

Некоммерческое акционерное общество «Медицинский университет Семей»

УДК 616.441-006.6-079.1

На правах рукописи

КРЫКПАЕВА АЙНУР СЕРИКОВНА

**Ранняя диагностика рака щитовидной железы
на молекулярно-генетическом уровне**

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научный руководитель
доктор медицинских наук,
профессор М.Ж. Еспенбетова

Научные консультанты
MD, PhD, профессор
М. Накашима,
MD, PhD, Ж.Б. Мусажанова

Республика Казахстан
Семей, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
ВВЕДЕНИЕ	7
1 РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1 Роль щитовидно-транскрипционных факторов FOXE1 и NKX2-1	15
1.2 Исследования проводимые ассоциацией исследования генома (Genome-Wide Association Studies- GWAS).....	17
1.3 Факторы риска восприимчивости к раку щитовидной железы.....	19
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	26
2.1 Объект исследования	27
2.2 Сравнение уровней аллелей в зависимости от генотипов полиморфизма генов.....	29
2.3 Характеристика методов исследования	29
2.3.1 Ультразвуковое исследование (УЗИ).....	30
2.3.2 Функциональное исследование функции щитовидной железы	30
2.3.3 Молекулярно-генетическое исследование	31
2.3.3.1 Выделение ДНК из образцов цельной крови.....	31
2.3.3.2 Генотипирование полиморфизмов rs 965513 гена FOXE1 и rs 944289 гена NKX2-1.....	32
2.3.4 Статистическая обработка данных.....	33
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	34
3.1 Эпидемиологическая оценка злокачественных опухолей щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области.....	34
3.2 Анализ генетических ассоциаций NKX2-1(rs944289) и FOXE1(rs 965513) у населения казахской популяции с папиллярным раком щитовидной железы ...	42
3.2.1 Клинико-лабораторные характеристики групп исследования	42
3.2.2 Анализ связи онкогенов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции.....	43
3.2.3 Частота встречаемости аллелей полиморфизма гена FOXE1 (rs965513) в казахской популяции	46
3.2.4 Частота встречаемости аллелей полиморфизма NKX2-1 (rs 944289) в казахской популяции	49
3.3 Алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований	56
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	59
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	65
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	66
ПРИЛОЖЕНИЕ А - Свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права «Ранняя диагностика рака щитовидной железы на	

молекулярно-генетическом уровне» № Гос. Регистрации № 2343 от 17 июля 2018 г.....	81
ПРИЛОЖЕНИЕ Б - Удостоверение на рационализаторское предложение «Способ определения специфического онкомаркера FOXE1 (rs965513)».....	82
ПРИЛОЖЕНИЕ В - Удостоверение на рационализаторское предложение «Анкета выявления состояния функции щитовидной железы».....	83
ПРИЛОЖЕНИЕ Г - Анкета выявления состояния функции щитовидной железы	84
ПРИЛОЖЕНИЕ Д - Форма информированного согласия пациента.....	85
ПРИЛОЖЕНИЕ Е –Акт внедрения	86

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:
ГОСТ 2.105-95 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ 7.1-2003 Библиографическая запись. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления

ГОСТ 7.32-2001 Отчет о научно-исследовательской работе (Структура и правила оформления).

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В данной диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Аллель – (от греч. *allelon* – друг друга, взаимно) одна из возможных форм одного и того же гена. Аллели расположены в одинаковых участках (локусах) гомологичных (парных) хромосом; определяют варианты развития одного и того же признака, контролируемого данным геном.

Выборка – это часть популяции, полученный путем отбора.

Генотип – (от ген и греч. *typos* — отпечаток), генетич. (наследственная) конституция организма, совокупность всех наследственных задатков данной клетки или организма, включая аллели генов.

Генетический полиморфизм - (*genetic polymorphism*, греч. *genetikos* — относящийся к рождению, происхождению; греч. *polys* — многих и *morphe* — вид, форма, образ) - разнообразие частот аллелей гомозигот, изменения в нуклеотидной последовательности ДНК маркера. Различия между аллелями одного и того же гена, как правило, заключаются в незначительных вариациях его «генетического» кода. Большую долю в генетический полиморфизм вносят замены одного нуклеотида на другой и изменения числа повторяющихся фрагментов ДНК, которые осуществляются во всех структурных элементах генома: экзонах, интронах, регуляторных участках и т. д.

Генетический маркер или молекулярно-генетические маркеры или ДНК-маркеры - полиморфный признак, выявляемый методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК, для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении различных генотипов, особей, пород, сортов, линий.

Лocus – (лат. *locus*) место локализации определенного гена на генетической карте хромосомы.

Мутация (лат. *mutatio* — изменение) — стойкое (то есть такое, которое может быть унаследовано потомками данной клетки или организма) изменение генотипа, происходящее под влиянием внешней или внутренней среды.

Однонуклеотидный полиморфизм или однонуклеотидные замены ОНП - SNP (от английского *Single Nucleotide Polymorphism*). SNP точечные нуклеотидные замены (мутации) являются наиболее распространенным типом полиморфных маркеров и представляют собой замену одного нуклеотида на другой.

Полиморфизм – существование двух и более генетически и морфологически различающихся групп в одной и той же популяции

Популяция – совокупность особей одного вида, обладающая общим генофондом.

Фактор риска – это обстоятельство (внешнее или внутреннее), отрицательно влияющее на здоровье человека и создающее благоприятную среду для возникновения и развития заболеваний

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

Ат ТПО – антитела к тиреоидпероксидазе
АТ-ТГ – антитела к тиреоглобулину
ВКО – Восточно-Казахстанская область
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ГУ – Государственное учреждение
ГМУ г Семей - Государственный медицинский университет г. Семей
ДИ – Доверительный интервал
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ЗН – злокачественные новообразования
ИФА – иммуноферментный анализ
МЕ – международная единица
ОШ – отношение шансов
ПБ – пункционная биопсия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РЩЖ – рак щитовидной железы
РК – Республика Казахстан
СИЯП – Семипалатинский испытательный ядерный полигон
ТТГ - тиреотропный гормон
Т4 - гормон щитовидной железы тироксин
Т3 – гормон щитовидной железы трийодтиронин
УЗИ – ультразвуковое исследование
ЩЖ – щитовидная железа
BRAF – ген который кодирует белок. B-Raf
FOXE1 – Forkhead box factor E1)
GWAS – (Genome-Wide Association Studies) - исследования проводимые ассоциацией исследования генома
М – отдаленные метастазы
N – метастазы в регионарных лимфатических узлах
NIS (natrium iodide symporter) – натрий-йод симпортер
NKX2-1 – NK2 homeobox 1
SPSS – Statistical Package for the Social Sciences
Т – распространение первичной опухоли
TNM – (tumor, nodus и metastasis) — международная классификация стадий злокачественных новообразований
TTF-1 (thyroid transcription factor-1) – тиреоидный фактор транскрипции-1
TTF-2 (thyroid transcription factor-2) – тиреоидный фактор транскрипции-2

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы: Проблема рака щитовидной железы (РЩЖ) занимает в современной онкологии особое место по нескольким причинам. Во-первых, отмечается тенденция его увеличения в связи с внедрением обязательной биопсии у всех больных с узлообразованием более 1 см, во-вторых наша территория является неблагоприятной в отношении радиационного фона и йодной обеспеченности.

Рост различных форм патологии щитовидной железы в Казахстане напрямую связан с воздействием природных, экологических факторов. По данным мировой литературы на долю РЩЖ приходится до 4% всех злокачественных опухолей, а как известно, смертность от онкологических заболеваний занимает второе место в мире. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) патология щитовидной железы встречается у 8 – 18% взрослого населения земного шара, а это примерно у 1,5 миллиарда человек [1, 2]. Самой часто встречаемой патологией щитовидной железы (ЩЖ) является узлообразование [3], которое считается как доклиническим собирательным понятием, включающий в себя ряд различных заболеваний щитовидной железы, сопровождающиеся образованием узлов это – доброкачественные узловые образования такие как узловые коллоидные, кисты щитовидной железы, «псевдоузлы» при гипертрофической форме аутоиммунного тиреоидита (АИТ), аденомы щитовидной железы и злокачественные опухоли щитовидной железы [4].

По данным ВОЗ среди эндокринных заболеваний патология щитовидной железы занимает второе место после сахарного диабета. В мире более 665 млн. человек имеют эндемический зоб или заболевают другими тиреоидными патологиями, 1,5 млрд. человек сталкиваются с риском развития йододефицитных заболеваний. При этом согласно мировой статистике прирост числа заболеваний щитовидной железы в мире составляет 5% в год. Злокачественные опухоли ЩЖ составляют 1-3% в структуре онкологических патологии [5].

Наиболее часто встречающимся гистологическим типом является папиллярный, на его долю приходится около 80% всех злокачественных опухолей ЩЖ, следующий фолликулярный (около 15%), реже - медуллярный (около 5%) и крайне редкий анапластический рак (до 0,2%) [6]. Каждый из четырех гистологических типов рака щитовидной железы имеет свои собственные характеристики течения, что требует мультидисциплинарного подхода к диагностике [7].

Учитывая растущую распространенность злокачественной патологии, молодого и трудоспособного возраста большинства пациентов, становится все более необходимым совершенствование методов и подходов к диагностике. Верификация карцином ЩЖ, особенно дифференцированных форм сложна, в связи с неоднородностью их гистологического строения и сложной дифференцировкой опухолевых клеток. Эксперты ВОЗ разрабатывают новые

подходы к диагностике РЩЖ, в которых рекомендуется использовать сочетание морфологического метода с молекулярно-биологическими и генетическими с определением биомолекулярных маркеров опухоли.

Изучение биомолекулярных маркеров и генетической нестабильности в ПРЩЖ имеет важное значение для определения ее злокачественного потенциала и выбора терапии.

Вышесказанное позволяет учесть частоту и характеристику клинического течения ПРЩЖ на ранних стадиях, обнаруживаемость мутации генов FOXE1 (rs 965513) и NKX2-1(rs 944289) в казахской популяции.

Цель работы: Выявить связь генетических онкомаркеров FOXE1 (rs 965513) и NKX2-1(rs 944289) у больных с папиллярным раком щитовидной железы среди казахской популяции, для использования в качестве дополнительных диагностических маркеров и выбора тактики персонализированного лечения.

Задачи:

1. Провести эпидемиологическую оценку злокачественных опухолей щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области и в целом по Казахстану.

2. Изучить частоту встречаемости полиморфизмов генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1(rs 965513) в исследуемых группах казахской популяции.

3. Проанализировать ассоциацию полиморфизмов генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1 (rs 965513) с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции.

4. Разработать алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований.

Научная новизна исследования

Впервые в Казахстане определена частота встречаемости аллелей и генотипов полиморфизмов генов FOXE1 и NKX2-1 у больных с папиллярным раком щитовидной железы и контрольной группы среди казахской популяции, проведенным исследованием установлена связь онкогенов, позволяющая прогнозировать предрасположенность к развитию ПРЩЖ у коренного этноса Казахстана.

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:

1. Показатели частоты РЩЖ по Восточно-Казахстанской области имеют тенденцию к увеличению. Средний возраст максимальной частоты выявления рака щитовидной железы составил 54 ± 10 лет, причем у женщин в 12 раз чаще, чем у мужчин.

2. Для дополнительной диагностики ПРЩЖ на молекулярно-генетическом уровне в качестве подтверждающего критерия служит носительство неблагоприятных аллелей полиморфизмов генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs 944289) А и Т соответственно.

3. Учитывая отсутствие значимых популяционных отличий по данным GWAS в генах FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289), они могут быть

использованы в качестве генетических предикторов ПРЦЖ в казахской популяции.

4. Алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований способен стать надежным вспомогательным методом прогнозирования ПРЦЖ в повседневной клинической практике.

Практическая значимость

Результаты проведенного исследования могут служить основой для определения предрасположенности к развитию папиллярного рака щитовидной железы так как полиморфизмы генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) являются наиболее значимыми генетическими предикторами рака ЩЖ. Полиморфизмы генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) можно использовать как дополнительные диагностические маркеры для определения персонализированной тактики послеоперационного лечения – радиойодтерапия.

Сведения о публикациях:

По исследуемой работе имеются 10 публикации, из них 1 статья в издании индексируемой в базе Scopus (журнал «Вестник РАМН» (Российской академии медицинских наук)), 4 в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК (2 статьи в журнале «Медицина» и 2 статьи в журнале «Наука и здравоохранение»). Результаты исследования были доложены на международных конференциях, с последующей публикацией тезиса в сборниках конференции в том числе 3 тезиса в материалах международных конференции в дальнем зарубежье «European Public Health Conference Health in Europe – from global to local policies, methods and practices» Милан-Италия 2015г., «Japan Endocrine Society Annual Meeting» Токио-Япония 2016г., The 12 th Asia and Oceania Thyroid Association Congress» Пусан-Корея 2017г., и 2 тезиса на конференциях республиканского уровня международного значения: XII Международная научно – практическая конференция «Экология. Радиация. Здоровье» посвященная академику Б. Атчабарову и 25-летию закрытия Семипалатинского испытательного ядерного полигона 2016 г. и Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Наука и здоровье», посвященная 75-летию Президента Ассоциации оториноларингологов Республики Казахстан, Академика НАН РК, доктора медицинских наук, профессора Толебаева Райса Кажкеновича Специальный выпуск «Наука и здравоохранение», Семей 2016.

Результаты нашей работы также были доложены на съезде Ассоциации эндокринологов ВКО г.Семей, май 2017г.

По данной работе было получено свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права «Ранняя диагностика рака щитовидной железы на молекулярно-генетическом уровне» № Гос. Регистрации № 2343 от 17 июля 2018г (Приложение А), два удостоверения на рационализаторские предложения (Приложения Б и В).

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проанализирована научная литература по теме диссертации, а также данные статистики региональных онкологических диспансер Восточно-Казахстанской области. Диссертантом лично проведена выделение ДНК и генотипирование, обобщены результаты, выполнено статистическое вычисление полученных данных. Все разделы диссертации цели, задачи и программы исследования, сбор и обработка материала, разработка основных положений диссертации, заключения, выводы и практические рекомендации сформулированы и написаны автором самостоятельно.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 86 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 3 разделов собственного исследования, заключения, включающие выводы и практические рекомендации, библиографического списка использованных источников, включающего 205 наименований отечественной, русскоязычной и англоязычной литературы, содержит 15 таблиц, 16 рисунков.

1 РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В современной онкотиреоидологии проблема рака щитовидной железы занимает особое место, доказательство этому ряд причин. Во-первых, отмечается тенденция его увеличения в связи с внедрением обязательной биопсии у всех больных с узлообразованием более 1 см, во-вторых наша территория является неблагоприятной в отношении радиационного фона и йодной обеспеченности.

РЩЖ является наиболее распространенной формой среди злокачественных опухолей эндокринной системы [8]. Папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) наиболее преобладающий гистологический тип рака, составляющий до 85% от всех злокачественных опухолей этого органа [9].

В связи с увеличением числа злокачественных форм среди трудоспособных и молодых граждан, не остаётся без внимания оптимизация диагностических мероприятий. Распознавание рака щитовидной железы не простая задача, так как его дифференцированные формы имеют разнотипную гистологию и сложную специфику опухолевой клетки. На данный момент в медицинской практике предлагается комбинирование молекулярно-биологического метода с морфологическим. Главную ценность для диагностики злокачественно процесса и методики терапии несет изучение генетической нестабильности и выявление биомолекулярных маркеров опухоли. Для совокупного и масштабного изучения РЩЖ эпидемиологами, клиницистами, генетиками создан международный консорциум для проведения масштабных исследований, в том числе и полногеномного анализа ассоциаций (Genome-wide Association Studies, GWAS), который в свою очередь представляет актуальный метод диагностики, ассоциированный с поиском связей между фенотипом и генотипом. На сегодняшний день во всем мире проводятся исследования, направленные на поиск генов, отвечающих за формирование предрасположенности к РЩЖ. С помощью GWAS выявлены ассоциации с предрасположенностью РЩЖ на хромосомах 8q12 (ген NRG1) [10], 9q22 (ген FOXE1) [11], 14q13 (NKX2-1) [12]. Эти работы имеют ключевое значение в представлении патогенеза и в выборе тактики лечения данного заболевания. Изложенное выше позволяет понять типы исследований частоты и характера клиники ПРЩЖ на ранних стадиях и предположить, что выявление полиморфизма гена FOXE1 (rs 965513) и NKX2-1(rs 944289) в казахской популяции может также стать важным диагностическим критерием.

Не стоит также забывать о том, что население Республики Казахстан имеет значительно своеобразный генофонд, формирование которого имеет длительную и сложную историю, что должно отражаться на структуре заболеваемости онкопатологиями, в том числе и РЩЖ.

Щитовидная железа (ЩЖ) — является железой внутренней секреции, в ее клетках — тироцитах вырабатываются гормоны, необходимые для

поддержания гомеостаза организма и контролирования обмена веществ и энергии, а так же процессы развития тканей и органов [13].

РЩЖ – злокачественная опухоль, которая развивается из эпителия щитовидной железы и является наиболее распространенной формой злокачественных новообразований эндокринной системы [5,с.80; 14]. По гистопатологическому строению, классифицируют РЩЖ как папиллярный, фолликулярный, медуллярный или анапластический [15] Наиболее часто встречающимся гистологическим типом является папиллярный на его долю приходится около 80% случаев, несколько реже распространен фолликулярный (около 15%), еще реже – медуллярный (около 5%) и крайне редко встречается анапластический рак (до 0,2%) [3,с. 1].

По данным ВОЗ заболевание РЩЖ растет, а так же во многих научных исследованиях в настоящее время часто встречаются утверждения о повышении частоты встречаемости РЩЖ по всему миру, это связано с улучшением диагностических возможностей выявляемости. Широкое внедрение тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ) под ультразвуковым наведением, как «золотого стандарта» в клиническую практику для диагностики узловых образований ЩЖ, позволило увеличить количество выявляемых злокачественных новообразований ЩЖ [16].

В наше время с помощью современных, тонкочувствительных и точных УЗИ-аппаратов, диагноз рака щитовидной железы можно поставить при размере узла начиная от 4мм и такие опухоли ЩЖ могут быть причиной развития регионарных метастазов (метастазов в лимфоузлах) и отдаленных метастазов (в печени, легких, головном мозге, костях).

По описанию Е.Ф. Лушникова 2001: «Патология щитовидной железы неоднородна в пространстве (территориальна), изменяется во времени (патоморфоз), многомерна (различна по нозологическим формам и проявлениям на различных структурных уровнях) и системна (обусловлена особенностями человека как биосоциального существа и его связями с естественным и социальным окружением), а потому требует комплексного изучения по специальным программам» [17].

Среди патологии щитовидной железы опухоли как злокачественные, так и доброкачественные встречаются все чаще и чаще. Такова тенденция во всем мире. Заболеваемость в мире РЩЖ составляет 1-15 на 100 тыс. населения и зависит от географического района, возраста и пола пациентов [18, 19].

Наиболее высокие показатели заболеваемости населения РЩЖ отмечаются в США (штате Гавайи) — 14,93 в 2011 году [20], в Японии — 11,65 в 2012 году [21], в Украине этот показатель (по мировому стандарту) более низкий — в 2008-2012 гг, он составлял 4,4-5,5 на 100 тыс. населения [22].

Мировая тенденция заболеваемости РЩЖ присуща и для Казахстана., Казахстан является регионом со значительным дефицитом йода, который является одним из факторов высокого риска РЩЖ, но несмотря на это Казахстан имеет низкие показатели заболеваемости данной патологии, т.е.

менее 0,91 случая на 100 000 населения (стандартизованный показатель). Прирост заболеваемости за 5 лет составил 15,5% [23, 24].

Определенную роль в риске возникновения РЩЖ играют и особенности конкретного региона, имеющего свой фон окружающей среды с наличием канцерогенных факторов, а также популяционно-генетических (этнических) причин [25, 26].

Ранее в исследованиях было показано, что многолетние испытания ядерного оружия, проводившиеся на территории бывшего Семипалатинского испытательного полигона (СИЯП), способствовали выбросу в атмосферу огромного количества радиоактивных веществ. Практически все наземные взрывы, произведенные в СССР, были осуществлены на территории СИЯП [27].

Трагическая особенность Семипалатинского региона заключается в многократном остром и хроническом облучении населения в больших и малых дозах, практически полном отсутствии дезактивации территории и замены продуктов питания [28, 29]. Многолетние наблюдения и экспериментальные исследования позволили установить прямую зависимость частоты рака ЩЖ от получаемой дозы радиации [30, 31].

В ряде публикаций, посвященных заболеваниям ЩЖ, указывается на то, что ни одни из видов эндокринной патологии не связан так с окружающей средой, как болезни ЩЖ, которая является органным маркером экологического неблагополучия [32, 33].

Многочисленные эпидемиологические и клинические исследования позволили накопить немало данных о связи развития рака щитовидной железы с самыми различными эндогенными и экзогенными факторами, влияющими на риск развития заболевания [34-36].

Каждый из четырех гистологических типов рака щитовидной железы имеет свои собственные характеристики течения, что требует мультидисциплинарного подхода к диагностике с участием специалистов в области эндокринологии, онкологии и т. д. [7, с. 17].

Папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) может развиваться у людей самых разных возрастных групп, даже у новорожденных. Однако пик заболеваемости приходится в возрастную группу 30-50 лет. У людей старше пятидесяти лет наблюдается более агрессивное течение данного вида РЩЖ. Показатели заболеваемости онкологических заболеваний щитовидной железы, в частности, наиболее общей формы, ПРЩЖ значительно увеличились за последние три десятилетия [37]. В экономически развитых странах ежегодно регистрируются от 0,5 до 10 на 100 000 человек с диагнозом РЩЖ [38]. В Европе наблюдается широкий диапазон распространенности заболеваемости РЩЖ, самый высокий уровень заболеваемости приходится на Италию, самые низкие показатели наблюдаются в Испании и Соединенном Королевстве [39]. По половому признаку РЩЖ чаще встречается у женщин, так по данным ВОЗ 2,7% всех онкологических заболеваний ЩЖ приходится на женщин, а у мужчин этот показатель равен 0,7% [40-42].

По данным ВОЗ ежегодно РЩЖ диагностируют примерно у 400 казахстанцев. Однако, если провести анализ статистики, становится понятно, что речь идет не только об истинном повышении частоты встречаемости рака щитовидной железы, а так же и об улучшении выявляемости этих опухолей вследствие улучшения диагностических возможностей (прежде всего – благодаря появлению очень чувствительных и точных УЗИ-аппаратов, которые используются практически повсеместно) [43,44]. Вместе с тем, распространенность рака щитовидной железы в последние годы в некоторых регионах возросла не только в связи с повышенными возможностями диагностики.

