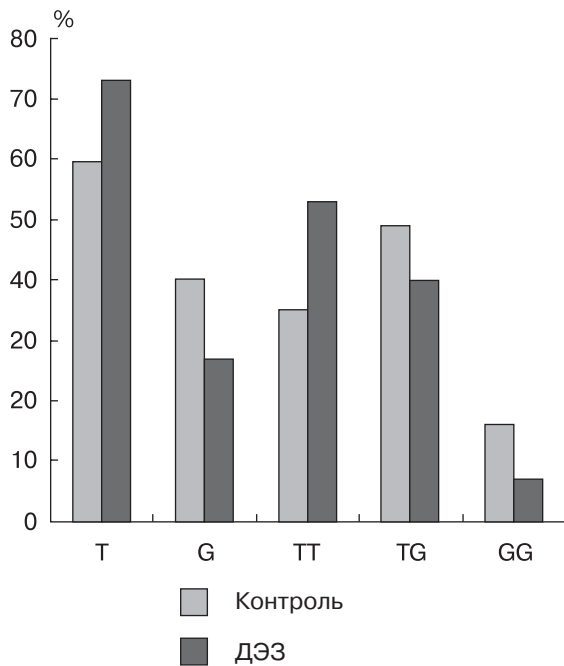


Рис. 5. Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 17091737, замена – G/Т гена *TPO* в группах контрольной и ДЭЗ.

Таблица 5. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 7171366, замена - G/Т гена *DUOX2* в группах контрольной и ДЭЗ

Генетический маркер	контрольная	ДЭЗ	χ^2	p
Алель Т	0,865	0,885	0,37	0,5454
Алель G	0,135	0,115	0,37	0,5454
Генотип TT	0,740	0,770	0,24	0,6219
Генотип TG	0,250	0,23	0,11	0,7405
Генотип GG	0,100	0	1,01	0,3161

Таблица 6. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера rs 17091737, замена – G/Т гена *TPO* в контрольной и ДЭЗ группах

Генетический маркер	контрольная	ДЭЗ	χ^2	p
Алель Т	0,595	0,730	8,15	0,0043
Алель G	0,405	0,270	8,15	0,0043
Генотип TT	0,350	0,530	6,57	0,0103
Генотип TG	0,490	0,400	1,64	0,2004
Генотип GG	0,160	0,070	3,98	0,0461

значимы. Частота носителей гетерозиготного генотипа TG в группе с ДЭЗ (40%) ниже, чем в контрольной группе (49%), но различия статистически незначимы (табл. 6).

Для расчета отношения шансов сравнивались доли генотипа TT с объединенными долями генотипов TG и GG, а шансов — доли генотипа TT с объединенными долями генотипов TG и GG. Основанием для такого объединения послужило наличие обратной зависимости между содержанием аллеля T, генотипа TT относительно аллеля G, генотипов TG и GG в сравниваемых группах. Резюмируя данные, можно сделать вывод: гомозиготное носительство аллеля T — генотипа TT, способствует развитию ДЭЗ (OR = 2,09; 95%-ный CI = 1,19–3,70), носительство генотипов GG и TG препятствует развитию изучаемой патологии (OR = 0,48; 95%-ный CI = 0,27–0,83).

Обсуждение

Возможность влияние генетических факторов на развитие йододефицитного эндемического зоба подтверждена многими популяционными и близнецовыми исследованиями. Для монозиготных близнецов процент конкордантности по зобу всегда оказывался выше, чем для дизиготных [6, 7]. Семейные исследования показали, что коэффициент наследования зоба значительно выше у потомков, где оба родителя имеют зоб [8]. При рассмотрении закономерностей развития зоба в популяции с нормальным потреблением йода было выявлено, что у 41% обследуемых имеются семейные формы зоба [9].