В результате проведения ядерных взрывов на бывшем Семипалатинском испытательном ядерном полигоне в атмосферу было выброшено огромное количество радиоактивных веществ, которые частично накопились на территории испытательного полигона. Другая часть распространилась далеко за пределы мест испытания вследствие ветрового переноса. В последующем процесс выпадения радиоактивных веществ из атмосферы привел к глобальному загрязнению земной поверхности [45].

СИЯП был расположен на территории пересечения трех областей Казахстана: Восточно-Казахстанской, Карагандинской, Павлодарской. В период формирования радиоактивного следа ядерного взрыва критическим органом по внутреннему облучению является щитовидная железа (65% от суммарной поглощенной дозы) [46].

В Казахстане исследование патологии щитовидной железы было начато в 1960-х годах Арслановым М.Д., исследовавший северо-восточные районы Казахстана в которых хорошо было изучена морфология щитовидной железы [47]. Затем крупномасштабные исследования морфологии этого органа в Семипалатинском регионе были проведены в 90-х и в начале 2000-х годов [48-56].

Важно отметить, что региональная структура заболеваемости раком щитовидной железы не имеет четкой географической привязки. В числе возможных причин, вследствие которых развивается рак щитовидной железы, можно указать ионизирующую радиацию, наследственность, наличие аутоиммунных заболеваний щитовидной железы [57].

Как было сказано ранее, одним из этиологических факторов риска развития РЩЖ является ионизирующая радиация. *Радиационное загрязнение* – один из видов физического загрязнения, вызываемого действием ионизирующего излучения, источниками которого могут быть устройства, генерирующие его или некоторые химические вещества, обладающие *радиоактивностью*, т.е. способностью атомных ядер этих химических элементов и их изотопов самопроизвольно распадаться с испусканием ионизирующего (радиоактивного) излучения.

Учитывая тот факт, что онкопатология является мультифакторным состоянием, одним из пусковых механизмов реализации заболевания является наличие неблагоприятных генетических полиморфизмов генов

предрасположенности. Идентификация и дальнейшая оценка соответствующих генетических вариаций генов важны для понимания потенциала механизма, участвующего в канцерогенезе щитовидной железы [58]. Частота опухолей ЩЖ возрастает, если увеличивается секреция ТТГ, который является мощным стимулятором пролиферативных процессов в ЩЖ и способен приводить к злокачественной трансформации клеток ЩЖ [59]. Это происходит, например, под влиянием зобогенных факторов, частичной тиреоидэктомии, йодной недостаточности. Известно, что йодная недостаточность занимает особое место среди факторов внешней среды, способствующих пролиферации ткани ЩЖ.

Таким образом, заболеваемость РЩЖ растет, это связано как с улучшением диагностики [59,р. 1], так и с агрессивным воздействием факторов окружающей среды, в том числе экологических и медицинских источников ионизирующего излучения [60]. РЩЖ также может развиться после воздействия радиоактивного йода или недостаточного приема йода [61]. Молекулярно-генетические исследования последних лет выявили новые данные об этиологии и патогенезе развития РЩЖ.

1.1 Роль щитовидно-транскрипционных факторов FOXE1 и NKX2-1

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). Последние научные данные, основанные на популяционных исследованиях показали ассоциацию однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП-SNP), близких к Forkhead box E1 (FOXE1) гена со спорадической, а также семейной и радиационной этиологии РЩЖ [62-67]. РЩЖ характеризуется высоким риском развития у людей с отягощённым семейным анамнезом [68, 69] Наблюдаемая семейная предрасположенность к заболеваниям щитовидной железы и РЩЖ, даже при различных дозах излучения свидетельствует о важности генетического фактора в развитии РЩЖ [70]. При изучении связи генов предрасположенности в реализации ПРЩЖ в отягощенных семьях были выявлены предполагаемые локусы, но не гены высокой пенетрантности, что возможно связано с малым объемом выборки или генетической гетерогенностью заболевания [71]. Объединенные исследования по изучению генома и генов-кандидатов показали связь между однонуклеотидными полиморфизмами генов-кандидатов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) и риском развития ПРЩЖ [72]. Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) представляет собой вариацию в одном нуклеотиде, который имеет место в определенном положении в геноме, где каждая вариация присутствует в значительной степени внутри популяции. Наиболее значимыми для РЩЖ являются ОНП генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) представляют собой нумерацию нуклеотидов согласно базе данных SNP (Database of Single

Nucleotide Polymorphisms, [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/)) [73], где содержится конкретная информация о каждом нуклеотиде (таблица 1).

Таблица 1 – Кодирование и локализация ОНП генов FOXE1 и NKX2-1

Ген	Кодирование	Локус
FOXE1	rs965513[A]	9q22.33
NKX2-1	rs944289[T]	14q13.3

Инактивация генов FOXE1 и NKX2-1 чаще всего происходит при ПРЦЖ, это свидетельствует о результате соматических мутаций, метилирования промотора и/или потери гетерозиготности. На основе молекулярно-генетических исследований были получены результаты доказательства генетической структуры рака и понимание механизмов малигнизации, в ходе развития которой происходит накопление множества соматических мутаций в геноме клетки. Процесс механизма злокачественной трансформации клетки зависит во-первых от протоонкогенов, (proto-oncogene) (греч. *protos* — первый, *onkos* — вздутость и *genos* — род, происхождение) – это гены, контролирующие нормальную пролиферацию или дифференцировку клеток, которые в результате соматической мутации или транспозиции при структурно-функциональных изменений этих генов может превращаться в онкоген. Во-вторых от генов супрессоров, которые в норме тормозят активность протоонкогенов, действуя как альтернативный вариант по отношению к онкогенам, поэтому их иногда называют антионкогенами. Гены супрессоры кодируют регуляторные белки и участвуют в регуляции клеточного деления, и в случае инактивации или отсутствия такого гена (генов) может возникнуть бесконтрольное деление клетки. Прогрессирование процесса малигнизации связано с генной патологией [74].

Некоторые европейские страны разработали собственные рекомендации и консенсусы, которые основаны на обобщенном опыте с учетом национальных особенностей этих стран [75-76]. Совсем недавно объединенные исследования проведенные на популяции людей подвергшихся ионизирующей радиации поддержали идею о том, что ПРЦЖ является результатом сложного взаимодействия нескольких аллелей риска в низких и умеренных генах пенетрации и ионизирующей радиации [67, p. 2517; 77].

NKX2-1 (NK2 homeobox 1), являющийся первым щитовидно-транскрипционным фактором (TTF1-Thyroid Transcription Factor1) и FOXE1 (Forkhead box factor E1) также называют вторым щитовидно-транскрипционным фактором (TTF2-Thyroid Transcription Factor 2) убедительные кандидаты, связанные с дифференцированными раками щитовидной железы в разных популяциях из-за их роли в развитии щитовидной железы и ответа на повреждение ДНК [78] Ген, ближайший к 9q22.33, представляет собой FOXE1, а в локусе 14q13.3 расположен NKX2-1, что указывает о потенциальной роли этих двух щитовидно-специфических

транскрипционных факторов при раке щитовидной железы [62, р. 462]. Аллели таких заболеваний как – расщелины губы и нёба (заячья губа и волчья пасть), гипотиреоз и рак щитовидной железы все находятся в локусе FOXE1, но причинные варианты до сих пор не ясны. У пациентов с расщелиной губы и нёба, частота кодирования мутации в FOXE1 не учитывается за риск, приходящаяся в этом локусе, предполагая, что общие аллели риска живут в близлежащих регуляторных элементах [79]. Изолированная заячья губа с атрезией нёба или без неё и волчья пасть являются врожденными дефектами со значимым генетическим компонентом, который остается частично неясным. В то время как изучение влияния внешних факторов (курение, алкоголь, питание, фолатный статус) на зачатие и беременность, проведенные на близнецах, семейные, популяционные исследования четко установили генетическую этиологию возникновения этого порока развития. Наблюдается 40-кратное увеличение распространенности этого заболевания среди родственников первой степени родства по сравнению с населением в целом [80]. Важно отметить, что FOXE1, вероятно, соответствующий ген, потому что гомозиготная мутация FOXE1 вызывает синдром Бэмфорта-Лазаря, который характеризуется атрезией нёба, раздвоением надгортанника, агенезией или дисгенезией щитовидной железы и гипотиреозом [81-83]. У пациентов с синдромом Бэмфорта-Лазаря, у которых наблюдаются различные заболевания щитовидной железы, такая же общая карта расположения в локусе FOXE1, но причинно-следственные варианты этих расстройств в этом локусе остаются неизвестными. Заболевания щитовидной железы, в том числе наследственный гипотиреоз вследствие дисгенезии щитовидной железы, гипотиреозидизм зоб, немедулярный РЩЖ, ПРЩЖ, радиационно индуцированный рак щитовидной железы после аварии на Чернобыльской АЭС и РЩЖ отображаются на 9q22 (рисунок1) [11, р. 647; 84-87].

Кроме того, количество биомаркеров метаболизма щитовидной железы также связаны в этом локусе. FOXE1 повторно продуцирует предшествующую гипертиреоидную клетку, переходящую в нижнюю мезенхиму из почки щитовидной железы. Хотя точный механизм усиленной транскрипции гена FOXE1, приводящий к повышенной восприимчивости к папиллярному раку щитовидной железы, остается неизвестным, усиленная экспрессия FOXE1 в карциномах щитовидной железы может быть связана с подвижным преимуществом злокачественных клеток щитовидной железы [90-99]. Эмпирические данные исследований по изучению других видов рака предполагают, что большая часть семейного риска развития РЩЖ, вероятно является следствием совместного наследования нескольких низких/умеренных проникающих аллелей, некоторые из которых могут быть общими.

1.2 Исследования проводимые ассоциацией исследования генома (Genome-Wide Association Studies- GWAS)

Последние научные исследования ассоциации генома (GWAS) имеют надежные данные по общей восприимчивости к ПРЩЖ. В первую очередь GWAS определили ассоциации 9q22.33 (rs965513) с FOXE1 и 14q13.3

(rs944289) с NKX2-1 в качестве одних из наиболее значимых генов [85, p.468]. Эти наблюдения согласуются с доказательствами, что FOXE1 участвует в гомеостазе щитовидной железы, в регулировании тиреоглобулина и тиреоидпероксидазы [99, p. 1311]. Ген FOXE1 расположен на длинном (q) плече 9 хромосомы в положении 22 на 57 kb выше по потоку к гену FOXE1 [59,с.1; 82, p. 401] (рисунок 1).

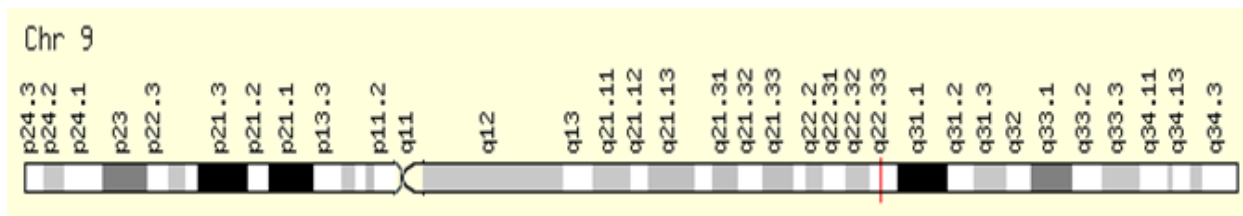


Рисунок1 – Геномная локализация гена FOXE1 (rs 965513) 9q22.33

FOXE1 и NKX2-1 два известных генетических фактора предрасположенности к спорадической папиллярной карциноме щитовидной железы у европейцев, но их объединение у других этносов до сих пор неизвестно [11, с.646]. В различных популяционных исследованиях (GWAS SNP) при изучении восприимчивости к ПРЦЖ были обнаружены связи для гена FOXE1 (rs965513) с носительством минорного аллеля «А», а для гена NKX2-1 (rs944289) выявление минорного аллеля «Т» рассматривались как аллели риска к ПРЦЖ [11,п.646; 12,п.460; 62,п.4; 65,п.845]. В первом исследовании, генов FOXE1 и NKX2-1 при ПРЦЖ, которое проводилось на популяции Исландии, рассматривался вопрос возникновения спорадического ПРЦЖ, в исследование вошли 192 пациентов с ПРЦЖ и 37196 человек контрольной группы, в последующем проводился репликационный анализ лиц европейского происхождения. По результатам данного исследования FOXE1 и NKX2-1 показали сильные сигналы ассоциации с раком щитовидной железы [12, p. 461] Второе исследование по изучению полиморфизмов генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) было проведено с помощью радиационно связанных ПРЦЖ у 667 молодых пациентов, подвергшихся воздействию радиоактивного йода в детстве и у 1275 людей контрольной группы, проживавших в радиационно-загрязненных районах Белоруссии во время Чернобыльской аварии. В этом исследовании, ген FOXE1 показал сильную ассоциацию с излучением, связанной с ПРЦЖ ($p=4.8310$, $OR=1.65$, 95% ДИ 1,43 до 1,91 для rs965513), в то же время так и не было найдено никакой связи с NKX2-1 ($p=0.17$, $OR=1.13$, 95% ДИ от 0,95 до 1,36 rs944289). Эти результаты подтверждают, что FOXE1 является основным генетическим фактором, определяющим предрасположенность к РЦЖ, независимо от этнологии и возраста [83, p. 386]. Исследование по изучению карциномы щитовидной железы, проведенное в Японии, показало высокую частоту ПРЦЖ среди японского населения, где BRAFV600E положительный в 80%, а в европейской популяции он равен 50% [100-104].

Оба гена FOXE1 и NKX2-1 были связаны с повышенным риском спорадического рака щитовидной железы среди японской популяции. Не четкие ассоциации наблюдались либо SNP со статусом гена BRAF V600 [41, p.1057]. Похожие результаты наблюдались также в Корейской популяции [105]. Эти результаты связывают с высокой концентрацией йода. Получить достаточное количество йода из организма можно только извне. Предполагается, что тип карциномы щитовидной железы зависит от приема йода, более агрессивные фолликулярная и анапластическая карциномы наблюдаются в йод дефицитных районах, а папиллярные карциномы в богатых йодом регионах [106, 107].

1.3 Факторы риска восприимчивости к раку щитовидной железы

В одном из последних исследований выявлена значимая связь между распространенностью BRAF V600E мутации и высокого потребления йода [108] Мутация гена BRAF V600E является наиболее распространенным генетическим изменением во взрослой спорадической ПРЩЖ и характеризуется агрессивной клинико-патологической картиной, в том числе экстратиреоидным вторжением, с метастазами в лимфатические узлы на поздних стадиях опухоли и неблагоприятным прогнозом [95, p.5954]. Критическим фактором, влияющим на заболеваемость РЩЖ у детей, является дефицит йода, который способствует потреблению радиоактивного йода и увеличению размеров щитовидной железы [61, p. 725; 109-115]. При изучении спорадических раковых опухолей щитовидной железы у взрослых и белорусских детей в возрасте 0-18 лет во время Чернобыльской аварии указывали на то, что общий маркер rs965513, расположенный в окрестности FOXE1 на хромосоме 9q22.33, показал сильную корреляцию как с спорадическим, так и с радиационным раком щитовидной железы [61, p. 727] Другое исследование по изучению распространенности РЩЖ, проведенное на белорусском и украинском когортах, также выявило линейную зависимость доза-ответ [116, 117]. При изучении взрослых спорадических раковых опухолей щитовидной железы и белорусских случаев в возрасте 0-18 лет во время Чернобыльской аварии указывали на то, что общий маркер однонуклеотидного полиморфизма rs965513, расположенный в окрестности FOXE1 на хромосоме 9q22.33, показали сильную корреляцию как с спорадическим, так и с радиационным раком щитовидной железы [66, p. 2519]. Таким образом, вполне очевидно, что облучение является причинным фактором развития РЩЖ у детей. Межгенные исследования GWAS ОНП rs965513 подтвердили ассоциацию ПРЩЖ как с радиацией, так и без неё.

Преыдущие исследования показали различия в экспрессии генного профиля между ПРЩЖ и нормальными тканями щитовидной железы [118-123]. Была использована стратегия определения ключевой экспрессии генов у детей для различия радиационно-индуцированного РЩЖ и спорадических случаев. Было проведено ряд исследований, некоторые из которых сообщили об уникальном изменении в экспрессии генов при радиационно- индуцированном

РЩЖ у детей, тогда как другие исследования не смогли идентифицировать гены [124-126].

Важно отметить, что выявленные гены были очень разные между исследованиями, с небольшой рекуррентностью генов. Совсем недавно было проведено сравнение экспрессии генного профиля в нормальной контралатеральной ткани щитовидной железы полученных от детей подвергшихся и неподвергшихся радиационному излучению после аварии на Чернобыльской АЭС [127]. Исследование выявило подпись генной экспрессии, генная продукция которых связана с общей клеточной пролиферацией. Следует учитывать, что на экспрессию генов могут воздействовать вмешивающие факторы такие как возраст, пол, этническая принадлежность, и патологические особенности опухолей, и это может вызвать большие расхождения между исследованиями [128].

Известны несколько факторов риска развития ПРЩЖ такие как наличие в анамнезе доброкачественных опухолей щитовидной железы, воздействие ионизирующей радиации и женский пол [129]. Наблюдается высокий риск развития ПРЩЖ у людей, находящихся в первой степени родства с больными с ПРЩЖ, предполагается, что генетический фактор влияет на риск развития онкологических заболеваний щитовидной железы [130]. Однако, эти GWAS были небольшими, и вполне вероятно, что дополнительные общие факторы, влияющие на риск развития дифференцированного рака щитовидной железы (ДРЩЖ) должны быть еще открыты.

Хотя этиологические факторы риска развития РЩЖ не совсем ясны, есть достаточные доказательства в пользу генетических и экологических факторов. Согласно последних данных ионизирующая радиация, особенно воздействие радиоактивного йода в детстве являются сильными предикторами развития ПРЩЖ [131]. С другой стороны, генетическая предрасположенность играет важную роль, о чем свидетельствуют ряд исследований случай-контроль. Согласно данным одного из крупных таких исследований, опубликованного на сегодняшний день, соотношение риска наследственного ПРЩЖ в первой степени родства пробанда ПРЩЖ достигает 8-12, что является самым высоким из всех видов рака [132-134] 5-10% пробанд ПРЩЖ имеют как минимум первую или вторую степень родства с ПРЩЖ [135, 136]. Тем не менее, удивительно, что в больших семьях с множественными случаями ПРЩЖ часто не проявляются законы Менделя. Эти факты свидетельствуют о том, что генетическая предрасположенность не вызвана типичными генами высокой пенетрантности. Вместо этого возможно гены низкой пенетрантности действуют совместно друг с другом и/или с факторами окружающей среды [137]. Такие гены не обнаруживаются с помощью анализа сцепления, но могут быть найдены ассоциированным анализом в больших базах данных [138].

Было обнаружено два ОНП, которые показали сильную ассоциацию с ПРЩЖ. Варианты были локализованы в 9q22.33 и 14q13.3 соответственно, это было также подтверждено в других исследованиях [11, р.646; 139]. Поскольку оба ОНП находятся в бедных геном регионах, не были представлены аллели

генов кандидатов вызывающих поражение или ассоциированных с риском. Скорее всего, эффект rs944289 генотипа проявляется в раковых клетках щитовидной железы с действием тиреоидных факторов [140].

Хотя rs944289 находится в 249 kb от области неизвестного гена как транскрипционная единица или прогнозируемый экзон, NKX2-1 ген один из самых близких генов, который находится в этой области. Ген NKX2-1 расположен на длинном (Q) плече 14 хромосомы в положении 13 (рисунок 2).



Рисунок 2 – Геномная локализация гена NKX2-1 (rs 944289) 14q13.3

NKX2-1 другой специфичный для щитовидной железы транскрипционный фактор, который вместе с FOXE1 проявляется на ранних стадиях морфогенеза щитовидной железы и играет важную роль в формировании щитовидной железы. Транскрипционный фактор щитовидной железы-1 (ТТФ-1) - это белок, который регулирует транскрипцию генов специфичных для щитовидной железы, легких и промежуточного мозга. Он также известен как специфический усилитель-связывающего белка для щитовидной железы и используется при анатомических поражениях как маркер определяющий происхождение опухоли из ткани легких или щитовидной железы [141, 142].

При мутации в этом гене может привести к синдрому мозг–легкие–щитовидная железа (МЛЩЖ), это— аутосомно-доминантное заболевание, манифестирующее в раннем детстве, причиной которого являются мутации в гене фактора транскрипции щитовидной железы-1 (ТТФ-1), участвующего в развитии означенной триады [141,р.3631]. Ген NKX2-1 играет важную роль в процессе раннего морфогенеза легких и участвует в дифференцировке пневмоцитов II типа и синтезе белков сурфактанта. ТТФ-1 положительные клетки обнаружены в легких как пневмоциты второго типа и бронхиольные экзокринные клетки. Щитовидные, фолликулярные и парафолликулярные клетки также положительные для ТТФ-1. Как правило, они положительные для рака легких, аденокарциномы, в то время как для плоскоклеточного рака и крупноклеточной карциномы редко положительные. ТТФ1 больше, чем просто клинический маркер аденокарциномы легкого. Он играет важную роль в подтверждении рака легких в экспериментальных наблюдениях [100,р.400; 102,р.407; 103,р. 12]. Исследование на мышах показали, что мыши, лишённые гена NKX2-1 умирают при рождении, потому что им не хватает нормальной щитовидной железы и легких, это подтверждает важную роль данного гена в эмбриональной дифференциации этих органов. В экспериментальных исследованиях на животных, было доказано, что ген NKX2-1 играет решающую

роль в развитии щитовидной железы, необходим для поддержания упорядоченной фолликулярной архитектоники и функционирования органа у взрослых животных [143-147].

Атрофическая / дегенеративная щитовидная железа в основном состоит из атрофических / дегенеративных фолликулов, в которых многие фолликулярные клетки часто теряют экспрессию NKX2-1, что указывает на то, что потеря NKX2-1 может быть причиной атрофических / дегенеративных фолликулярных клеток. Эти результаты могут быть аналогично воздействию на человека генотоксических мутагенов или радиации, что может вызвать соматическую мутацию гена NKX2-1 → инактивация гена NKX2-1 → дегенерация фолликулярных клеток щитовидной железы → увеличение пролиферации клеток → увеличение повреждения, произошедшего в ДНК, и / или хромосомы при воздействии генотоксического мутагенсенсорного излучения, в конечном счете, на то, чтобы уклониться от рака [148]. Уровень экспрессии существенно коррелирует с прогрессированием и повышением злокачественности опухолей щитовидной железы [149]. Последние исследования показывают различные результаты для экспрессии NKX21 в одной и той же линии клеток, что свидетельствует о противоречивой природе экспрессии NKX2-1. Для объяснения потери экспрессии NKX2-1 в большинстве случаев карциномы щитовидной железы и клеточных линий было предложено эпигенетическое молчание гена NKX21 посредством гиперметилирования ДНК и модификации гистонов H3 [150]. Общее исследование ассоциации геномов (GWAS) выявило предрасположенность общих вариантов к 9q22.33 и 14q13.3 как к папиллярным, так и к фолликулярным ракам щитовидной железы. Зародышевая мутация гена NKX2-1 приводит к мутантному белку NKX2-1 (A339V), который нарушает трансактивацию тиреотропных генов, таких как тиреоглобулин, тиреотропиновый рецептор и PAX8, тогда как экспрессия связана с повышенной пролиферацией клеток, тиреотропином -независимый рост и усиленная активация сигнальной молекулы выщелачивания как StSt3 и Akt по сравнению с белком дикого типа. Исследование популяции продемонстрировало, что мутант NKX2-1 A339V способствует предрасположению мальтонулярного зоба и / или папиллярной карциномы щитовидной железы и к патогенезу папиллярных карцином щитовидной железы [151]. Таким образом, выражение обычно обнаруживается в порядке фолликулярной аденомы щитовидной железы > фолликулярной карциномы > папиллярной тиреоидной карциномы > медуллярной карциномы щитовидной железы > анапластической карциномы щитовидной железы [152-155].

В связи с этим NKX2-1 в раковых опухолях легких может быть более аналогичным этому сценарию, поскольку NKX2-1 является специфическим для онкогенеза и необходим для выживания подмножества клеток аденокарциномы [77,р. 22; 78,р.3895; 79,р.120].

Мутации в FOXE1 были зарегистрированы у некоторых пациентов с плоскоклеточным раком легких и желудка, в некоторых случаях мутации подтверждались соматически. Однако, функциональные последствия этих

мутаций не были исследованы, что делает мутацию сомнительной, учитывая, что уровень экспрессии FOXE1 незначителен или низкий в этих тканях [156, 157].

Вполне возможно, что соматические мутации в FOXE1 не самые мощные пусковые механизмы канцерогенеза щитовидной железы, но они могут в сочетании с другими онкогенными факторами (таких как BRAF мутация), способствовать дедифференцировке тироцитов и прогрессированию РЩЖ. В то время как есть доказательства для дедифференцировки в двух случаях ПРЩЖ с двойной BRAF и FOXE1 мутацией, небольшое количество случаев исключают определенные выводы. Необходимо дальнейшие исследования для изучения вероятной совместной роли BRAF мутации и FOXE1 инактивации для идентификации механизмов, с помощью которых происходит данная кооперация [65,р.845; 88,р.1815].

Важность отдаленных взаимодействий в 9q22 может быть актуально в генетической предрасположенности к ПРЩЖ, генотип риска rs965513 значительно ассоциировался с низкой экспрессией FOXE1 [158]. Несколько исследований по геномному масштабированию хроматина выявили обогащенный GWA ОНП в регуляции элементов ДНК предполагая, что многие функциональные варианты могут повлиять на регулирование генов [159-162].

FOXE1 является частью сети факторов, которые помогают поддерживать дифференциацию щитовидной железы через транскрипционную регуляцию специфичного тироидного гена, в том числе тиреоглобулина и тироидной пироксидазы [163].

FOXE1 связывает тиреоглобулин и тиреоидпероксидазу в фолликулярных клетках щитовидной железы [164, 165]. Последние данные свидетельствуют, что FOXE1 также регулирует другие гены важные для функции щитовидной железы, такие как двойная оксидаза (DUOX2, которая генерирует гидроксид пероксидазу, необходимый для тиреоидпероксидазы-ТПО) и симпортер натрия-йодида (СНЙ). Было показано, что подавление FOXE1 в линии клеток щитовидной железы приводит к значительному снижению уровня mRNA и белков в СНЙ [166, 167].

Поэтому потеря регуляторной активности FOXE1 может способствовать дедифференцировке фолликулярных клеток щитовидной железы, особенно в присутствии других онкогенных факторов. Это также может иметь терапевтическое значение необходимое для СНЙ и ТРО для эффективности радиоактивного лечения йодом [59,р. 1].

FOXE1 относится к большой семье Forkhead (FOX) транскрипционного фактора, который кодирует транскрипционный фактор содержащий Forkhead домен для ДНК связывания и полиаминный домен для неопределенных функций. Представители этого семейства присутствуют в широком диапазоне тканей, участвуя в различных процессах и, как полагают, играют важную роль в посредничестве трансформирующего фактора роста в суперсемейном сигнале путем связывания белков [168]. Белок FOXE1 имеет полиаланиновый путь, начиная с 13-го аминокислотного остатка с конца доменного лоскута, который

простирается от 12 до 17 остатков с 14-аланиновым растяжением на самой высокой частоте [90,p.1659]. Менее распространенный вариант (аллель 16) связан с плоскоклеточной карциномой, предполагая, что более общий вариант (аллель 14) может быть защитным от развития плоскоклеточного рака кожи [95,p.51954].

Расширение полиаланиновых путей в транскрипционном факторе рассматривается как молекулярный фактор многочисленных заболеваний, характеризующихся врожденными пороками развития и/или умственной отсталостью, а удлинение этих путей ассоциируются с высокой заболеваемостью, более тяжелой клинической картиной и неблагоприятным прогнозом [169]. В аланин богатых участках были найдены несколько факторов транскрипции, которые подавляют транскрипцию генов-мишеней. Эти аланин богатые последовательности образуют а-спиральные участки и несут ответственность за транскрипционное подавление [170]. Расширение аланина может привести к нарушению конформации белка и потенциально влиять на процесс регуляции транскрипции, ослабляя специфическое связывание с ДНК или изменяя кофактор строения белка.

Транскрипционный эффект различных растяжений длины полиаланиновых аллелей не всегда конкордантен: в то время как Баллок и др. показали, что 16-аланин аллель менее транскрипционно активен, чем 14-аланин аллель в FOXE1 реагирующих генах *in-vitro*, другие исследователи сообщили повышение транскрипционной активности 16-аланин аллелей [88,p.1815] или не было разницы между аллелями [171]. Кроме того, качественные исследования обнаружили, что транскрипция FOXE1 были более распространены у больных с ПРЦЖ, у которых было гомозиготное 16/16, чем у людей без ПРЦЖ с 14/14 генотипами [91,p.43], и совсем недавно было показана ассоциация 16-аланин аллеля с FOXE1 в ПРЦЖ [63,p.926; 88,p.1815]. Возможно, что влияние длины полиаланина FOXE1 в сочетании с измененной, транскрипционной регуляцией гена приводит к более высокому риску возникновения ПРЦЖ и других заболеваний щитовидной железы. Дальнейшие исследования необходимы для получения четкого понимания взаимосвязи между экспрессией NKX2-1, статусом дифференцировки тканей и первичными карциномами по сравнению с клеточными линиями и механизмами, лежащими в основе потери экспрессии NKX2-1 при злокачественных новообразованиях. Подобно NKX2-1, экспрессия FOXE1 встречается при различных раковых опухолях щитовидной железы [172, 173].

Идентификация / характеристика клеток щитовидной железы / клеток-предшественников, их связь с экспрессией NKX2-1, FOXE1 и более подробная характеристика различных видов рака щитовидной железы и / или раковых клеток, особенно в отношении экспрессии этого фактора транскрипции, срочно необходимы для лучшего понимания роли NKX2-1 и FOXE1 при раке щитовидной железы [174].

По-видимому отличительной чертой этих генов является дедифференцировка, позволяющая ввод для злокачественной трансформации в

тканях ЩЖ. Ранняя диагностика злокачественных новообразований ЩЖ является одним из основных факторов, влияющих на прогноз жизни больных РЩЖ. Семейная агрегация заболеваний щитовидной железы и рака щитовидной железы, даже в присутствии широко различной дозы излучения, показывает, что генетические факторы могут способствовать риску папиллярного рака щитовидной железы [175].

Заключение по обзору литературы

Таким образом, на сегодняшний день, в литературных источниках отсутствуют сведения об изучении данных генов у больных с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции. Изучение роли NKX2-1 и FOXE1 в патогенезе и прогнозе рака щитовидной железы является весьма актуальным, так как в настоящее время в мировой литературе доказана их важная диагностическая и прогностическая роль и при других заболеваниях.

Обзор литературы показал, что проблема ранней неинвазивной диагностики злокачественных образований щитовидной железы вызывает растущий интерес со стороны исследователей современной онкотиреоидологии. Злокачественные новообразования щитовидной железы можно назвать как современной проблемой с которой сталкиваются эндокринологи, онкологи, семейные врачи. Данные примеры свидетельствуют о растущем значении молекулярно-генетических исследований при всех видах опухолевых заболеваний, включая папиллярный рак щитовидной железы. Это поможет в скором будущем в плане диагностики и лечения больных с опухолевой патологией щитовидной железы. Поиски оптимального, доступного, надежного и безопасного по всем параметрам метода диагностики пока продолжаются. Следует также отметить, что часть онкогенов уже сейчас являются мишенями в экспериментах по генной терапии и в данном направлении уже получены положительные результаты.

Таким образом для понимания процесса малигнизации клеток щитовидной железы, важно изучение механизмов на молекулярно-генетическом уровне. Учитывая, что многие исследования проведены в зарубежных странах, в то время как в Казахстане как и в странах СНГ данная тема обделена вниманием исследователей, что послужило основанием для проведения данного исследования.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена в Государственном медицинском университете г.Семей. набором материала в региональных и городских онкологических диспансерах и медицинских учреждениях ВКО, г.Алматы, г.Астана. Основная роль в проведении исследования принадлежит партнерству между Государственным медицинским университетом г.Семей и Нагасакским университетом г.Нагасаки (Япония). Разрешение на проведение исследования в отдельных медицинских учреждениях было получено от главных врачей организации. Автор выражает глубокую признательность администрации и медицинским работникам медицинских организации, где проводился набор материала.

А также автор выражает особую признательность Институту изучения заболеваний, вызванных атомной бомбардировкой, Университета Нагасаки (Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Япония) за финансирование, методологическую помощь, реактивы и оборудование, предоставленные для данного исследования. Комплексное участие и сотрудничество сторон стало неотъемлемой частью проведения работы, которое имело решающее значение для успешного его завершения.

Согласно целям и задачам диссертационного исследования была разработана комплексная программа изучения патогенетических механизмов РЦЖ. При планировании исследования выделено 7 этапов:

1. Планирование исследования: разработка дизайна и определение методов исследования;
2. Получение разрешения локального этического комитета Государственного медицинского университета г.Семей;
3. Набор материала: анкетирование, получение информированного согласия, инструментальное обследование, забор крови;
4. Лабораторное исследование;
5. Создание базы данных
6. Получение результатов;
7. Статистическая обработка полученных данных;

Учитывая задачи исследования применены следующие подходы:

Для исследования грубых показателей заболеваемости и смертности рака щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области использована:

- база данных территориального ракового регистра, которая создана на основании первичных документов Восточно-Казахстанского Областного онкологического диспансера и регионального областного онкологического диспансера г.Семей с 2011 по 2015гг.

- показатели заболеваемости и смертности (среднегодовые значения) использованы данные учетно-отчетной документации формы №7 «Отчет о больных и заболеваниях злокачественными образованиями» (утвержден приказом МЗ РК от 23 ноября 2010 года №907 «Об утверждении форм первичной медицинской документации организации здравоохранения»)

- материалы по онкологической заболеваемости, опубликованные в статистических сборниках показателей онкологической службы Казахстана предоставленные КазНИИОР (Казахским научно-исследовательским институтом онкологии и радиологии) за 2011-2015гг.

С целью объективной оценки и анализа клинико-лабораторных данных исследуемых была создана специальная анкета для выявления состояния функции щитовидной железы (Приложение Б). У всех исследуемых проводилась пальпация щитовидной железы, с целью выявления органической патологии всем (100%) было проведено ультразвуковое исследование щитовидной железы. Для оценки функционального состояния щитовидной железы определены гормоны ЩЖ (ТТГ, свТ4, Ат ТПО).

Для проведения генетического исследования нами был выбран дизайн типа случай-контроль, позволяющий ретроспективно оценить ассоциацию FOXE1 и НКХ2-1 у больных с ПРЦЖ среди лиц казахской популяции [176, с.11].

Для изучения генетической предрасположенности на популяционном уровне в ассоциативных исследованиях обычно используют метод «случай-контроль», где группа «случай» состоит из людей с четко выраженным фенотипом заболевания, а группа «контроль» – из лиц с не менее выраженным отсутствием данного фенотипа. Ассоциация фенотипа с генотипом (генетическим маркером) – это достоверно неодинаковое распределение частоты встречаемости маркера среди индивидуумов с различными фенотипами. Чем выше распространенность маркера среди людей с определенной патологией по сравнению с здоровыми, указывает на предрасположенность (повышенный риск), а более низкий - на устойчивость к заболеванию (пониженный риск).

Изучение генетической восприимчивости к заболеваниям на уровне популяции 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 и существуют ли вообще для данной патологии в данной популяции предрасполагающие или защитные генетические факторы (маркеры) и можно ли с их помощью прогнозировать развитие заболевания.

2.1 Объект исследования

В качестве объекта исследования участвовали 1493 лиц казахской национальности, из них 485 человек с ПРЦЖ составили основную группу и 1008 здоровых лиц, представляющих контрольную группу.

Предметом исследования выступила распространенность различных вариантов полиморфизмов генов FOXE1 rs965513 (генотипы GG, GA и AA) и НКХ2-1 rs944289 (генотипы CC, CT и TT) у больных с ПРЦЖ и в контрольной группе здоровых людей казахской национальности [176, с.11]. Набор групп исследования проводился с сентября 2014 года по август 2015 года. Каждый из участников исследования дал письменное информированное согласие на участие в исследовании, в том числе на забор венозной крови в объеме 5 мл в

вакуумные пробирки с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) для генетического исследования (Приложение Д). Для всех исследуемых проводили комплексное обследование: пальпация щитовидной железы, УЗИ ЩЖ, гормональное исследование ЩЖ с помощью иммуноферментного анализа.

Набор группы случаев

Формирование группы случаев производилось среди взрослых лиц казахской популяции, проживающих в ВКО: в городах Усть-Каменогорск, Семей, Зыряновск и прилегающих районах – Бородулихинском, Жарминском, Кокпектинском, Абайском, Бескарагайском, Урджарском, Аягузском, Уланском, Зыряновском, Катон-Карагайском, в городе Астана, Талдыкорган, Алматы и Талгарском, Каскеленском, Енбекши-казахском, Карасайском районах, состоящих на учете с диагнозом ПРЦЖ в региональных и городских онкологических диспансерах. Диагноз ПРЦЖ был верифицирован гистологически [176, с.11]. Стадирование проведено по «TNM классификация злокачественных опухолей. Седьмое издание» по данным гистологического исследования удаленного материала. Диагноз Злокачественное новообразование щитовидной железы (ЗНЦЖ) – C73, согласно международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем десятого пересмотра (МКБ10).

Проведен отбор исследуемой когорты соответствующих критериям включения и исключения.

Критерии включения – пациенты гистологически и/или цитологически верифицированные с ПРЦЖ среди казахской популяции (казахи до третьего поколения), состоящие на учете в специализированных учреждениях онкологических диспансерах данных регионов.

Принадлежность к казахской национальности устанавливали путем анкетирования и при сверке данных документа удостоверяющего личность.

Критерии исключения:

- пациенты с другим гистологически подтвержденным РЦЖ;
- с сопутствующими заболеваниями в фазе обострения;
- с конкурирующими новообразованиями;
- генетические заболевания, иммунодефицитные состояния;
- пациенты иной национальности и лица, у которых есть родители и родственники имеющие кровную связь с испытуемым не казахской национальности;

Набор группы контроля

Контрольная группа состояла из 1008 здоровых людей казахской отобранных случайным образом согласно данным организаций первичной медико-санитарной помощи и проживающих на территории вышеуказанных городов и районов у которых в ходе скрининга не было выявлено клинико-анамнестических признаков патологии щитовидной железы [176, с.11]. Отсутствие сопутствующей патологии щитовидной железы были подтверждены при помощи сбора анамнеза, определения гормонов ЩЖ (ТТГ, св.Т4, АТ ТПО), а также ультразвукового исследования щитовидной железы.

Критериями включения в контрольную группу были следующие условия:

- 1) Здоровые лица казахской национальности;
- 2) Отсутствие увеличения объема щитовидной железы по данным пальпации;
- 3) Отсутствие узловых образований и гипоехогенности структуры щитовидной железы по данным ультразвукового исследования (УЗИ);
- 4) Уровень тиреоидных гормонов в пределах нормальных значений;
- 5) Отсутствие беременности;
- 6) Отсутствие в анамнезе данных о патологии щитовидной железы и/или о получении препаратов йода, тиреоидных гормонов [176, с.11].

Протокол работы был одобрен локальным Этическим комитетом Государственного медицинского университета города Семей №2 от 18.03.2015г. Каждый из участников исследования дал письменное информированное согласие (Приложение Д) на участие в исследовании, в том числе на забор крови для генетического исследования.

2.2 Сравнение уровней аллелей в зависимости от генотипов полиморфизма генов

Для сравнения уровня FOXE1 в зависимости от генотипа 485 больных папиллярным раком щитовидной железы и 1008 лиц группы контроля генотипированных по однонуклеотидному полиморфизму (rs 965513) гена FOXE1 были разделены на подгруппы в зависимости от того носителем каких генотипов они являются: группа носителей генотипа FOXE1 (rs 965513) AA, группа носителей FOXE1 (rs 965513) GG и группа с гетерозиготным вариантом FOXE1 (rs 965513) GA.

Аналогичные подгруппы были сформированы для сравнения уровня NKX2-1 в пределах генотипов (NKX2-1 rs944289 CC, TT, TC) из этих же групп генотипированных по полиморфизму (rs 944289) гена NKX2-1.

2.3 Характеристика методов исследования

На каждого обследуемого заполнялась анкета, где указываются паспортные данные, с указанием места рождения и проживания, жалобы, семейный анамнез, генеалогические данные, национальность, данные клинического, инструментального и лабораторного исследования (Приложение Г). У всех обследуемых проводилась визуально-пальпаторная оценка состояния щитовидной железы включала определение степени увеличения, размер и форма ее увеличения оценивались в соответствии с принятой классификацией рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения ВОЗ (2001) (не более 18 мл у женщин и не более 25 мл у мужчин) согласно которой различают следующие степени зоба:

Степень 0 — щитовидная железа визуально и пальпаторно не увеличена, зоба нет; каждая доля ЩЖ не достигает величины концевой фаланги большого пальца обследуемого;

Степень I — при осмотре область щитовидной железы не изменена, пальпаторно определяется увеличение;

Степень II — зоб виден при нормальном положении шеи, для его выявления не требуется пальпация;

Для выявления органической патологии всем (100%) было проведено ультразвуковое исследование щитовидной железы, (тиреозография), являющееся, по данным литературы, наиболее информативным и безопасным (не дающим лучевой нагрузки) методом оценки топографо-анатомических особенностей щитовидной железы.

2.3.1 Ультразвуковое исследование (УЗИ)

УЗИ щитовидной железы – надежный и быстрый способ выявления патологий щитовидной железы, который дает полную информацию о состоянии щитовидной железы, окружающих тканей, лимфатических узлов шеи [177]. УЗИ проводилось на аппарате «Aloka SSD-500» (производство Япония) с использованием датчика частотой 7,5 МГц в реальном масштабе времени.

Объем щитовидной железы рассчитывался по формуле (1) расчета эллипсоида (Brunn J., 1986):

$$(ШП \times ДП \times ТП) + (ШЛ \times ДЛ \times ТЛ) \times 0,479 \quad (1),$$

где ШП, ДП, ТП, ШЛ, ДЛ, ТЛ – ширина, длина и толщина правой и левой доли соответственно;

0,479 – коэффициент поправки на эллипсоидное строение долей.

Тиреоидный объем включал объем двух ее долей: правой и левой, без учета объема перешейка.

При наборе участников в группу контроля определяемые при УЗИ очаговые изменения ткани щитовидной железы без четких контуров диаметром менее 10мм или анэхогенные участки, не содержащие тканевого компонента, расценивались как фокальные (зобные) изменения ткани щитовидной железы и исключались из исследования.

2.3.2 Функциональное исследование функции щитовидной железы

Для исследования функционального состояния щитовидной железы производилось количественное определение тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (св.Т4), антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) методом иммуноферментного анализа (ИФА). Биоматериалом комплексного гормонального исследования являлась сыворотка.

Забор материала:

1. Для исследования набирали венозную кровь методом пункции с минимальным временем наложения жгута, утром натощак в пластиковые пробирки объемом 5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) в конечной концентрации 2 мг/мл.

2. Перемешивают содержимое пробирки переворачивая 2-3 раза.

3. Центрифугировать пробирки при 3000 об/мин в течении 20 мин при комнатной температуре (18-25С)

4. Отобрать автоматической пипеткой верхнюю фракцию (плазмы) и перенести в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5мл.

5. К полученной сыворотке добавляются антитела, которые образуют комплексы с исследуемым компонентом – гормоном щитовидной железы, белком. Эти комплексы метятся ферментом. Затем к смеси добавляется субстрат, который при взаимодействии с ферментом начинает испускать кванты нетеплового свечения. Хемилюминесценция регистрируется с помощью специального оборудования, на основе полученных показателей рассчитывается концентрация исследуемого соединения.

2.3.3 Молекулярно-генетическое исследование

2.3.3.1 Выделение ДНК из образцов цельной крови

Для типирования полиморфизмов изучаемого гена была использована периферическая кровь исследуемых в объеме 5 мл. Геномную ДНК выделяли с использованием набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Япония) в соответствии с инструкцией производителя.

Выделение ДНК производят, следующим образом:

1. Кровь в пробирке Эппендорф перемешиваем на вортексе и осаждаем в центрифуге в течении 2 секунд, для того, чтобы кровь стекла с крышки.

2. PBS или NaCl 0,9% 200 мкл. Набираем в пробирку с кровью и перемешиваем.

3. Подготовить пробирки (автоклавированные) по 1,5 мл, пронумеровать.

4. Набираем в заранее подготовленные пробирки 200 мкл крови (уже содержащую в PBS или NaCl 0,9%)

5. Добавляем 20 мкл протеиназы К (разведенная 20мг.) Добавить буфер AL 200мкл.

6. Размешиваем на вортексе в течении 15 секунд, при размешивании держим крышки эппендорфа.

7. Нагреваем пробирки в термостате при температуре 56 градусов, в течении 10-15 минут.