О.В. Николаев говорил о том, что наследование йододефицитного зоба необходимо изучать с учетом социально-бытовых, санитарных и других факторов. Действительно, исследование, проведенное в одном из районов Меруга, выявило достоверные различия в распространенности зоба среди 2611 детей в зависимости не только от пола и возраста, но и от типа жилого здания, рода занятий родителей, принадлежности к религии и определенной касте [10]. Другими авторами была показана зависимость между уровнем образования, физической активностью, потреблением алкоголя и увеличенным объемом ЩЖ [11]. По их мнению, данные факторы реализуют свое действие опосредовано, влияя на уровень потребления йодированной соли и курения сигарет. Также в литературе широко обсуждается роль генов-кандидатов. Были выявлены мутации в генах *NIS*, *TG*, *TPO*, *TSHR*, приводящие к развитию ДЭЗ. Еще в 1977 г. Perez-Cuvit E. et al. сообщили о 2 близнецах с эутиреоидным зобом. Их родители были гетерозиготными носителями 2 различных незначимых мутаций гена ТПО, при объединении которых у детей возникла мутация с нарушением функции соответ-

ствующего белка (компаунд-гетерозиготный тип наследования) [12]. Corral J. и соавт. (1993) проводили генетическое обследование 56 человек, у которых в семьях встречался ДЭЗ. При этом у 25 из них была выявлена замена G на T в 2610-м кодоне 10-го экзона гена *TG*, приводящая к замене гистидина на глютамин в 870-й аминокислотной позиции [13].

A. Matsuda и S. Kosugi (1997) обнаружили точечную гомозиготную замену в 1060-м нуклеотиде (*ACA*→*CCA*) *NIS*, ставшую причиной замены треонина на пролин в 354-м кодоне и клинически проявляющуюся нарушением транспорта йодида в ЩЖ [3]. Nishinuma A. и соавт. при обследовании эутиреоидной женщины, дважды подвергавшейся тиреоидэктомии по поводу диффузного зоба, выявили замену тимина на цитозин в 3828-м нуклеотиде гена *TG*, в результате которой происходила замена цитозина на аргинин в 1263-м кодоне. Изучение родословной позволило установить аутосомно-рецессивный тип наследования данного генетического дефекта [14]. Gonzalez-Sarmiento R.И. соавт. (2001) обследовали 36 пациентов с ДЭЗ и у 1 из них обнаружили гетерозиготную делецию почти всего промотора и 11 первых экзонов гена *TG*. Эутиреоз поддерживался за счет повышения уровня ТТГ и компенсаторного образования зоба. До сих пор речь шла о герминативных, то есть врожденных мутациях, которые можно обнаружить в соответствующих генах любой клетки индивидуума. (Для генетического анализа, как правило, используют лейкоциты периферической крови.) Однако при диффузном зобе были обнаружены и соматические, то есть приобретенные мутации, которые в отличие от герминативных можно обнаружить лишь в тиреоцитах. По мнению некоторых исследователей, они возникают из-за хронической гиперстимуляции ЩЖ в условиях йодного дефицита на фоне пролиферативной полипотентности тиреоцитов и запаздывания репаративных процессов в генетическом аппарате клеток. Известно, что соматические конститутивные активирующие мутации *TSHR* — основная причина развития многоузлового токсического зоба. В результате происходит неконтролируемая активация рецептора (без взаимодействия с лигандом — ТТГ), приводящая к усиленной пролиферации и гиперфункции тиреоцитов. Несмотря на то что существует множество работ, подтверждающих наличие соматических активирующих мутаций *TSHR* в автономных узлах токсического зоба, аналогичные мутации были найдены и в областях с повышенным захватом радиоактивного йода еще на стадии диффузного эутиреоидного зоба. Это следующие генетические дефекты *TSHR*: A623I, L629P, F631L и T632I [4]. Впоследствии они становятся причиной формирования “горячих” узлов.

В настоящее время основным подходом в изучении генетической предрасположенности к определенной патологии является методика использования полиморфных маркеров, сцепленных с различными генами-кандидатами. Полиморфизм гена — эволюционно закрепленная многовариантность одного и того же гена (варианты гена — аллели). Иногда полиморфизм может проявляться в качественных или количественных свойствах своего белкового продукта: в структуре фермента, его специфичности, средстве к субстрату, активности, концентрации и т.д. Полиморфный генетический маркер — вариабельный участок ДНК, в различной степени сцепленный (ассоциированный) с каким-либо признаком. Полиморфный маркер может быть как анонимным, так и “адресным” (находиться вблизи или внутри конкретного гена). В большинстве случаев генетические полиморфные маркеры не являются собственно этиологическими вариантами, которые определяют предрасположенность к заболеванию, но часто они находятся в неравновесии по сцеплению с этими вариантами. Таким образом, по наличию ассоциации или сцеплению полиморфного маркера с патологией можно судить и об ассоциации или сцеплении соответствующего этиологического варианта конкретного гена. Что касается роли полиморфных маркеров генов — кандидатов в развитии ДЭЗ, то на сегодняшний день количество проводимых исследований невелико. Нам удалось обнаружить работу, в которой изучалась взаимосвязь между наследованием ДЭЗ на уровне одного семейства в разных поколениях и распределением полиморфных маркеров генов *TSHR*, *NIS*, *TPO*, *TG*, *MNG-1* у больных и здоровых лиц [15]. При помощи анализа сцепления было показано, что маркеры АТ и СТ гена *TSHR*, а также D14S1030 и D14S1054 гена *MNG-1* ассоциированы с развитием ДЭЗ. Сущность анализа сцепления состоит в сопоставлении наследования патологического признака (болезни) в родословной с наследованием различных полиморфных генетических маркеров с точно известной хромосомной локализацией. Если в семье все больные или их значительная часть в отличие от здоровых имеют один и тот же аллель исследуемого маркера, это свидетельствует об отсутствии рекомбинаций между конкретным геном и маркером, то есть о наличии сцепления между ними. В данном исследовании оценка наличия или отсутствия ассоциации полиморфных маркеров с изучаемой патологией проводилась на уровне лишь одного определенного семейства. На популяционном же уровне подобные исследования не проводились, что определило актуальность проведенной нами работы.

В ассоциативных исследованиях генетической предрасположенности на популяционном уровне

обычно используют методический подход “случай — контроль”, где группа “случай” состоит из лиц с четко выраженным фенотипом болезни, тогда как группа “контроль” — из лиц с не менее выраженным отсутствием такого фенотипа. Ассоциация фенотипа с генотипом (генетическим маркером) — это достоверно неодинаковое распределение частоты встречаемости маркера среди индивидуумов с различными фенотипами. Более высокая распространенность маркера среди лиц с определенной патологией по сравнению со здоровыми указывает на предрасположенность (повышенный риск), а более низкая — на устойчивость к заболеванию (пониженный риск). Изучение генетической предрасположенности к патологии на популяционном уровне с использованием полиморфных маркеров различных генов-кандидатов заключается в проверке предположения о том, что наличие маркера связано с ранним развитием и/или быстрым прогрессированием заболевания. Другими словами, это поиск ответа на вопрос, существуют ли вообще для данной патологии в данной популяции предрасполагающие или защитные генетические факторы (маркеры) и можно ли с их помощью прогнозировать развитие болезни. Результаты проведенного нами генетического исследования доказали, что для диффузного эутиреоидного зоба среди москвичей, проживающих в условиях легкого йодного дефицита, такие факторы (генетические полиморфные маркеры) существуют.

В нашем исследовании в группу “случай” вошли лица, имеющие ДЭЗ ($n = 100$), которые были отобраны в результате предварительного обследования 1520 жителей Москвы. Окончательный диагноз был установлен при клиническом обследовании. В группе “контроль” были представлены пациенты, соответствующие по полу и возрасту группе с наличием патологии из отделений травматологии московских больниц.

Повышенный риск развития ДЭЗ имели носители следующих генотипов: GG и CG гена *NI*: OR = 2,07 (95%-ный CI = 1,18–3,64); AG и AA гена *DUOX1*: OR = 1,92 (95%-ный CI = 1,08–3,39); TT гена *TPO*: OR = 2,09 (95%-ный CI = 1,19–3,70). Пониженный риск развития ДЭЗ был выявлен у носителей следующих генотипов: CC гена *NIS*: OR = 0,48 (95%-ный CI = 0,27–0,85); GG гена *DUOX1*: OR = 0,52 (95%-ный CI = 0,29–0,92); GG и TG гена *TPO*: OR = 0,48 (95%-ный CI = 0,27–0,83). Различия частот аллелей и генотипов генов *DUOX2* и *TSHR* в сравниваемых группах были выражены слабо и не достигали статистической значимости. Таким образом, полиморфные маркеры генов *NIS*, *DUOX1*, *TPO* ассоциированы с развитием ДЭЗ среди популяции г. Москвы.