8. Ставим в центрифугу 1,5 минуты /параметры 23 градуса, 13,0 оборотов.

9. Добавляем этанол (спирт) 99,5 % 200 мкл.

10. Затем снова ставим в центрифугу 1,5 минуты /23 градуса, 13,0 оборотов/

Осаждение

11. Переносим все содержимое в колонки (специальные пробирки с фильтром), и ставим в центрифугу 1,5 минуты / 23 градуса, 6000 оборотов/

12. Переключаем пробирки под колонки.

13. Добавляем AW 1 буфер 500 мкл. (буфер AW 1 разбавляем с этанолом 99,5%)

14. Центрифугируем 1,5 минуты /23 градуса, 6000 оборотов/

15. Подготавливаем новый ряд пробирок (специальные), переносим туда фильтр из старых пробирок и добавляем 500 мкл AW 2 буфер.

16. Центрифугируем 4 минуты при 20000 оборотах.

17. Повторно центрифугируем 2 минуты при 6000 оборотов Уже в других эппендорфах, не автоклавированных.

18. Подготавливаем новый ряд эппендорфов предварительно автоклавированных, после центрифугирования переносим туда фильтр.

19. Добавляем АЕ буфер 60 мкл. Стараясь попасть прямо на мембрану.

20. Ждем 1 минуту (инкубация).

21. Центрифугируем 1.5 минуты при 6000 оборотов.

22. Вынимаем фильтр и получаем пробирки с ДНК.

Для проведения качественного и количественного анализа ДНК концентрацию и чистоту ДНК оценивали с помощью спектрофотометра нанодропа NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Валтам, США), измеряя оптическую плотность при длинах волн 230, 260, 280нм. Выделенную ДНК храним при температурном режиме -20С (Приложение Е).

2.3.3.2 Генотипирование полиморфизмов rs 965513 гена FOXE1 и rs 944289 гена NKX2-1

Генотипирование полиморфизмов rs 965513 гена FOXE1 и rs 944289 гена NKX2-1 и анализ полиморфизмов проводился в лаборатории молекулярной генетики Института болезней атомной бомбы Нагасакского университета (Нагасаки, Япония). Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (real-time PCR) на приборе Light Cycler 480 II (Roche, Индианаполис, США) с помощью готовых смесей праймеров и зондов с гидролизующейся пробой (C_1593670_20 для rs965513 и C_1444137_10 для rs944289) в присутствии реагента TaqMan Genotyping Master mix (Life Technologies, Фостер-Сити, США) и 10 нг ДНК в качестве матрицы в общем объеме 10 мкл в 386-луночных планшетах (Roche, Индианаполис, США). Программа амплификации предусматривала предварительную денатурацию при 95 °С в течение 10 мин, последующие 50 циклов при 92 °С в течение 15 сек и 62 °С в течение 1 мин для обеих SNP. Предварительно для каждого SNP были выявлены гомозиготные и гетерозиготные образцы, которые использовали в качестве стандартов. Для ПЦР-амплификации были разработаны праймеры с помощью компьютерной программы Primer 3 Input (version 0.4.0). Последовательности праймеров (5'→3') были следующие:

rs965513 TGGTGATGGTATGGTCATGG (прямой);

rs965513 CCCAGGCTCAGGTTATGTCT (обратный);

rs944289 CAT GAG GAA CAG CGC CTC T (прямой);

rs944289 CCC ATG CCG CTC ATG TT (обратный)

Условия реакции ПЦР предусматривали предварительную денатурацию при 95 °С в течение 10 мин, далее 40 циклов при 94 °С в течение 30 сек, при 60 °С в течение 1 мин и 78 °С в течение 30 сек и 1 цикл при 78 °С в течение 10 мин для обеих ОНП (SNP). Наличие продуктов реакции подтверждали с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле. Продукты ПЦР (7 мкл) обрабатывали 1,5 мкл реагента ExoSAP-IT (USB, Affymetrix, США) при 37 °С в течение 40 мин с последующей термоинактивацией при 80 °С в течение 20 мин.

Далее 3 мкл обработанного продукта ПЦР секвенировали в обоих направлениях с помощью прямого или обратного праймера (3,2 pM), используя набор реактивов BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Фостер-Сити, США) в объеме 10 мкл по следующей программе: при 95 °С — в течение 2 мин, далее 35 циклов при 95 °С в течение 10 сек и 50 °С в течение 5 сек, при 60 °С — 2 мин 30 с. Продукты очищали Agencourt CleanSEQ (Agencourt Bioscience Corporation, Массачусетс, США). Анализ проводили на секвенаторе ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, Фостер-Сити, США), хроматограммы визуализировали в программе Finch TV Version 1.3.1 (Geospiza, Сизтл, США) [178].

2.3.4 Статистическая обработка данных

Количественные данные с характером распределения близким к нормальному выражены в виде среднего и стандартного отклонения. Качественные данные представлены в виде абсолютных и относительных чисел. Для расчета статистической значимости различий внутри групп по качественным признакам использовался критерий χ^2 . Многомерный логистический регрессионный анализ был использован для ассоциативных исследований «случай–контроль» с учетом половозрастных данных. Анализ ассоциации вариантов полиморфизмов FOXE1 (GG, GA и AA) и NKX2-1 (CC, CT и TT) с ПРЦЖ проведен с помощью расчета отношения шансов (Odds Ratio – OR) и его 95% ДИ (доверительного интервала (95% Confidence Interval – CI)).

Для расчета OR использовали формулу $OR = a \times d / b \times c$, где a – показывает частоту наличия исследуемого генотипа в группе ПРЦЖ; b – частоту наличия исследуемого генотипа в контрольной группе; c и d – обозначает частоты отсутствия исследуемого генотипа в группах с ПРЦЖ и контрольной соответственно. При $OR > 1$ рассматривали как положительную ассоциацию с риском развития ПРЦЖ, $OR = 1$, как отсутствие ассоциации, и при $OR < 1$, как отрицательную ассоциацию данного генотипа с риском развития ПРЦЖ. Критический уровень статистической значимости различий был установлен на уровне $p < 0,05$. Отклонение частоты генотипов от равновесия Харди–Вайнберга оценивали с помощью теста χ^2 . Различия расценивались статистически значимыми при показателях $p < 0,05$. Статистические расчеты так же проводились на калькуляторе для генетических расчетов по программе Ген-Эксперт (http://gen-exp.ru/calculator_or.php). Мета-анализ исследований генетических ассоциаций риска проводили в программе Review Manager (RevMan 5), Cochrane Collaboration.

Статистический анализ выполнен с помощью IBM SPSS Statistics Version 20 (International Business Machines Corp., Армонк, США), WINPEPI и SPSS 20.0 (Государственный медицинский университет города Семей). После статистической обработки, все полученные данные с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel переводились в таблицы, графики, диаграммы, что значительно повышает информативность полученных результатов и облегчает восприятие материала.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Эпидемиологическая оценка злокачественных опухолей щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области.

Ранее мы проводили исследования по актуализации изучения узловых образований щитовидной железы. Нами были взяты в работу все доброкачественные узлообразования [178], а так же новообразования без дифференциации на доброкачественные и злокачественные [179].

Для реализации поставленной задачи диссертационного исследования по изучению эпидемиологических особенностей патологии ЩЖ в восточном регионе Казахстана нами было организовано поперечное эпидемиологическое исследование показателей заболеваемости и смертности от рака щитовидной железы у населения Восточно-Казахстанской области за период с 2011 по 2015 год.

В работе изучена заболеваемость и смертность по причине рака щитовидной железы у населения Восточно-Казахстанской области на протяжении 5-летнего периода наблюдения (2011-2015 годы). Общеизвестно, что территория Казахстана, особенно районов Восточно-Казахстанской области прилегающих к бывшему Семипалатинскому ядерному полигону неблагоприятна в отношении радиационного фона, что, несомненно, повлияло на рост онкологических заболеваний, включая рак щитовидной железы [180].

Для выполнения работы служили учетно-отчетные данные Восточно-Казахстанского областного онкологического диспансера г.Усть-Каменогорск и регионального онкологического диспансера г.Семей. Общая численность населения, проживающего на территории обслуживания диспансеров, составляет – 1 395 324 человек, из которых около более 40% проживают в сельских районах. Данные учреждения образуют две основные ветви сбора информации о населении, страдающем онкопатологией в Восточно-Казахстанской области (ВКО). Базой данных о случаях заболеваемости, смертности и дифференциации стадий служит общий для ВКО территориальный раковый регистр [180, с.91].

В анализ включены все зарегистрированные случаи РЩЖ за период с 2011 по 2015 гг. Клинический диагноз верифицирован морфологически с помощью иммуно-гистохимического исследования биопсийного и аутопсийного материала в 100% случаев. Сравнение с республиканскими показателями произведено на основании анализа опубликованных данных официальной статистики онкологической службы РК [23,с.5; 24,с.7; 181, 182].

При сравнении данных за 2011 и 2015 гг. по заболеваемости РЩЖ по регионам страны на первом месте находятся Карагандинская и Северо-Казахстанская области. Следующими по показателям являются города Алматы и Астана, Кызылординская, Актюбинская и Восточно-Казахстанская области (рисунок 3).

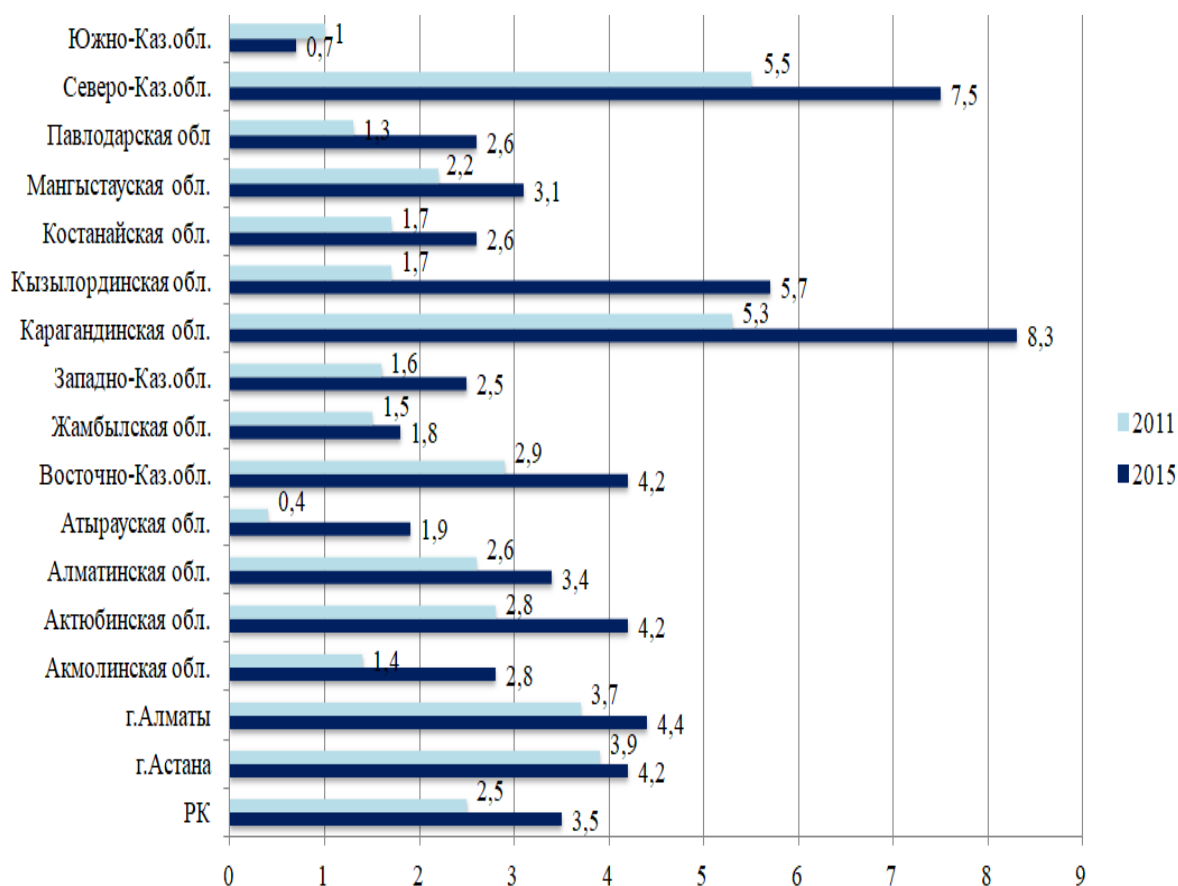


Рисунок 3 – Динамика грубого показателя заболеваемости РЦЖ в областях и РК за 2011 – 2015 годы (%₀₀₀)

Нами был рассчитаны грубые показатели заболеваемости и смертности от РЦЖ за 5-летний период наблюдения, в расчете на 100 тыс. населения.

По материалам территориального ракового регистра в ВКО было зарегистрировано всего 726 случаев РЦЖ, из них 61 у мужчин и 665 случаев у женщин. В Республике Казахстан (РК), наблюдается рост заболеваемости РЦЖ с 2,5 на 100 тыс. населения в 2011 г. до 3,5 на 100 тыс. населения в 2015 г. (рисунок 4).

Анализ показателей заболеваемости по Восточно-Казахстанской области (ВКО) за 5 лет выявил динамику роста заболеваемости РЦЖ по области с 2,9 на 100 тыс. населения в 2011 г. до 4,2 на 100 тыс. населения в 2015г. Тренд прироста составил +0,39. Аналогичная картина за исследуемый период наблюдалась и в Республике Казахстан, где также отмечалось повышение грубого показателя заболеваемости РЦЖ с тенденцией роста +0,25 (рисунок 4).

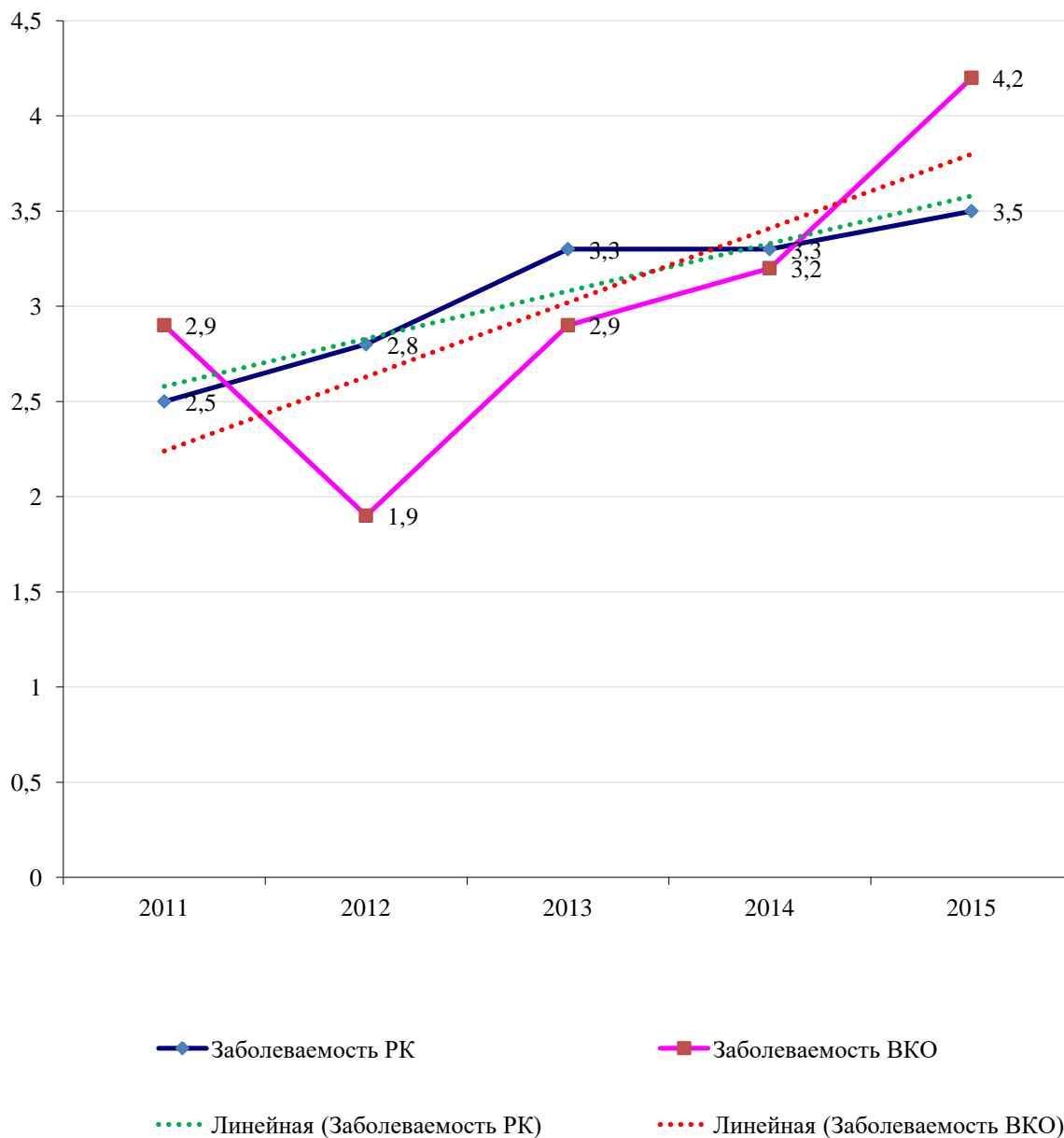


Рисунок 4 – Динамика грубого показателя заболеваемости РЦЖ в РК и ВКО за 2011-2015 годы (‰)

Грубый показатель смертности РЦЖ в РК и ВКО за 2011-2015 годы демонстрирует относительно стабильную картину с небольшим колебанием 0,6‰ до 0,4‰ в ВКО и на республиканском уровне – 0,5‰ (линейный тренд смертности менее 0,01 и 0,06) (рисунок 5).

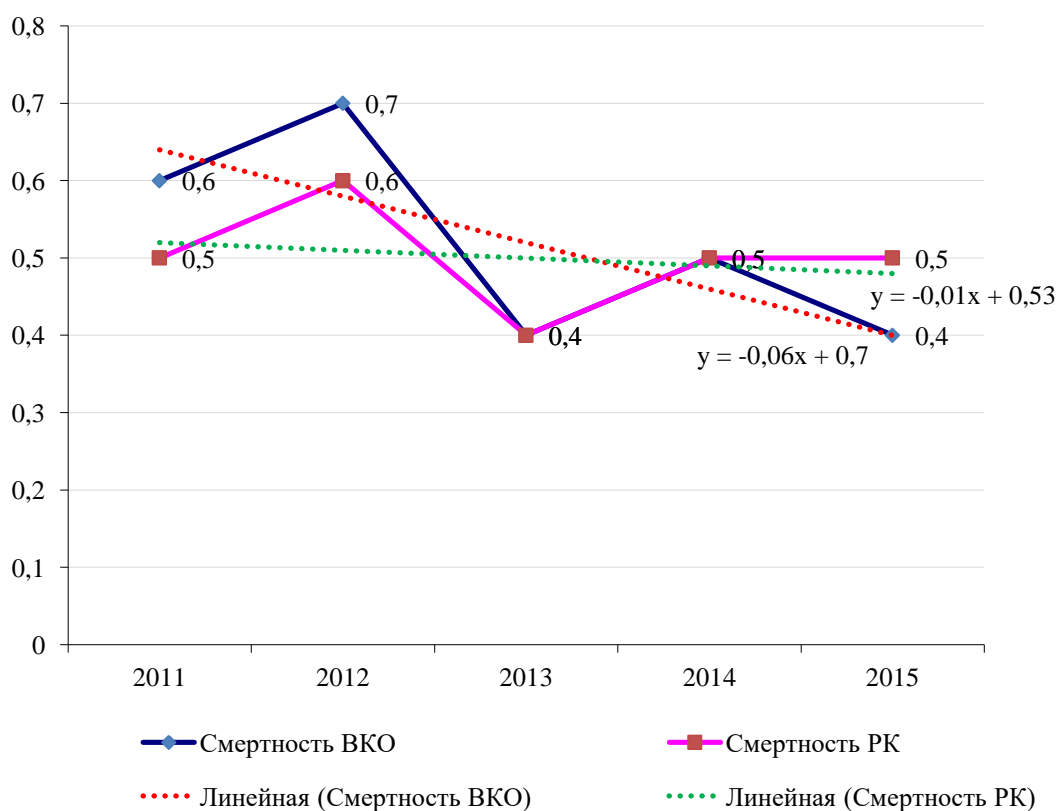


Рисунок 5 – Грубый показатель смертности РЦЖ в РК и ВКО за 2011- 2015 годы (‰)

Анализ заболеваемости РЦЖ в зависимости от пола показал, что в 91% всех случаев РЦЖ обнаруживается у лиц женского пола (рисунок 6).

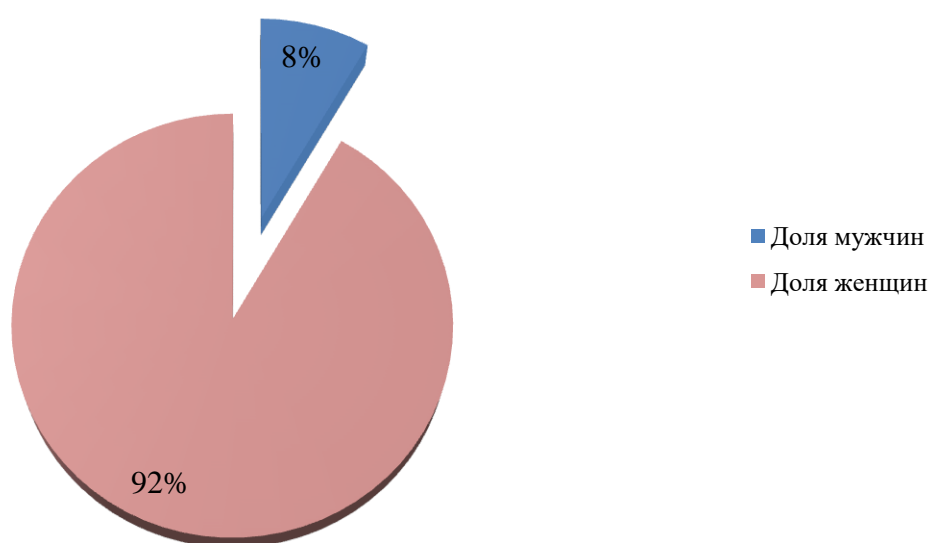


Рисунок 6 – Гендерное распределение встречаемости РЦЖ по полу в ВКО за 2011-2015 гг.

По результатам анализа средний возраст больных с впервые установленным диагнозом РЦЖ составил 54 ± 10 лет. Наибольший удельный вес диагноза РЦЖ в ВКО за период с 2014 по 2015 гг. приходился на группу 50-59 лет и составил 29,79% (рисунок 7).

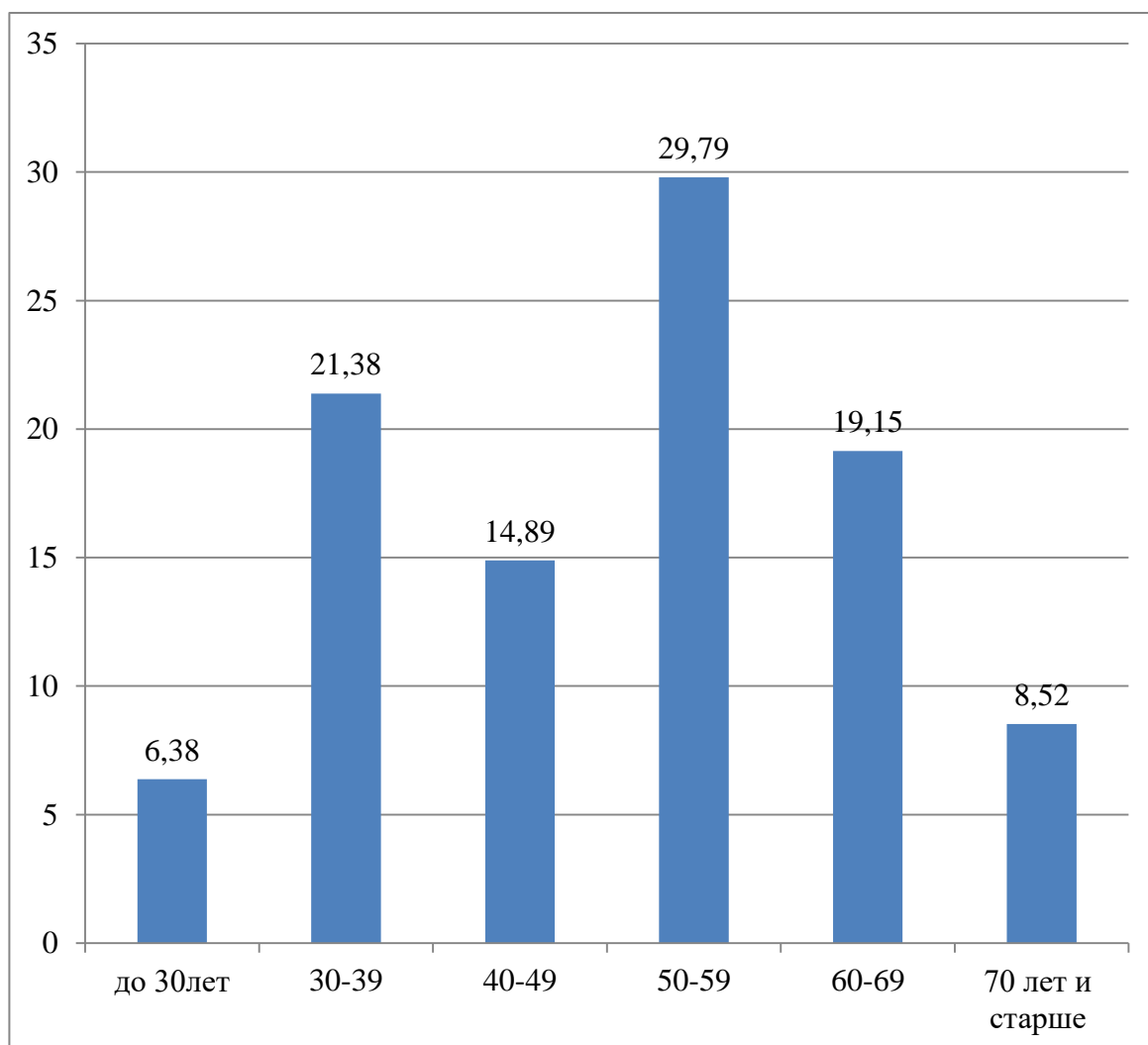


Рисунок 7 – Удельный вес больных РЦЖ по возрастным группам в ВКО за 2011-2015 гг.

Доля больных выявленных на ранней стадии (I-II St) РЦЖ составила 73,7% в 2011г и 79,1% в 2015г, а по ВКО этот показатель составил 68,3% в 2011 г. и 72,3% в 2015 г. Отмечается большая частота в выявлении I и II стадий заболевания, что связано, по-видимому, с более ранним диагностированием рака на этой стадии (рисунок 8). Объяснение этой тенденции, по-видимому, связано с введением обязательного цитологического исследования (с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии) всех узловых образований щитовидной железы.

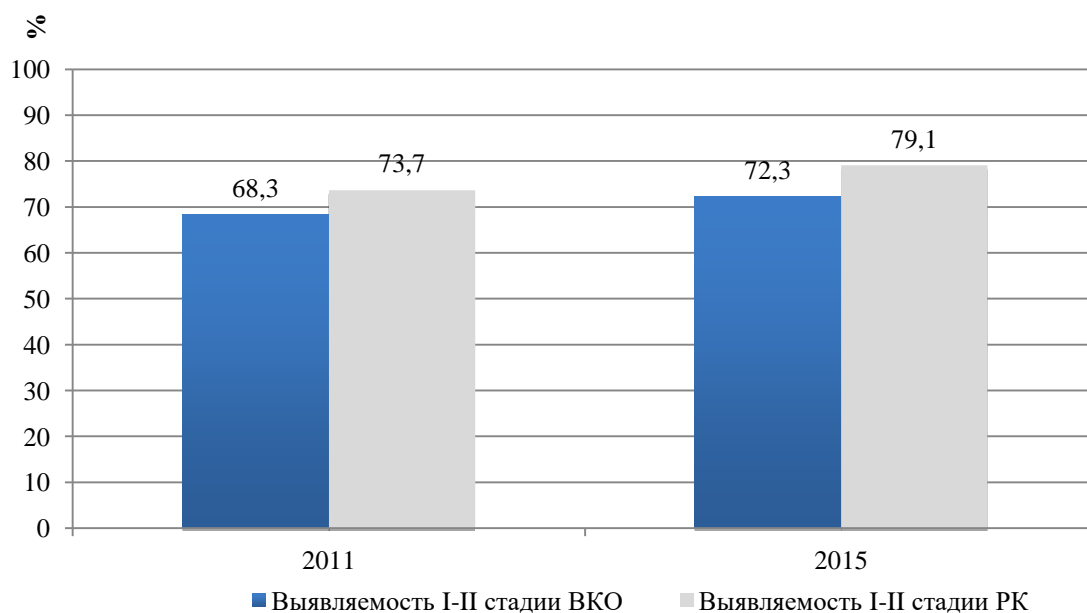


Рисунок 8 – Динамика удельного веса I-II стадий РЩЖ в РК и ВКО за 2011-2015 гг.

Удельный вес запущенных стадий (III-IV стадии) злокачественных новообразований щитовидной железы определяет картину поздней диагностики. Данный показатель по республике составил 26% в 2011 г и 20,9% в 2015 г., что демонстрирует картину снижения. По ВКО анализ показал аналогичную тенденцию к снижению с 31,7% в 2011 и 27,7% в 2015 г. (рисунок 9).

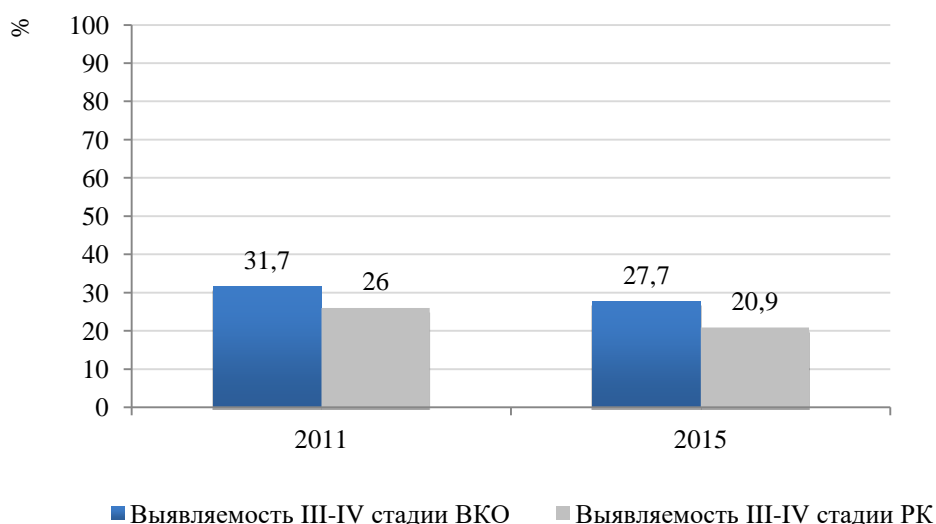


Рисунок 9 – Динамика удельного веса III-IV стадии РЩЖ в РК и ВКО за 2011-2015 гг.

При анализе распределения злокачественных новообразований по гистологической структуре было обнаружено, что в группе лиц (n=726), состоящих на учете с диагнозом рак щитовидной железы (МКБ-С73) в общем числе статистически значимо доминирует А-клеточная папиллярная карцинома – 85,63% (n=622), в меньшей степени распространены фолликулярный рак – 11,83% (n=86), С-клеточная медуллярная карцинома – 1,53% (n=11) и В-клеточная низкодифференцированная карцинома – 1,01% (n=7) ($\chi^2=1929,704$; D.f.=3; $p<0,001$) [183] (рисунок 10). Следует отметить, что все диагнозы были выставлены на ранних стадиях заболевания и прооперированы за исключением низко дифференцированной карциномы.



Рисунок 10 – Распределения злокачественных новообразований по гистологической структуре

Диагностика на ранних стадиях стала возможной с внедрением программ скрининга в районах, прилегающих к Семипалатинскому ядерному полигону. Множество людей все еще страдают от долговременных последствий испытаний ядерного оружия в Казахстане. По области морфологическая верификация диагноза РЩЖ за последние годы улучшилась и составляет 100,0%, по республике этот показатель 96,1%. В большинстве случаев РЩЖ диагностируется при обследовании пациентов с узловым зобом. В этиологической структуре узлового зоба на РЩЖ приходится 1-4 % случаев.

Причины всемирного роста заболеваемости РЩЖ остаются неясными. Природа этого события, скорее всего, многофакторная, в том числе обусловленная и большей частотой обнаружения. Увеличение заболеваемости также, вероятно, связано с ростом числа случаев папиллярного гистотипа и различиями в возрастных когортах. Увеличение заболеваемости раком щитовидной железы в данных регионах Казахстана может объясняться проживанием в эндемичной территории и возрастающего влияния антропогенных факторов: рост уровня промышленного производства, урбанизации и экологической обстановки местности [182, с. 84].

В последние годы наблюдается несомненный рост этого заболевания, что, по-видимому, связано с предшествующим радиационным воздействием на ткань ЩЖ в результате ядерных взрывов (бывший Семипалатинский полигон). Доказано, что радиация подавляет иммунитет и вызывает изменения в ткани щитовидной железы, и является основой для развития опухолевого процесса [52,р.39; 184-187].

По РК и ВКО и отмечен рост заболеваемости РЩЖ за 5 лет (2011-2015 гг.), что, видимо, может быть объяснено с экологической обстановкой и ростом урбанизации. В то же время, рост грубого показателя заболеваемости и снижение доли больных с запущенными формами РЩЖ могут свидетельствовать об улучшении инструментальных методов диагностики. Процент диагностики I-II стадий РЩЖ 72,3% ниже среднереспубликанского (79,1%), что, вероятно, связано либо с более ограниченными возможностями ранней диагностики раков на этой стадии либо менее эффективным УЗИ скринингом РЩЖ в ВКО [188].

В сравнении полученных данных следует отметить, что в России за 2015 году показатели заболеваемости РЩЖ среди мужчин составили 1,97 населения, среди женщин 8,38 на 100 тысяч населения (оба пола 5,47), а показатели смертности 0,39 и 0,41 на 100 тысяч населения (оба пола 0,4) соответственно, что свидетельствует о аналогичных тенденциях развития эпидемиологических индикаторов относительно РЩЖ [189].

Отмечается большая частота обнаружения I и II стадий заболевания по РК и ВКО, что связано, по видимому, с более ранним диагностированием раков на этой стадии. Объяснение этой тенденции мы видим в введении в протокол исследования обязательного цитологического исследования (с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии) всех узловых образований щитовидной железы [190].

По данным различных авторов, в возникновении РЩЖ важную роль играет пол пациента. Есть предположение, что гормональный статус женщин может способствовать канцерогенезу, участвуя в регуляции генов, включающихся в его развитие, у женщин РЩЖ встречается в 3–10 раз чаще, чем у мужчин [191-193]. В ВКО на одного мужчину приходится 12 заболевших женщин [180, с. 93].

Риск заболеть РЩЖ с возрастом увеличиваются. Поскольку возраст является биологически провоцирующим фактором процесса малигнизации. Возрастной интервал состоящих на учете больных составляют лица от 19 до 97 лет. Однако, чаще всего РЩЖ диагностировали в возрастном интервале от 41 года до 60 лет, что составило около 70% всех зарегистрированных случаев заболевания в ВКО. На сегодняшний день, онкологическая служба ВКО придает важное значение диагностике РЩЖ, что видно по росту числа вновь выявленных случаев РЩЖ и снижении доли запущенных форм. При установлении диагноза широко используется цитологическое исследование, УЗИ, КТ, МРТ, радиоизотопное сканирование, ангиография, определение опухолевых маркеров. Учитывая определенные трудности в диагностике и

определение местной распространенности рака щитовидной железы и лечение злокачественных новообразований требуют более пристального внимания.

Учитывая установленную высокую частоту узлообразования ($24,3\% \pm 0,81$ — $28,3\% \pm 0,9$) можно сделать вывод о значимой роли ионизирующего излучения в формировании патологии щитовидной железы у населения обследованного региона [194].

Более детальное изучение патогенетических основ патологического влияния ионизирующей радиации на состояние щитовидной железы в обследуемом регионе представляется возможным силами молекулярно-генетического анализа, что позволит обеспечить раннюю диагностику и профилактику тиреоидной патологии в исследуемом регионе [179, с. 80].

3.2 Анализ генетических ассоциаций NKX2-1(rs944289) и FOXE1(rs 965513) у населения казахской популяции с папиллярным раком щитовидной железы

3.2.1 Клинико-лабораторные характеристики групп исследования

Для выполнения следующего этапа исследования по обнаружению частоты встречаемости и генетических ассоциаций NKX2-1(rs944289) и FOXE1(rs 965513) у населения казахской популяции с папиллярным раком щитовидной железы нами были отобраны 1493 лиц казахской национальности, из них 485 человек с ПРЩЖ (возрастной диапазон 18-87 лет, 90,3% женщин) составили основную группу и 1008 здоровых лиц, представляющих контрольную группу (возраст от 15 до 83 лет, 78,7% женщин).

Набор участников исследования проводилось методом сплошной выборки путем экспедиционных выездов в три региона Казахстана: северной части г.Астана, южной части г.Алматы и восточной части – городов ВКО Семей и Усть-Каменогорск в 2014-2016 годах. Для оценки гормональной функции щитовидной железы производилось количественное определение тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (св.Т₄), антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) хемилюминесцентным методом фирмы с использованием набора реагентов фирмы «Hoffman Le Roshe», Швейцария в биохимической лаборатории консультативно-диагностической лаборатории «In vitro» г.Семей. Иммуноферментный анализ является высокоточным методом диагностики с высокой чувствительностью и специфичностью. В качестве нормативов использовали данные, представленные в аннотациях.

В таблице 2 приведены референсные значения показателей гормонального и биохимического исследования функции щитовидной железы.

Таблица 2 – Референсные показатели функции ЩЖ

Показатель	Сокращенное название	Норма
Тиреотропный гормон	ТТГ	0,23-3,4 мкМЕ/мл
Свободный тироксин	св.Т ₄	40,0-120,0 нмоль/л
Антитела к тиреопероксидазе	АТ-ТПО	> 100 Ед/мл

На основании результатов определения гормонов регулирующих тиреоидную функцию, установлены количественные показатели функционального состояния ЩЖ у лиц основной и контрольной групп (таблица 3).

Таблица 3 – Функциональное состояние ЩЖ в группах исследования, n=1493

	ТТГ	Св Т4	Ат ТПО
ПРЩЖ, n=485	1,64±1,11	14,88±3,23	40,26±21,75
Контроль, n=1008	1,86±0,99	15,71±3,54	30,80±24,16
t-критерий	3,403	3,987	-6,948
p-оценка	0,001	0,001	0,001

Не смотря на наличие статистически значимых различий в группах по средним показателям функции, нами было выявлено, что у подавляющего большинства обследованных лиц функция ЩЖ не была нарушена (у 77,73 %, 377 человек в основной группе, у 90,67%, 914 человек в контрольной группе).

3.2.2 Анализ связи онкогенов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции

Непосредственно генетический блок исследований был посвящен анализу связи онкогенов FOXE1 и NKX 2-1 с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции. Прежде всего, следует сказать, что NKX2-1 (NK2 homeobox 1), является первым щитовидно-транскрипционным фактором (TTF1-Thyroid Transcription Factor1) и FOXE1 (Forkhead box factor E1) также называют вторым щитовидно-транскрипционным фактором (TTF2-Thyroid Transcription Factor 2) убедительные кандидаты, связанные с дифференцированными злокачественными новообразованиями щитовидной железы в различных популяциях из-за их роли в развитии щитовидной железы и ответа на повреждение ДНК [77,р. 22].

Нами было проведено молекулярно-генетическое исследование на полиморфизмы генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 у всех участников исследования. Материалом для молекулярно-генетического исследования на наличие мутаций служила цельная кровь исследуемых. Для генотипирования из крови успешно выделено ДНК 1493 участников: у 485 лиц с РЩЖ и у 1008 условно здоровых лиц (рисунок 8). Для решения поставленной задачи проводился сравнительный анализ распространенности аллелей полиморфизма FOXE1 rs965513 (генотипы GG, GA и AA) и NKX2-1 rs944289 (генотипы CC, CT и TT) у больных с ПРЩЖ и в контрольной группе здоровых людей казахской популяции.

Общая половозрастная характеристика групп исследования представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Половозрастная характеристика групп исследования, n=1493

	Случаи (ПРЦЖ)	Контроль (здоровые лица)
Количество наблюдений, абс.ч.	485	1008
Возрастной диапазон, лет	18-87	17-83
Средний возраст, лет	54,8±13,26	39,02±15,84
Мужчины, %	9,7	21,3
Женщины, %	90,3	78,7

Соотношение количества наблюдений в группах исследования примерно составило 1 случай к 2 контролям не подобранным по полу и возрасту. Минимальный и максимальный возраст исследуемых находился в эквивалентных границах, от 18 до 87 лет в группе случаев и от 17 до 83 лет в группе контролей. Средний возраст показал 54,8±13,26 и 39,02±15,84 лет соответственно. Превалирующую часть в группе больных ПРЦЖ составили женщины (90,3%) против числа лиц мужского пола (9,7%). В группе контролей, также большая часть наблюдений была представлена женщинами (78,7%) и менее трети составили мужчины (21,3%) [176, с.11].

Лог-схема количества исследуемых лиц, типированным по полиморфизмам целевых генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) представлена на рисунке 11. У всех участников исследования успешно выделено ДНК и проведено генотипирование.

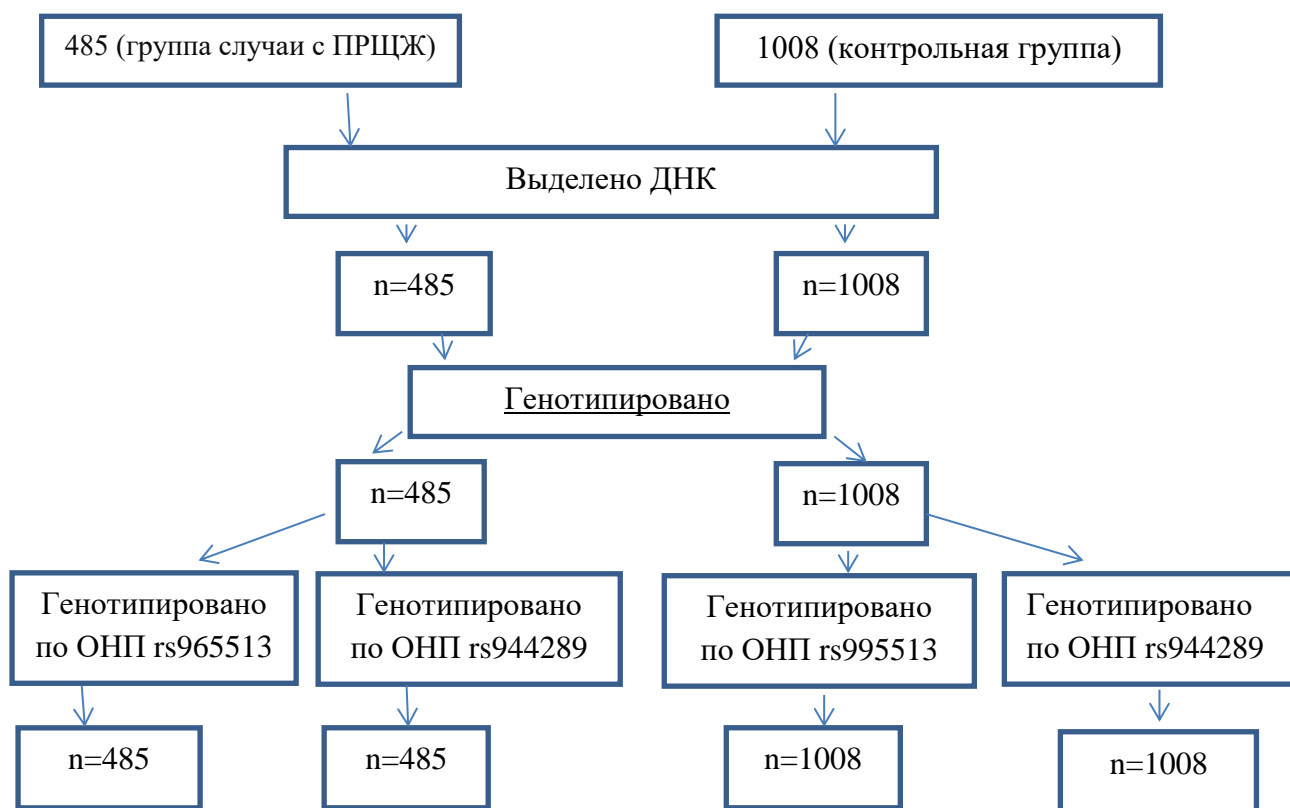


Рисунок 11 – Количество участников исследования генотипированных по полиморфизмам FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289), n=1493

Ассоциативный генетический анализ связи полиморфизмов rs965513 гена FOXE1 и rs944289 гена NKX2-1 с папиллярным раком щитовидной железы выполнен с помощью TaqMan технологии в режиме реального времени. Типичный результат генотипирования представлен на рисунке 12.