Выводы

1. Развитие ДЭЗ у жителей г. Москвы (легкий йодный дефицит) ассоциировано с полиморфными маркерами генов *NIS* (rs 7250346, замена – С/С), *DUOX1* (rs2467825, замена – А/А), *TPO* (rs 17091737, замена – G/T)

2. Повышенный риск развития ДЭЗ имеют носители следующих генотипов: GG и CG гена *NIS*; AG и AA гена *DUOX1*; TT гена *TPO*.

3. Пониженный риск развития ДЭЗ выявлен у носителей генотипов: CC гена *NIS*; GG гена *DUOX1*; GG и TG гена *TPO*.

4. Полиморфные маркеры генов *TSHR* (rs 3783949, замена – А/С), *DUOX2* (rs 7171366, замена – G/T) не ассоциированы с развитием диффузного эутиреоидного зоба у лиц московской популяции.

Список литературы

1. *Фадеев В.В., Абрамова Н.А.* Генетические факторы в патогенезе эндемического зоба // Пробл. эндокринологии. 2002. № 2. С. 12–14.
2. *Brix T.H., Hegedus L.* Genetic and environmental factors in the aetiology of simple goiter // Ann. Med. 2000. V. 32. P. 153–156.
3. *Matsuda A., Kosugi S.* A homozygous missense mutation of the sodium/iodide symporter gene causing iodide transport defect // J. Clin. Endocr. Metab. 1997. V. 82. P. 3966–3971.
4. *Krohn K., Wohlgemuth S., Gerber H., Paschke R.* Hot microscopic areas of iodine-deficient euthyroid goitres contain constitutively activating TSH receptor mutations // J. Pathol. 2000. V. 192. P. 37–42.
5. *Шестакова М.В., Носиков В.В.* Стратегия поиска маркеров генетической предрасположенности к сосудистым осложнениям на примере диабетической нефропатии // Пробл. эндокринологии 1998. № 1. С. 12–14.
6. *Malamos B., Koutras D.A., Kostamis P. et al.* Endemic goitre in Greece: a study of 379 twin pairs // J. Med. Genet. 1967. V. 4 (1). P. 16–18.
7. *Hansen P.S., Brix T.H., Bennedbaek F.N.* Genetic and environmental causes of individual differences thyroid size: a study of healthy Danish twins // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004. V. 89. P. 2071?–20727.
8. *Malamos B., Koutras D.A., Kostamis P. et al.* Endemic goiter in Greece: epidemiologic and genetic studies // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1966. V. 26. P. 688–695.
9. *Heimann P.* Familial incidence of thyroid disease and anamnestic incidence of pubertal struma in 449 consecutive struma patients // Acta Medica Scandinavica. 1966. V. 179 (1). P. 113–119.
10. *Joshi D.C., Mishra V.N., Bhatnagar M.* Socioeconomic factors and prevalence of endemic goiter // Indian. J. Public. Health. 1993. V. 1(37). P. 48–53.
11. *Knudsen N., Bulow I., Laurberg P.* Low socio-economic status and familial occurrence of goitre are associated with a high prevalence of goitre // Eur. J. Epidemiol. 2003. V. 18. P. 175–181.
12. *Perez-Cuvit E., Crigler J.F.Jr., Stanbury J.B.* Partial and total iodide organification defect in different sibships in a kindred // Am. J. Hum. Genet. 1977. V. 29. P. 142–148.
13. *Corral J., Martin C., Perez R. et al.* Thyroglobulin gene point mutation associated with non-endemic simple goiter // Lancet. 1993. V. 341. P. 462–464.
14. *Hishinuma A., Kasai K., Masawa N.* Missense mutation (C1263R) in the thyroglobulin gene causes congenital goiter with mild hypothyroidism by impaired intracellular transport // Endocr. J. 1998. V. 45(3). P. 315–327.
15. *Neumann S., Willgerodt H., Ackermann F.F.* Linkage of Familial Euthyroid Goiter to the Multinodular Goiter-1 Locus and Exclusion of the Candidate Genes Thyroglobulin, Thyroperoxidase, and Na⁺/I⁻ // Symporter. J. Clin. Endocr. Metab. 1999. P. 84. P. 3750–3756.