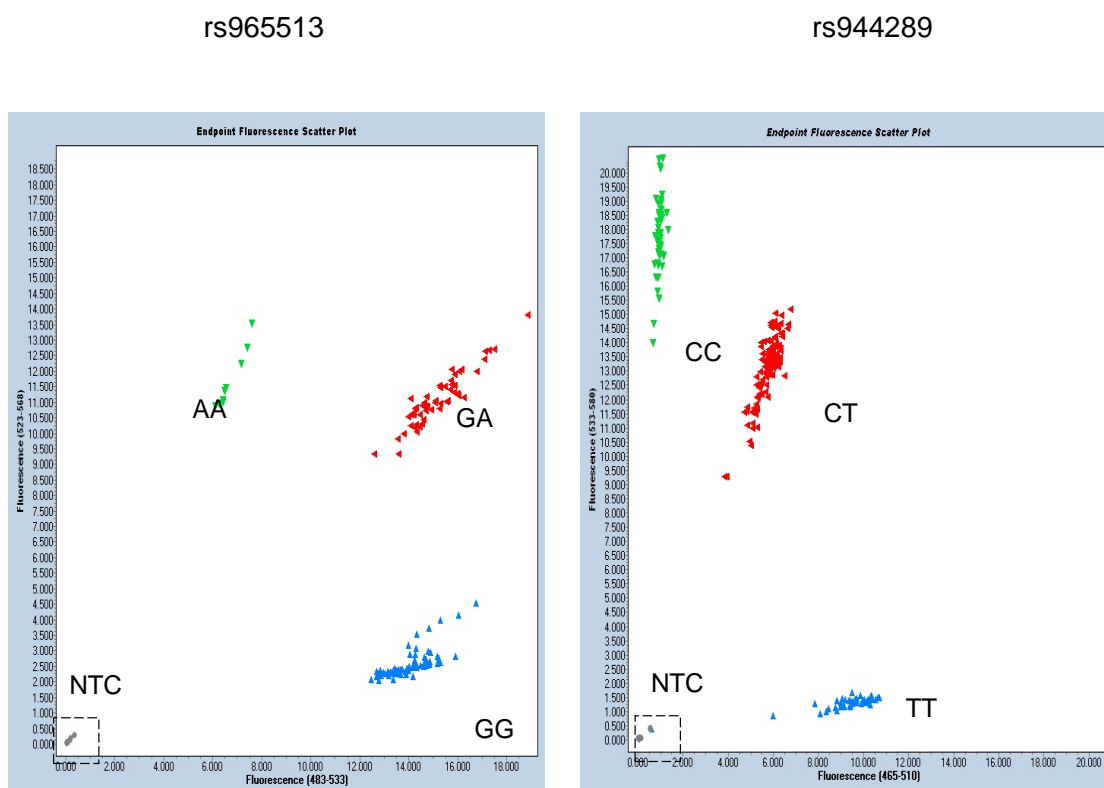


Рисунок 12 – Результаты генотипирования образцов ДНК полиморфизмов rs965513 гена FOXE1 и rs944289 гена NKX2-1 методом ПЦР в режиме реального времени

В таблице 4 представлены клинико-патологические характеристики случаев ПРЦЖ распределение основной группы по наиболее значимым показателям. Для характеристики случаев нами была применена стандартная система TNM (UICC 2009): размер первичной опухоли, поражение региональных лимфоузлов, наличие метастазов.

При анализе распределения основной группы по размеру первичной опухоли было выявлено, что из общего числа лиц исследуемых наиболее преобладали лица со стадией T2 это 264 человек (54,43%), следующие T1 и T3 98 (20,21%) и 85 (17,53%) соответственно. Меньше всех в группе оказалось лиц с T4 – 38 (7,84%). Большинство больных было без регионарного метастазирования N0 – 411(84,74%), а с N1 – 73(15,05%) и N2 – 1(0,21%). С отдаленными метастазами было выявлено всего 2 больных с ПРЦЖ M1 – 2 (0,41%) (таблица 5).

Таблица 5 – Характеристика основной группы по классификации TNM, n=485

Стадии заболевания	Характеристика	Абс.число (%)
Т	T0	-
	T1	98 (20,21%)
	T2	264 (54,43%)
	T3	85 (17,53%)
	T4	38 (7,84%)
N	N0	411 (84,74%)
	N1	73 (15,05%)
	N2	1 (0,21%)
M	M0	483 (99,5%)
	M1	2 (0,41%)

Определение частоты ассоциации ОНП FOXE1 rs965513 и НКХ2-1 rs944289 с папиллярным раком ЩЖ проводилось методом многофакторного логистического регрессионного анализа в мультипликативной модели наследования. В таблице 6 представлена связь в виде отношения шансов (ОШ) между вариантами однонуклеотидных полиморфизмов генов FOXE1 rs965513 и НКХ2-1 rs944289 и клиническими параметрами ПРЦЖ.

Таблица 6 – Связь между вариантами однонуклеотидных полиморфизмов FOXE1 rs965513[A*] и НКХ2-1 rs944289[T*] и клиническими параметрами ПРЦЖ, n = 485

	T0 – T2 против T3 – T4		N		Диаметр опухоли	
	ОШ	р- оценка	ОШ	р- оценка	ОШ	р- оценка
FOXE1 rs965513[A*]	0,953 [0,444- 2,046]	0,9019	1,102 [0,648- 1,872]	0,7202	1,099 [0,733- 1,647]	0,6476
НКХ2-1 rs944289[T*]	1,083 [0,419- 2,795]	0,8695	1,106 [0,570- 2,145]	0,7657	1,108 [0,673- 1,822]	0,6873
*-аллель риска, OR-odds ratio (отношение шансов), p – статистический уровень значимости						

3.2.3 Частота встречаемости аллелей полиморфизма гена FOXE1 (rs965513) в казахской популяции

Распределения частот полиморфизма FOXE1 rs965513 в группе ПРЦЖ и группе контролей, представленных здоровыми лицами статистически значимо отличалось ($\chi^2=100,09$; D.f.=2; p=0,000) [176, с.12]. В группе случаев ПРЦЖ более, чем в три раза чаще встречался генотип AA (17,5%) против группы

контролей (5,1%). В группе случаев встречалось в 44,5% наблюдений носительство генотипа GA и в группе контролей в 33,5%. Вариант GG встречался меньше у пациентов с ПРЦЖ (37,9%) по сравнению с группой контролей (61,4%) (таблица 7) [176, с.12].

Таблица 7 – Частота полиморфизма FOXE1 rs965513 в группах исследования, n=1493

Полиморфизм FOXE1 rs965513	ПРЦЖ, абс. число (%)	Здоровые, абс. число (%)	χ^2	D.f.	p-оценка
GG	184 (37,9)	619 (61,4)	100,09	2	0,000
GA	216 (44,5)	338 (33,5)			
AA	85 (17,5)	51 (5,1)			
Всего	485 (100,0)	1008 (100,0)			

Примечание - χ^2 –Хи-квадрат, D.f. - Degrees of freedom (степени свободы), p – статистический уровень значимости

Как представлено в таблицах 8 и 9 распределение генотипов в группе случаев и контролей соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Таблица 8–Тест Харди-Вайнберга (HWE) для случаев (тест хи-квадрат, d.f. = 1)

Генотипы	Случаи	HWE	χ^2	p
	n = 485			
Генотип A/A	0,175	0,158	2,41	0,12
Генотип A/G	0,445	0,479		
Генотип G/G	0,379	0,362		

Примечание - χ^2 –Хи-квадрат, p – статистический уровень значимости

Таблица 9 – Тест Харди-Вайнберга для контролей (тест хи-квадрат, d.f. = 1)

Генотипы	Контроли	HWE	χ^2	p
	n = 1008			
Генотип A/A	0,051	0,048	0,30	0,58
Генотип A/G	0,335	0,341		
Генотип G/G	0,614	0,611		

Примечание - χ^2 –Хи-квадрат, p – статистический уровень значимости

Таким образом, отклонение от равновесия Харди–Вайнберга по распределению генотипов FOXE1 rs965513 не было выявлено ни в одной

группе ($p = 0,12$ и $p = 0,58$), что указывает на отсутствие явных технических нарушений в результатах генотипирования и возможности экстраполяции результатов на последующие поколения.

Выявлено преобладание аллеля «А» у пациентов с РЦЖ папиллярного гистотипа (39,79%) по сравнению с группой здоровых контролей (21,82%). Носительство аллеля «G» наиболее часто обнаруживалось у здоровых пациентов (78,17%), чем в группе больных ПРЦЖ (60,21%), что может свидетельствовать о потенциальной протективной роли (рисунок 13).

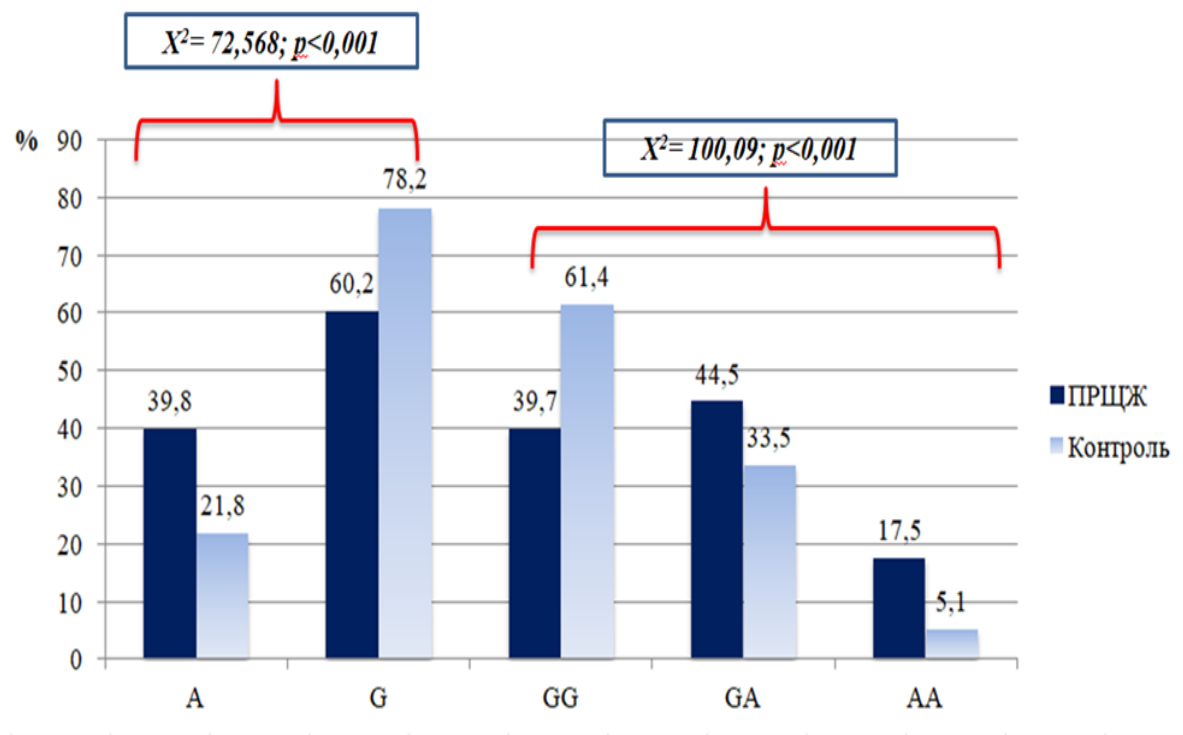


Рисунок 13 – Распределение аллелей и генотипов FOXE1 rs965513 в группах исследования, n=1493

Чтобы определить частоту носительства FOXE1 rs965513 с вероятным развитием ПРЦЖ нами была выполнена калькуляция показателя отношения шансов (ОШ) в группах папиллярным раком железы и здоровых лиц (таблица 10). Мы получили результат ОШ для казахской популяции – 2,367 (95% CI:2,0044-2,796), что свидетельствует об увеличении шансов развития ПРЦЖ у носителей аллеля «А» FOXE1 rs965513 в 2,367 раза.

Во время проведения сравнения ассоциации носительства FOXE1 rs965513 и ПРЦЖ с другими популяциями, такими как японцы, исландцы, немцы мы не выявили значимые популяционные различия, потому что в каждом исследовании данный ген, аналогично нашей работе, выступает в качестве фактора риска канцерогенеза ЦЖ папиллярного гистотипа. (ОШ>1) (таблица 10) [176, с.13; 178, с.434].

Таблица 10 – Ассоциация rs965513 (9q22.33, FOXE1) с ПРЦЖ в казахской и других популяциях [11,с.646; 12,с.460; 65,с. 845]

Популяция	Частота аллеля «А» FOXE1 rs965513		ОШ	95% ДИ		р-оценка
	ПРЦЖ	Здоровые		Верхний	Нижний	
Казахи	0,3979	0,2182	2,367	2,0044	2,796	3,26E-23
Японцы	0,0899	0,0555	1,6829	1,3254	2,1369	2,17E-05
Исландцы	0,490	0,352	1,77	1,57	2,0	6,8E-20
Немцы	0,454	0,356	1,51	1,16	1,97	0,003

Примечание - ОШ – отношение шансов, 95% ДИ – 95% доверительный интервал, р – статистический уровень значимости

3.2.4 Частота встречаемости аллелей полиморфизма НКХ2-1 (rs 944289) в казахской популяции

Распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера НКХ2-1 (rs 944289) в сравниваемых группах статистически значимо отличались ($\chi^2=100,09$; D.f.=2; $p=0,000$). В группе случаев ПРЦЖ более, чем в полтора раза чаще встречался генотип ТТ (30,5%) против группы контролей (20,7%). Носительство генотипа СТ в группе случаев встречалось в 49,7% наблюдений и в группе контролей в 50,4%. Вариант СС имел меньшую частоту встречаемости в группе лиц с ПРЦЖ (19,8%) по сравнению с группой контролей (28,9%) (таблица 11).

Таблица 11 – Частота полиморфизма НКХ2-1 (rs944289) в группах исследования

Полиморфизм НКХ2-1 (rs944289)	ПРЦЖ, абс. число (%)	Здоровые, абс. число (%)	χ^2	D.f.	р-оценка
СС	96 (19,8)	291 (28,9)	100,09	2	0,000
СТ	241 (49,7)	508 (50,4)			
ТТ	148 (30,5)	209 (20,7)			
Всего	485 (100,0)	1008 (100,0)			

Примечание - χ^2 – Хи-квадрат, D.f. - Degrees of freedom (степени свободы), р – статистический уровень значимости

Как представлено в таблицах 12 и 13 распределение генотипов в группе случаев и контролей соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Таблица 12 – Тест Харди-Вайнберга для случаев (тест хи-квадрат, d.f. = 1)

Генотипы	Случаи	HWE	χ^2	p
	n = 485			
Генотип C/C	0,198	0,199	0,01	0,91
Генотип C/T	0,497	0,494		
Генотип T/T	0,305	0,306		
Примечание - χ^2 – Хи-квадрат, p – статистический уровень значимости				

Таблица 13 – Тест Харди-Вайнберга для контролей (тест хи-квадрат, d.f. = 1)

Генотипы	Контроли	HWE	χ^2	p
	n = 1008			
Генотип C/C	0,289	0,292	0,22	0,64
Генотип C/T	0,504	0,497		
Генотип T/T	0,207	0,211		
Примечание - χ^2 – Хи-квадрат, p – статистический уровень значимости				

Нами также не было выявлено отклонения от равновесия Харди—Вайнберга по распределению генотипов НКХ2-1 (rs944289) в группах случаев и контролей (p=0,91 и p=0,64), что указывает на чистоту результатов генотипирования и возможности экстраполяции результатов на последующие поколения в изучаемой климато-географической местности и аналогичного генофонда.

Результаты анализа распределения аллелей в группах исследования показали преобладание аллеля «Т» в группе ПРЦЖ (55,36%) по сравнению с группой здоровых контролей (45,93%). Как следствие, распределение аллеля «С» значительно чаще встречалось в группе здоровых лиц (54,07%) по сравнению с группой больных ПРЦЖ (44,64%) (рисунок 14).

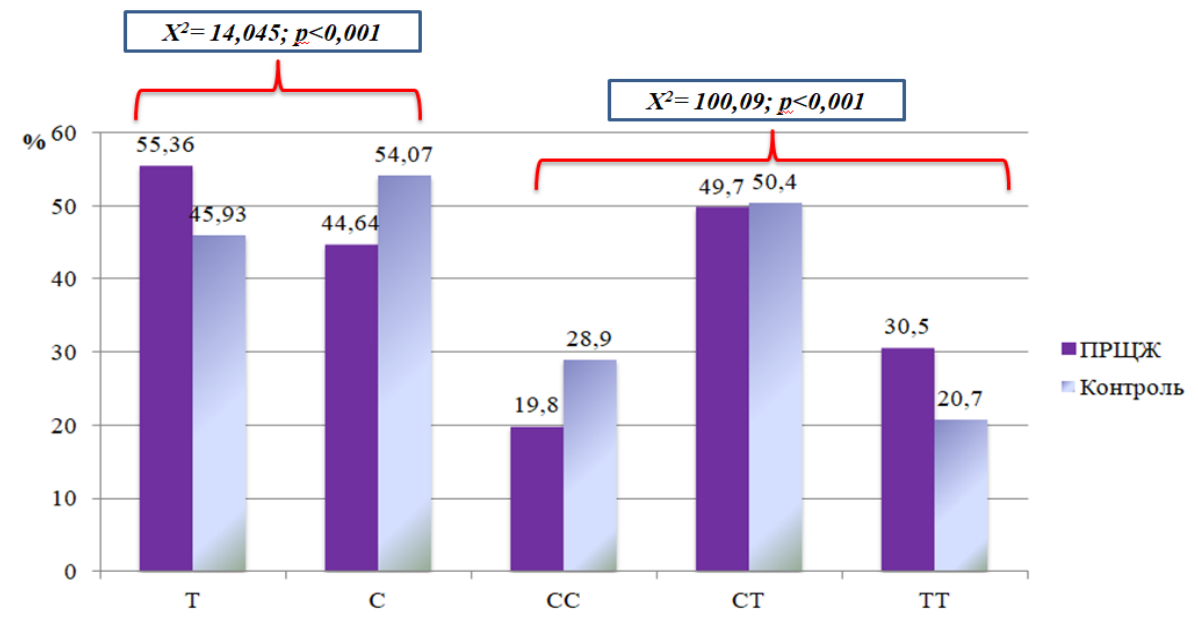


Рисунок 14– Распределение аллелей и генотипов NKX2-1 (rs944289) в группах исследования, n=1493

Для определения степени ассоциации NKX2-1 (rs944289) с ПРЦЖ нами также рассчитывалось ОШ в группах ПРЦЖ и здоровых лиц (таблица 14). Согласно интерпретации данных которого было обнаружено, что для казахской популяции ОШ составляет 1,46 (95% CI:1,2515-1,7027), и это говорит о вероятности манифестации ПРЦЖ у носителей аллеля «Т» NKX2-1 (rs944289) в 1,46 раз.

Мы не выявили характерные популяционные отличия, когда сравнивали ассоциации носительства NKX2-1 (rs944289) в таких популяциях как японцы, исландцы, немцы, так как во всех трудах, аналогично нашей работе этот ген позиционировался в роли фактора риска развития ПРЦЖ (ОШ>1) (таблица 14) [178, с.434].

Таблица 14 – Ассоциация rs944289 (14q13,3 NKX2-1) с ПРЦЖ в казахской и других популяциях [11,р. 646; 12,р.460; 65,р. 845]

Популяция	Частота аллеля «Т» NKX2-1 (rs944289)		ОШ	95% ДИ		р-оценка
	ПРЦЖ	Здоровые		Верхний	Нижний	
Казахи	0,5536	0,4593	1,46	1,2515	1,7027	1,33E-06
Японцы	0,4653	0,4109	1,2479	1,0909	1,4279	0,0014
Исландцы	0,644	0,558	1,44	1,26	1,63	2,5E-08
Немцы	0,411	0,411	1,00	0,77	1,30	0,95

Примечание - ОШ – отношение шансов, 95% ДИ – 95% доверительный интервал, р – статистический уровень значимости

В парном анализе взаимодействия между двумя ОНП рисков (rs965513A и rs944289T), связанными с ПРЦЖ методом логистического регрессионного анализа в мультипликативной модели с коррекцией на возраст и пол, нами было выявлено, что комбинация двух рисков аллелей (rs965513A и rs944289T: ОШ=3,13) прямопропорционально повышает риск развития ПРЦЖ по сравнению с комбинациями отсутствия риска (rs965513G и rs944289T: ОШ=1,91) и гетерозиготного носительства (rs965513GA и rs944289T: ОШ=2,33). Взаимодействие между rs965513 (9q22, расположенный рядом с FOXE1) и rs944289 (14q13.3 NKX2-1, NK2 окрестность homeobox 1) продемонстрировано в таблице 15.

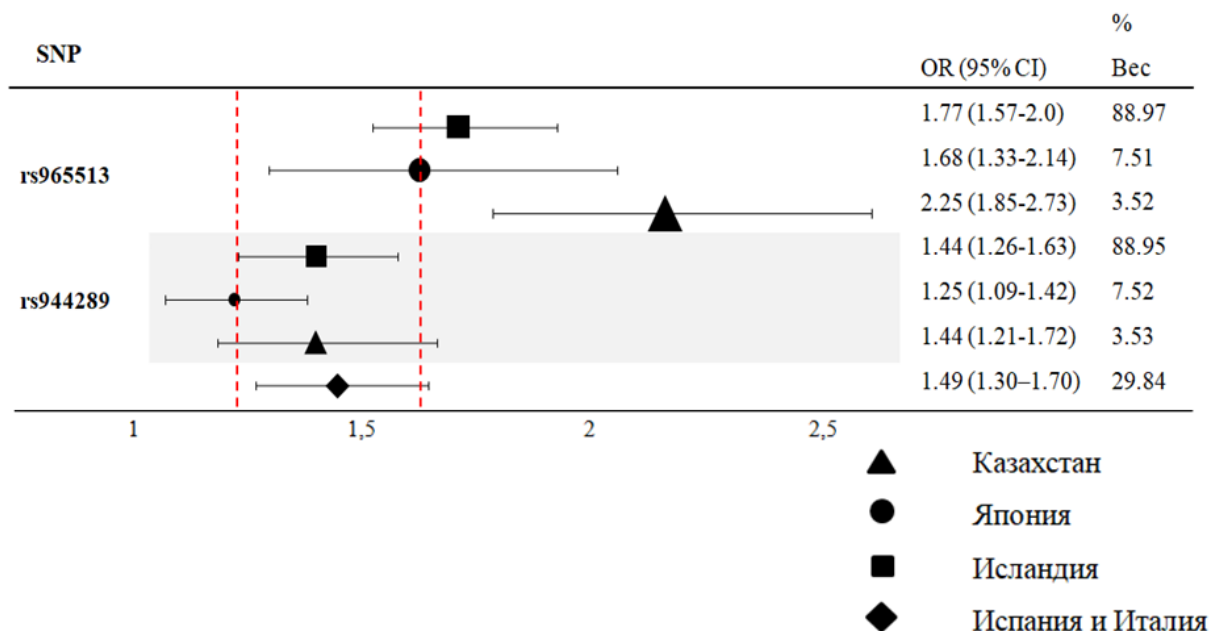
Таблица 15 – Анализ риска развития ПРЦЖ, связанный с различной комбинацией генотипов (диплотипы) в rs965513 и rs944289, n = 485

rs965513	rs944289	Частота (%)		ОШ (95% ДИ)	*p-оценка
		Случаи	Контроли		
GG	CC	38 (20,7)	184 (29,7)	Референсная группа	
	CT	89 (48,4)	293 (47,3)	1,46 (0,95-2,23)	0,84
	TT	57 (31,0)	142 (22,9)	1,91 (1,19-3,05)	0,007
GA	CC	39 (18,1)	88 (26,0)	Референсная группа	
	CT	115 (53,2)	192 (56,8)	1,32 (0,85-2,06)	0,22
	TT	62 (28,7)	58 (17,2)	2,33 (1,38-3,93)	0,002
AA	CC	19 (22,4)	19 (37,3)	Референсная группа	
	CT	37 (43,5)	23 (45,1)	1,64 (0,71-3,79)	0,25
	TT	29 (34,1)	9 (17,6)	3,13 (1,16-8,47)	0,025
* Логистический регрессионный анализ в мультипликативной модели с коррекцией на возраст и пол. Аллели риска – rs965513A и rs944289T. Аллель rs965513G и rs944289C – референсная категория (минимальный риск)					

С целью изучения популяционных отличий нами был проведен мета-анализ четырех исследований, посвященных оценке связи ОНП rs965513 и rs944289 с ПРЦЖ. Нами были вычислены объединенное ОШ и соответствующий 95% ДИ.

Все исследования генетических ассоциаций по полиморфизмам rs965513 и rs944289 и ПРЦЖ проводились с помощью поиска в базах данных (PubMed, Embase, ISI Web of Knowledge, Science Direct и Cochrane) с использованием ключевых слов «рак щитовидной железы» в качестве свободного текстового слова в сочетании с «9q22», «14q13», «rs965513», «rs944289», «полиморфизм» или «восприимчивость», «рак щитовидной железы». Связанные термины были использованы в базе данных PubMed. Общегеномные исследования ассоциаций (GWAS) выявили ассоциации между полиморфизмами rs965513 «9q22» и

rs944289 «14q13» и раком щитовидной железы в разных популяциях [11,р. 646; 12,р.460; 65,р. 845]. В ходе анализа мы обнаружили, что по сравнению с европейской и азиатской популяциями риск возникновения ПРЦЖ в казахской популяции значительно выше (рисунок 15).



Примечание - OR – англ. отношение шансов, 95% CI – англ. 95% доверительный интервал, SNP – однонуклеотидный полиморфизм

Рисунок 15 – Мета-анализ между европейской и азиатской популяциями, [11,р.646; 12,р.460; 62,р.4;]

Значительная связь между ОНП rs965513 и rs944289 и ПРЦЖ была обнаружена в популяциях Исландии и Японии, Испании и Италии [11,р.646; 12,р.460; 62,р.4], возможно, из-за небольших размеров выборки и / или различия в распределении аллелей среди разных популяций, фенотипической гетерогенности и дизайна исследования. Однако информация о связи генов rs965513 и rs944289 раком щитовидной железы не является окончательной. Целью нашего исследования было определение, являются ли эти локусы фактором риска развития рака щитовидной железы в казахской популяции путем выявления частот аллелей полиморфизмов rs965513 и rs944289.

При анализе распределения носительства FOXE1 в группах в зависимости от гендерной принадлежности в нашей работе мы выявили, что наиболее часто ПРЦЖ страдают лица женского пола (90,3%). Есть предположение, что гормональный статус женщин может способствовать канцерогенезу, участвуя в регуляции генов, включающихся в его развитие. Аналогичные результаты были получены в исследованиях [71,р.46; 189].

В различных популяционных исследованиях (GWAS SNP) вблизи FOXE1 rs965513 гена при изучении восприимчивости к ПРЦЖ была обнаружена связь с носительством минорного аллеля «А». В нашем исследовании было выявлено увеличение доли аллеля «А» в 1,8 раза у лиц с ПРЦЖ (39,7%) по сравнению с контрольной группой (21,8%), ведущее к увеличению его носительства, как в гомозиготном состоянии (генотип AA), так и гетерозиготном (генотипа GA) [11,р.646; 12,р.460; 65,р. 845].

Для гена NKX2-1 (rs944289) выявление минорного аллеля «Т» рассматривался как связь с ПРЦЖ [11,р.646; 12,р.460; 65,р. 845].

В нашей работе при сравнительном анализе частот выявлены изменения в виде накопления аллелей Т и генотипов ТТ на фоне уменьшения содержания аллелей С и генотипов СС в группе лиц с ПРЦЖ относительно контрольной группы (рисунок 13). Так, в группе с ПРЦЖ относительно контрольной доля аллеля Т было чуть более 1 раза (55,36% против 45,93%), а генотипа ТТ — в 1,5 раза (30,5% против 20,7%). Доля аллеля С, наоборот, уменьшилась в чуть более 1 раза (44,64% против 54,07%), а генотипа СС почти на 1,5 раза (19,8% против 28,9%). Различия статистически значимы. Для расчета отношения шансов сравнивались доли генотипа ТТ с объединенными долями генотипов ТС и СС, а шансов - доли генотипа ТТ с объединенными долями генотипов ТС и СС. Основанием для такого объединения послужило наличие обратной зависимости между содержанием аллеля Т, генотипа ТТ относительно аллеля С, генотипов СТ и СС в сравниваемых группах. Резюмируя данные, можно сделать вывод: гомозиготное носительство аллеля Т — генотипа ТТ, способствует развитию ПРЦЖ (OR = 1,46; 95%-ный CI = 1,2515-1,7027), носительство генотипов СС и СТ препятствует развитию изучаемой патологии.

При сравнительном анализе распределения генотипов FOXE1 нами было выявлено, что в группе ПРЦЖ число носителей GA генотипа выше (44,5%), чем в контрольной (33,5%). А максимальное накопление носителей GG генотипа в контрольной группе составляет (61,4%).

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.

При рассмотрении результатов анализа распределения аллеля «А» нами была найдена большая частота в группе ПРЦЖ (39,8%) относительно контрольной группы (21,8%). Содержание аллеля G в группе ПРЦЖ было относительно меньше – 60,2% против 78,2% в контрольной группе. После чего нами было проведено объединение генотипов для расчета шансов AA + GA против GG. На основании полученных данных мы пришли к заключению, что носители генотипов AA и GA FOXE1 имеют повышенный риск развития

ПРЦЖ 2,367 (95% CI:2,0044-2,796). Предполагаемый риск гомозиготных носителей rs965513 и rs944289 у лиц с двойным гомозиготным состоянием с аллелями риска имеет более чем в два раза больший риск по сравнению с индивидами, которые несут один аллель риска в одном локусе (4, 8-кратный и 3,2-кратный).

В нашем исследовании мы подтвердили связь rs965513 (9q22.33) и rs944289 (14q13.3) в относительно большой выборке из однородной казахской популяции [195-198].

Исследованные аллели риска, предрасполагающие к РШЖ, не были связаны с большим диаметром опухоли, более высокой степенью мультифокальности и более продвинутой стадией N в настоящем исследовании. Тем не менее, в других опубликованных данных эти ассоциации были лишь умеренно обнаружены [199-203].

Результаты показывают, что частота «А» аллеля FOXE1 (rs965513) и частота «Т» аллеля NKX2-1 (rs944289) в казахской популяции занимают промежуточное положение между типичными азиатскими и европейскими популяциями, что согласуется с ранее проведенными популяционными исследованиями в казахской популяции [204]. По данным нашего исследования аналогично другим авторам мы пришли к заключению, что полиморфизмы генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 являются предрасполагающими генами риска развития ПРЦЖ в различных этнических группах [11,р. 646; 12,р.460; 62,р. 1000637; 65,р. 845]. Таким образом, частота распространения патологических полиморфизмов генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 при папиллярных карциномах обследованных нами пациентов показывает промежуточное значение в сравнении с другими популяциями, что может быть частично связано с относительно небольшим числом опухолей, исследованных в настоящей работе.

Результаты проведенного нами молекулярно-генетического исследования доказали, что для папиллярного рака щитовидной железы среди казахской популяции существуют такие факторы, как генетические полиморфные маркеры. Во всяком случае, полученные результаты позволяют рассматривать полиморфизмы генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289, как молекулярно-генетические предикторы при канцерогенезе ПРЦЖ.

Таким образом ранняя диагностика злокачественных новообразований ЩЖ является одним из основных факторов, влияющих на прогноз жизни больных с РЦЖ. Семейная агрегация заболеваний щитовидной железы и рака щитовидной железы, даже в присутствии широко различной дозы излучения показывают, что молекулярно-генетические факторы могут способствовать риску папиллярного рака щитовидной железы.

Ген FOXE1 (rs965513), кодирующий щитовидно-специфический фактор транскрипции, и ген NKX2-1 rs944289, который является еще одним транскрипционным фактором щитовидной железы (ЩТФ-ТТФ), играют важную роль в морфогенезе щитовидной железы и в последнее время являются

наиболее значимыми генетическими предикторами, связанными с риском развития спорадического ПРЦЖ в различных популяциях.

Взаимодействие генов FOXE1 и NKX2-1 было показано ранее в исследованиях GWAS для спорадического ПРЦЖ, также как и для радиационно связанных ПРЦЖ в европейских популяциях. Отсутствие значимого взаимодействия между изучаемыми ОНП и индивидуальным стабильным уровнем потребления йода может быть связано с ограниченной статистической мощностью исследований, чтобы обнаружить их.

По данным литературы, излучение и носительство неблагоприятных полиморфизмов генов предрасположенности увеличивают риск ПРЦЖ.

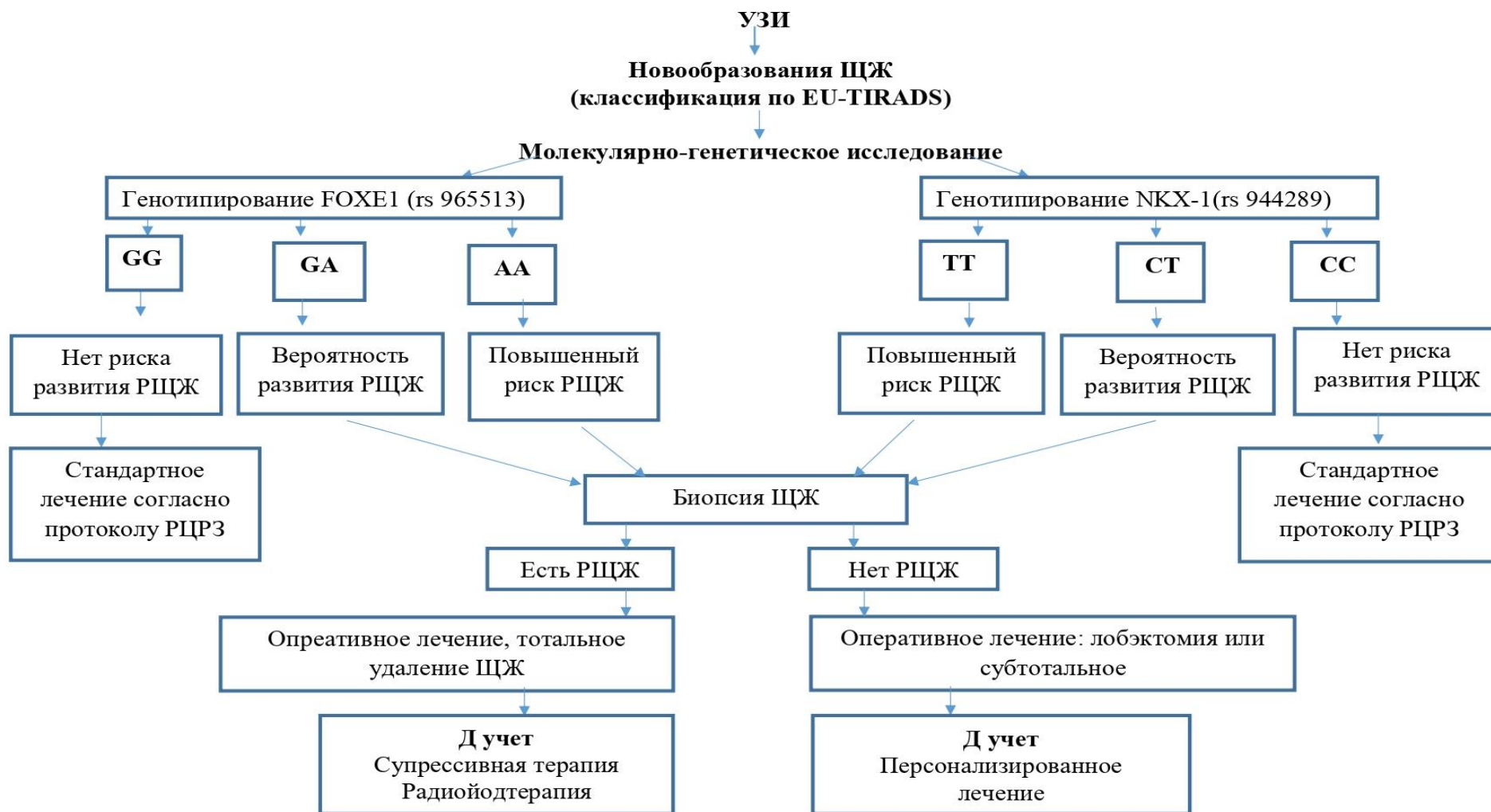
Наблюдается статистически достоверная разница между носителями благоприятных и неблагоприятных генотипов при воздействии радиации в возникновении ПРЦЖ, также у носителей неблагоприятных аллелей генов предрасположенности увеличивается абсолютный риск из-за данной дозы облучения.

В случае ОНП ПРЦЖ, это может быть связано с пониженной эффективностью репарации двухцепочечных перерывов в ДНК, вызванной радиацией. Дальнейшие молекулярно-генетические исследования для выяснения отношения между изменениями последовательности в гене FOXE1 и эффекта ионизирующего излучения, показывают участие в расширении полиаланинового тракта FOXE1 в восприимчивости к ПРЦЖ. В заключение, мы должны идентифицировать новые соматические мутации в гене FOXE1 при ПРЦЖ и показать, что эти мутации ухудшают транскрипционную функцию.

Полученные данные укрепляют связь между двумя генами FOXE1 и NKX2-1 и раком щитовидной железы и предполагают, что мутационная инактивация этих генов может способствовать туморогенезу в подгруппе рака щитовидной железы и, что они функционируют как генетический фактор риска связанные с восприимчивостью к папиллярному раку щитовидной железы независимо от этнической принадлежности, вследствие отсутствия значимых популяционных отличий.

3.3 Алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований

Для своевременной диагностики рака щитовидной железы любое узловое образование в данном органе следует рассматривать как потенциальную опухоль. Для верификации диагноза диагностический комплекс должен включать обязательное ультразвуковое, морфологическое и молекулярно-генетическое исследование с определением однонуклеотидных полиморфизмов rs965513 гена FOXE1 и rs944289 гена NKX2-1. Многоэтапная диагностика позволяет в преобладающем большинстве наблюдений установить точный диагноз и в ряде наблюдений выявить начальные формы рака и позволит прогнозировать предрасположенность к развитию ПРЦЖ у коренного этноса Казахстана. Нами разработан и внедрен в практику алгоритм, позволяющий выявлять начальные формы рака ЩЖ у большинства больных (рисунок 16).



Алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований

В рамках данного алгоритма по маршруту пациенту с подозрением на патологию щитовидной железы (по данным жалоб, пальпации) или с выявленным во время скринингового обследования узловым новообразованием щитовидной железы диаметром (D) = > 1 см производится дифференцировка узловых образований щитовидной железы по системе TI-RADS, которая предложена и принята Американской и Европейской ассоциациями тиреологов. TIRADS - это Thyroid image reporting and data system (система отчетов и изображений щитовидной железы) используется для определения дальнейшей тактики ведения пациентов, у которых выявили узлы ЩЖ.

Анализ ультразвукового изображения ЩЖ по шкале TI-RADS предполагает выделение нескольких оценочных категорий по бальной системе [205]. Чем выше балл, тем выше риск развития злокачественной опухоли.

Мы в свою очередь рекомендуем проведение молекулярно-генетического исследования на определение маркеров риска ПРЩЖ полиморфизмов гена FOXE1 rs965513 и гена NKX2-1 rs944289. При обнаружении патологических аллелей в гомозиготном и гетерозиготном состоянии – FOXE1 rs965513:AA (риск выше в 2,37 раза по сравнению с остальными генотипами), GA (повышенный риск, есть вероятность развития ПРЩЖ) и NKX2-1 rs944289 – TT (риск выше в 1,46 раза по сравнению с остальными генотипами), CT (повышенный риск, есть вероятность развития ПРЩЖ) пациент расценивается, как потенциальный кандидат для более детальной диагностики на предмет выявления ПРЩЖ. В данном случае назначается проведение тонкоигольной аспирационной биопсии узла из 8-10 точек. При подтверждении диагноза рака щитовидной железы по результатам биопсии пациент должен получить оперативное лечение. В случае гомозиготного носительства рискованных аллелей FOXE1 rs965513:AA и NKX2-1 rs944289 – TT рекомендуется проводить тотальную резекцию ЩЖ с последующим назначением супрессивной терапии и радиойодтерапии. При варианте гетерозиготных генотипов FOXE1 rs965513:GA и NKX2-1 rs944289 – CT рекомендуется выполнение лобэктомии пораженной доли или субтотальной резекции ЩЖ с последующим взятием на постоянное диспансерное наблюдение у соответствующего специалиста (онколог, эндокринолог) и персонализированной терапией. У больных с новообразованиями ЩЖ, выявленными при УЗИ диагностике по данным жалоб или скрининга и отрицательными маркерами FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289, в виде носительства генотипов FOXE1 rs965513:GG и NKX2-1 rs944289:CC рекомендуется стандартное лечение согласно протоколу РЦРЗ.

Таким образом, внедрение алгоритма диагностики новообразования щитовидной железы с использованием молекулярно-генетических исследований в клиническую практику является прямым фактором снижения наследственного риска развития РЩЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено изучению ассоциации полиморфизмов генов с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции. В настоящее время повышен интерес к молекулярно-генетическим маркерам прогнозирования развития различных патологических процессов в организме человека. Изучение генетических механизмов, обуславливающих развитие и прогрессирование различных заболеваний, является приоритетным направлением практической медицины. Учеными зарубежных стран проводятся данные результатов исследования генетической предрасположенности заболеваний и их дальнейшего развития, в число которых входит и злокачественные новообразования щитовидной железы. Проблема РЩЖ занимает в современной онкологии особое место по нескольким причинам. Во-первых, отмечается тенденция его увеличения в связи с внедрением обязательной биопсии у всех больных с узлообразованием, во-вторых наша территория является неблагоприятной в отношении радиационного фона и йодной обеспеченности. По данным мировой литературы на долю РЩЖ приходится до 4% всех злокачественных опухолей. По нашей республике наблюдается рост заболеваемости РЩЖ.

Так анализ показателей заболеваемости за 2011 – 2015 гг. выявил рост заболеваемости с 2,5‰ в 2011 г. до 3,5‰ в 2015 г. (интенсивные показатели), приведенные сведения показывают, что за пятилетний период 2011-2015гг. показатели частоты РЩЖ имеют тенденцию к увеличению. Количество впервые выявленных РЩЖ в ВКО растет. Анализ показателей заболеваемости за 5 лет выявил динамику роста заболеваемости РЩЖ по Восточно-Казахстанской области 2,9‰ в 2011г. до 4,2‰ в 2015г.

В целом по области морфологическая верификация диагноза РЩЖ за последние годы улучшилась и составляет 100,0%, по республике этот показатель 96,1%. В большинстве случаев РЩЖ диагностируется при обследовании пациентов с узловым зобом. В этиологической структуре узлового зоба на РЩЖ приходится 1-4 % случаев. Процент диагностики I-II стадий РЩЖ 72,3% был ниже среднереспубликанского (79,1%) это связано с более ранним диагностированием раков на этой стадии.

Заболеваемость РЩЖ в ВКО находится в прямой зависимости от географического положения, радиации, и от промышленных объектов области. По ВКО чаще рак ЩЖ по нашим данным встречается у лиц в возрасте 50 лет (54±10 лет), причем у женщин в 12 раз чаще, чем у мужчин. В целом отмечается рост числа континента больных злокачественным новообразованиями щитовидной железы.

Учитывая определенные трудности в диагностике и определение местной распространенности рака щитовидной железы и лечение злокачественных новообразований требуют более пристального внимания.

Ранняя диагностика злокачественных новообразований ЩЖ является одним из основных факторов, влияющих на прогноз жизни больных РЩЖ.

Семейная агрегация заболеваний щитовидной железы и рака щитовидной железы, даже в присутствии широко различной дозы излучения, показывает, что генетические факторы могут способствовать риску папиллярного рака щитовидной железы. 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.

Гены FOXE1 rs965513 – щитовидно-специфический фактор транскрипции, играющий важную роль в морфогенезе щитовидной железы и NKX2-1 rs944289, также являющийся еще одним транскрипционным фактором щитовидной железы (ЩТФ-ТТФ), который вместе с FOXE1 определяется на ранних стадиях морфогенеза ЩЖ, участвующий в развитии щитовидной железы, и в последнее время сообщалось о сильнейшей связи этих генетических маркеров с риском к спорадическому ПРЦЖ у разных популяций.

Целью исследования явилось выявление связи генетических онкомаркеров FOXE1 (rs 965513) и NKX2-1(rs 944289) у больных с папиллярным раком щитовидной железы среди казахской популяции, для использования в качестве дополнительных диагностических маркеров и выбора тактики персонализированного лечения.

При выполнении работы следовали следующим задачам:

1. Провести эпидемиологическую оценку злокачественных опухолей щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области.
2. Изучить частоту встречаемости полиморфизмов генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1(rs 965513) в исследуемых группах казахской популяции.
3. Проанализировать ассоциацию полиморфизмов генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1 (rs 965513) с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции.
4. Разработать алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований.

Для достижения цели и поставленных задач, нами был проведен ассоциативный генетический анализ полиморфизмов генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289). В качестве объекта исследования участвовали 1493 лиц казахской национальности, из них 485 человек с ПРЦЖ средний возраст $54,8 \pm 13,26$ составили основную группу и 1008 здоровых лиц, средний возраст $39,02 \pm 15,84$ представляющих контрольную группу, которые не имели заболеваний щитовидной железы.

Предметом исследования выступила распространенность различных вариантов полиморфизма полиморфизма FOXE1 rs965513 (генотипы GG, GA и AA) и NKX2-1 rs944289 (генотипы CC, CT и TT) у больных с ПРЦЖ и в

контрольной группе здоровых людей казахской популяции. Для расчета статистической значимости различий внутри групп по качественным признакам использовался критерий χ^2 . Анализ ассоциации вариантов полиморфизмов FOXE1 (GG, GA и AA) и NKX2-1 (CC, CT и TT) с ПРЦЖ проведен с помощью расчета отношения шансов (Odds Ratio – OR) и его 95% ДИ (доверительного интервала (95% Confidence Interval – CI)). OR > 1, как положительную ассоциацию с риском развития ПРЦЖ, OR = 1 рассматривали как отсутствие ассоциации и OR < 1, как отрицательную ассоциацию с риском развития ПРЦЖ. Критический уровень статистической значимости различий был установлен на уровне $p < 0,05$ [176, с.12].

В различных популяционных исследованиях (GWAS SNP) вблизи FOXE1 rs965513 гена при изучении восприимчивости к ПРЦЖ была обнаружена связь с носительством минорного аллеля «А». В нашем исследовании было выявлено увеличение доли аллеля «А» в 1,8 раза у лиц с ПРЦЖ (39,7%) по сравнению с контрольной группой (21,8%), ведущее к увеличению его носительства, как в гомозиготном состоянии (генотип AA), так и гетерозиготном (генотипа GA) [10,р. 693; 21,р.1; 31,с.57].

Для гена NKX2-1 (rs944289) выявление минорного аллеля «Т» рассматривался как связь с ПРЦЖ. В нашей работе при сравнительном анализе частот выявлены изменения в виде накопления аллелей Т и генотипов ТТ на фоне уменьшения содержания аллелей С и генотипов СС в группе лиц с ПРЦЖ относительно контрольной группы. Так, в группе с ПРЦЖ относительно контрольной доля аллеля Т было чуть более 1 раза (55,36% против 45,93%), а генотипа ТТ - в 1,5 раза (30,5% против 20,7%). Доля аллеля С, наоборот, уменьшилась в чуть более 1 раза (44,64% против 54,07%), а генотипа СС почти на 1,5 раза (19,8% против 28,9%). Различия статистически значимы. Для расчета отношения шансов сравнивались доли генотипа ТТ с объединенными долями генотипов ТС и СС, а шансов – доли генотипа ТТ с объединенными долями генотипов ТС и СС. Основанием для такого объединения послужило наличие обратной зависимости между содержанием аллеля Т, генотипа ТТ относительно аллеля С, генотипов СТ и СС в сравниваемых группах. Резюмируя данные, можно сделать вывод: гомозиготное носительство аллеля Т — генотипа ТТ, способствует развитию ПРЦЖ (OR = 1,46; 95%-ный CI = 1,2515-1,7027), носительство генотипов СС и СТ препятствует развитию изучаемой патологии.

При сравнительном анализе распределения генотипов FOXE1 нами было выявлено, что в группе ПРЦЖ число носителей GA генотипа выше (44,5%), чем в контрольной (33,5%). А максимальное накопление носителей GG генотипа в контрольной группе составляет (61,4%).

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. При рассмотрении результатов анализа распределении аллеля «А» нами была найдена большая частота в группе ПРЦЖ (39,8%) относительно контрольной группы (21,8%). Содержание аллеля G в группе ПРЦЖ было относительно меньше – 60,2% против 78,2% в контрольной группе. После чего нами было проведено объединение генотипов для расчета шансов AA + GA против GG. На основании полученных данных мы пришли к заключению, что носители генотипов AA и GA FOXE1 имеют повышенный риск развития ПРЦЖ 2,367 (95% CI:2,0044-2,796).

При проведении парного анализа взаимодействия между двумя ОНП генов FOXE1 (rs965513) «А» и NKX2-1 (rs944289) «Т» рисков, связанными с ПРЦЖ методом логистического регрессионного анализа в мультипликативной модели с коррекцией по возрасту и полу, мы обнаружили, что при комбинации двух рисков аллелей (rs965513 «А» и rs944289 «Т»): ОШ=3,13) прямопропорционально повышает риск развития ПРЦЖ по сравнению с комбинациями отсутствия риска (rs965513 «G» и rs944289 «Т»): ОШ=1,91) и гетерозиготного носительства (rs965513GA и rs944289T: ОШ=2,33).

Результаты показывают, что частота «А» аллеля FOXE1 (rs965513) и частота «Т» аллеля NKX2-1 (rs944289) в казахской популяции занимают промежуточное положение между типичными азиатскими и европейскими популяциями. По данным нашего исследования аналогично другим авторам мы пришли к заключению, что полиморфизмы генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 являются предрасполагающими маркерами риска развития ПРЦЖ в различных этнических группах [11,р.646; 12,р.460; 62,р. 4; 65,р. 845]. Таким образом, частота распространения полиморфизмов риска при папиллярных карциномах обследованных нами пациентов показывает промежуточное значение в сравнении с другими популяциями, что может быть частично связано с относительно небольшим числом опухолей, исследованных в настоящей работе.

Результаты проведенного нами молекулярно-генетического исследования доказали, что для папиллярного рака щитовидной железы среди казахской популяции такие факторы как генетические полиморфные маркеры существуют. Во всяком случае, полученные результаты позволяют рассматривать полиморфизмы генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 как молекулярно-генетические предикторы при канцерогенезе ПРЦЖ. В результате нашего исследования выявлена взаимосвязь двух исследованных однонуклеотидных полиморфизмов генов FOXE1 rs965513 и NKX2-1 rs944289 с предрасположенностью к папиллярному раку щитовидной железы в казахской популяции.

В конечном итоге, полученные в диссертационной работе результаты, позволили разработать алгоритм диагностики РЦЖ в казахской популяции.

Результаты проведенного нами генетического исследования доказали, что для папиллярного рака щитовидной железы среди казахской популяции, такие

факторы как генетические полиморфные маркеры существуют. Исследование полиморфных локусов генов-кандидатов, а также выявление генотипов и аллелей, ассоциированных с заболеванием, позволяет оценить генетические риски развития ПРЦЖ. Гены FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) функционируют, как генетические факторы риска ПРЦЖ несмотря на этническую принадлежность, вследствие отсутствия значимых популяционных отличий.

С учетом того, что не у всех больных обнаруживались данные маркеры, при их выявлении показано тотальное удаление щитовидной железы, даже при одностороннем поражении, послеоперационное назначение радиоактивного йода и лучевой терапии, не смотря на то, что ПРЦЖ считается более благоприятными и обычно не подлежит радиотерапевтическому лечению.

Таким образом, актуальным является поиск клиничко-морфологических признаков агрессивного клинического поведения ПРЦЖ для прогноза течения заболевания и выбора лечебной тактики. Представляет научный интерес расширение и углубление знаний не только относительно паренхиматозного, а и стромально-сосудостого компонента ПРЦЖ, которые в прогрессии опухоли играют также существенное значение. В связи с этим актуально всестороннее исследование ПРЦЖ: их место в структуре хирургической патологии ЩЖ, клиническое поведение, изучение основных клиничко-морфологических признаков, исследование паренхиматозного и стромального компонентов а также использование молекулярно-генетических исследований как современных методов для прогноза течения заболевания.

Принимая во внимание высокую частоту распространения генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) при ПРЦЖ, проведение скрининга на предмет носительства данных онкомаркеров в казахской популяции может стать эффективным методом ранней диагностики на молекулярном уровне. В экологически неблагоприятных условиях, в местах эндемии и последствий радиационного облучения изучение предрасполагающих онкогенов, как например, FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) необходимо проводить в виде скрининговых исследований групп риска. Данное обстоятельство создает необходимость пересмотра существующего клинического протокола по тиреопатологии.

Выводы

1. Эпидемиологические показатели частоты РЦЖ по РК и Восточно-Казахстанской области имеют тенденцию к увеличению. Эта тенденция прослеживается в абсолютных числах и в изменении интенсивного показателя. Чаще рак ЩЖ встречается у лиц в возрасте 50 лет (54 ± 10 лет), причем у женщин в 12 раз чаще, чем у мужчин. Анализ показателей заболеваемости за 5 лет выявил динамику роста заболеваемости РЦЖ по Восточно-Казахстанской области 2,9% в 2011г. до 4,2% в 2015г.

2. Анализ распространенности полиморфизма генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1 (rs965513) показал, что встречаемость аллелей в казахской популяции

отличается от европейской и восточноазиатской популяции и имеет промежуточное значение.

3. а) Установлена связь полиморфизма (rs944289) гена NKX2-1 с папиллярным раком щитовидной железы. Гомозиготное носительство аллеля «Т» — генотипа ТТ, способствует развитию ПРЦЖ (OR = 1,46; 95%-ный CI = 1,2515-1,7027), носительство генотипов СС и СТ препятствует развитию ПРЦЖ.

б) В результате анализа распределении аллеля «А» полиморфизма (rs965513) гена FOXE1 была найдена большая частота в группе ПРЦЖ (39,8%) относительно контрольной группы (21,8%). Содержание аллеля G в группе ПРЦЖ было относительно меньше – 60,2% против 78,2% в контрольной группе. Носители генотипов AA и GA FOXE1 имеют повышенный риск развития ПРЦЖ (OR =2,367; 95% CI:2,0044-2,796).

4. Разработан алгоритм диагностики новообразования ЩЖ с использованием молекулярно-генетических исследований, где рекомендовано, что при выявлении онкомаркеров полиморфизмов генов FOXE1 rs965513 (генотипы GA и AA) и NKX2-1 rs944289 (генотипы СТ и ТТ) у больных с узлообразованием ЩЖ показан персонализированный подход в лечении, определяющий необходимость объема оперативного вмешательства и применения радиойодтерапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследование связи полиморфизмов генов FOXE1 (rs965513) и NKX2-1 (rs944289) у больных с ПРЦЖ дает возможность прогнозировать восприимчивость к развитию заболевания у лиц казахской популяции. Проведение скрининга на предмет носительства онкомаркеров FOXE1 rs965513 и NKX2-1 (rs944289) может стать эффективным методом ранней диагностики с учетом высокой частоты его распространения и наличия ассоциаций со случаями папиллярного рака щитовидной железы в казахской популяции.

2. Выявление полиморфизмов генов FOXE1 (rs965513) генотип А и NKX2-1 (rs944289) генотип Т можно использовать как дополнительный диагностический маркер и в определении тактики послеоперационного лечения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Дэлгэрэх Цэнд, Гончигсурэн Д., Лхагвасурэн Ц. Ультразвуковая диагностика рака щитовидной железы // Сиб. мед. журн. – Иркутск, 2012. - №1. // <https://cyberleninka.ru/article/n/ultrazvukovaya-diagnostika-raka-schitovidnoy-zhelezy> (дата обращения: 09.05.2019).
- 2 Кочергина И.И. Эндемический зоб и другие йододефицитные заболевания // МС. - 2008. - №3-4// <https://cyberleninka.ru/article/n/endemicheskiy-zob-i-drugie-yododefitsitnye-zabolevaniya> (дата обращения: 09.05.2019).
- 3 Атантаева Б.Ж. Ранняя диагностика узловых форм щитовидной железы: автореф. ... канд. мед. наук: 14.00.03. – Семей, 2010. – 24 с.
- 4 Дедов И.И., Трошина Е.А., Юшков П.В., Александрова Г.Ф. Диагностика и лечение узлового зоба: методические рекомендации. – Петрозаводск, 2003. – 56 с.
- 5 Ольшанский В.О., Сергеев С.А. и совт. Первично множественные опухоли у больных с новообразованиями щитовидной железы // Хирургия эндокринных желез. - Спб., 1996. - С. 80 - 82.
- 6 Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. JAMA. 2006;295(18):2164–2167p.
- 7 Румянцев П.О., Ильин А.А., Румянцева У.В., Саенко В.А. Рак щитовидной железы: современные подходы к диагностике и лечению. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2009. – 448 с.
- 8 Kweon S.S., Shin M.H., Chung I.J., Kim Y.J. et al. Thyroid cancer is the most common cancer in women, based on the data from population-based cancer registries, South Korea // Japanese journal of clinical oncology. – 2013. - №102 // doi: 10.1093/jjco/hyt102.
- 9 Kimura E.T., Nikiforova M.N., Zhu Z. et al. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer // Cancer research. – 2003. - №63(7). – P. 1454-1457.
- 10 Wang Y.L., et al. Confirmation of papillary thyroid cancer susceptibility loci identified by genome-wide association studies of chromosomes 14q13, 9q22, 2q35 and 8p12 in a Chinese population // J Med Genet.- 2013. - №50(10). - P. 689–695.
- 11 Matsuse M., Takahashi M., Mitsutake N. et al. The FOXE1 and NKX2–1 loci are associated with susceptibility to papillary thyroid carcinoma in the Japanese population // J. Med. Genet. - 2011. - №48. – P. 645–648.
- 12 Gudmundsson J., Sulem P., Gudbjartsson D.F. et al. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations // Nat Genet. – 2009. - №41. – P. 460–464.
- 13 Секач Н.С., Хлявин В.И., Ржеутский В.А. Перспективные направления в УЗД заболеваний щитовидной железы // Мед. новости. - 1997. - №9. - С. 26 - 27.
- 14 Шишков Р.В., Поляков В.Г. Современные вопросы лечения первичного и рецидивного рака щитовидной железы // Вестник Российской Академии Медицинских Наук. - 2000. - №6.- С. 46-50.

- 15 Hu M.I., Vassilopoulou-Sellin R., Lustig R., Lamont J.P. Thyroid and Parathyroid Cancers // in Pazdur R., Wagman L.D., Camphausen K.A., Hoskins W.J. (Eds) Cancer Management: A Multidisciplinary Approach 11 ed. – Banglore, 2008. - 945 p.
- 16 Александров Ю.К., Могутов М.С., Патрунов Ю.Н., Сенча А.Н. Малоинвазивная хирургия щитовидной железы. - М., 2005. - 287 с.
- 17 Лушников Е.Ф. Чернобыль: Патология щитовидной железы (факты и объяснения) // Медицинская радиология и радиационная безопасность. - 2001. - №5. - С. 16-25 // <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=64923>.
- 18 Fassina A., Rupolo M., Pelizzo M., Casara D. Thyroid cancer in children and adolescents // Tumori. – 1994. – Vol. 80. – P. 257- 262.
- 19 Machens A., Holzhausen H.J., Lautenschlager C. et al. Enhancement of lymph node metastasis and distant metastasis of thyroid carcinoma // Cancer. – 2003. – Vol. 98, №4. – P. 712–719.
- 20 Shattuck T.M., Westra W.H., Ladenson P.W., Arnold A.N. Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma // Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 352. – P. 2406–2412.
- 21 Cancer statistic in Japan. – 2013. http://ganjoho.jp/pro/statistics/en/backnumber/2013_en.html
- 22 Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л. Рак в Україні 2004–2013 (та ін.) // Бюл. Національного канцер-реєстру України. – 2006-2013. – Т. 7-13 // <http://users.i.kiev.ua/~ucr/>
- 23 Нургазиев К.Ш., Сейтказина Г.Ж., Байпеисов Д.М. и соавт. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2012 г. (статистические материалы). - Алматы, 2013. – 112 с.
- 24 Нургазиев К.Ш., Байпеисов Д.М., Сейсенбаева Г.Т., Ажмагамбетова А.Е., Жылкайдарова А.Ж. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2014 г. (статистические материалы). - Алматы, 2015. -128 с.
- 25 Берштейн Л.М. Рак щитовидной железы: эпидемиология, эндокринология, факторы и механизмы канцерогенеза // Практическая онкология. - 2007. - Т. 8, №1. - С. 1–8.
- 26 Nagataki S., Nystrom E. Epidemiology and Primary Prevention of Thyroid Cancer // Thyroid. - 2002. - Vol. 12, №10. - P. 889–896.
- 27 Логачев В.А. Ядерные испытания на Семипалатинском полигоне и их влияние на окружающую среду // Вестник НЯЦ РК. - 2000. - Вып. 3. - С. 9-14.
- 28 Еспенбетова М.Ж. Изменения эндокринного статуса у жителей регионов, прилегающих к Семипалатинскому ядерному полигону, как отдаленные последствия ядерных испытаний: автореф. ... док. мед. наук. - Алматы, 1994. - С. 15.
- 29 Дедов В.И., Дедов И.И., Степаненко В.Ф. Радиационная эндокринология. - М.: Медицина, 1993. – 209 с.
- 30 Yamashita S., Ito M., Ashizawa K., Shibata Y., Nagataki S., Kiikuni K. Monitoring and prevention of the development of thyroid carcinoma in a population exposed to radiation // in: Thomas G., Karaoglu A., Williams E.D.

editors. Radiation and Thyroid Cancer. - Singapore: World Scientific, 1999. - P. 369–376.

31 Пищугина А.В., Белякова Н.А., Иванов А.Г., Лясникова М.Б. Распространённость и морфофункциональные особенности патологии щитовидной железы у жителей йододефицитного региона // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. - 2014. - №1. - С. 57-64.

32 Хмельницкий О.К., Крулевский В.А., Мерабншвили В.М., Кипич А.В. Патология щитовидной железы у жителей Санкт-Петербурга // Архив патологии. - 2003. - Вып.2. - С. 2-16.

33 Душников Е.Ф. Десятилетие после Чернобыля: последствия аварии и актуальные проблемы радиационной патологии // Архив патологии. - 1997. - Вып. 4. - С. 42-46.

34 Parkin D.M., Whelan S.L., Ferlay J. et al. Cancer incidence in five continents // IARC. - Lyon, 2003. - Vol. 8, №2. - 1436 p.

35 Романчишин А.Ф., Колосюк В.А., Богатурия Г.О. Рак щитовидной железы-проблемы эпидемиологии, этиопатогенеза и лечения. - СПб.: WELCOME, 2003. - 256 с.

36 Чиссов В.И., Старинский В.В. Злокачественные новообразования в России в 2000 году. - М.: МНИОИ им. П.А.Герцена, 2002. - 264 с.

37 Kilfoy B.A., Devesa S.S., Ward M.H. et al. Gender is an age-specific effect modifier for papillary cancers of the thyroid gland // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. - 2009. - №18. - P. 1092–1100.

38 Agate L., Lorusso L., Elisei R. New and old knowledge on differentiated thyroid cancer epidemiology and risk factors // J Endocrinol Invest. - 2012. - №35. - P. 3–9.

39 Curado M.P. et al. Cancer Incidence in Five Continents // IX International association of cancer registries. - 2000 // <http://ci5.iarc.fr/CI5i-ix/ci5i-ix.htm>

40 Ferlay J. et al. Estimation of the burden of cancer worldwide in 2008: GLOBOCAN 2008 // Int J рак. - 2010. - №127. - P. 2893-2917.

41 Leenhardt L. et al. Thyroid Cancer Committee. Increased incidence of thyroid carcinoma in France: a true epidemic or thyroid nodule management effects? Report from the French Thyroid Cancer Committee // Thyroid. - 2004. - №14. - P. 1056–1060.

42 Li N., Du X.L., Reitzel L.R., Xu L., Sturgis E.M. Impact of enhanced detection on the increase in thyroid cancer incidence in the United States: review of incidence trends by socio economic status with in the surveillance, epidemiology, and end results registry, 1980–2008 // Thyroid. - 2013. - №23. - P. 103–110.

43 Кайдарова Д.Р., Кайбаров М.Е. Эпидемиологические аспекты рака щитовидной железы в Республике Казахстан // Журнал Казахского НИИ онкологии и радиологии. - 2015. - №1 - С. 165-169.

44 Райсова Г.К., Ким О.М., Сандыбаев М.Н. Радиация и канцерогенез // Наука и здравоохранение. - 2006. - №4. - С. 9-13.

- 45 Гордеев К.И. Основные закономерности формирования доз внешнего и внутреннего облучения на следах подземных ядерных взрывов (экспериментальные исследования): дис. ... док. техн. наук. - 1970. - 223 с.
- 46 Адылханов Т.А. Ранняя диагностика и дифференцированное лечение рака щитовидной железы. - Семей, 2016. - 220 с.
- 47 Арсланов М.Д. Эндемический зоб северо-востока Казахской ССР: автореф. ... док. мед. наук. - 1969. - 47 с.
- 48 Пругло Ю.В. и Пругло М.Ю., Мусина Д.Р., Еспенбетова М.Ж., Жумадилов Ж.Ш., Мусинов Д.Р., Ионов С.А. Щитовидная железа в условиях Семипалатинского региона (статистика, морфология) // В сб.: Иммунные и гормональные дисфункции и методы их коррекции. - Семипалатинск, 1996. – Раздел 1. - С. 77-82.
- 49 Pruglo M.Yu. Personalization of results in the morphological study of surgical material of thyroid gland Semipalatinsk residents // The 2-nd International Conference on «Ecology-Radiation-Health». Abstracts. - Semipalatinsk, 1998. – 194 p.
- 50 Жумадилов Ж.Ш., Мусинов Д.Р., Пругло Ю.В. Клинико-морфологические особенности хирургических заболеваний щитовидной железы в зоне экологического неблагополучия // Анналы хирургической гепатологии. Научно-практическое издание. - Томск, 1998. -Т. 2. - С. 216-217.
- 51 Пругло М.Ю., Пругло Ю.В., Вилер Т.М. К морфогенезу аутоиммунных процессов в щитовидной железе и Первый национальный конгресс «Клиническая иммунология, аллергология и иммунореабилитация» // Тезисы докладов. – Алматы, 1999. - С. 39.
- 52 Alipov G., Ito M., Prouglo Yu., Takamura N. Yamashita S. Ret proto-oncogene rearrangement in thyroid cancer around Semipalatinsk nuclear testing site // Lancet. - 1999 - Vol. 354, №9189. – P. 1528-1529.
- 53 Мусинов Д.Р. Скрининг, ранняя диагностика и лечебная тактика при доброкачественных и злокачественных заболеваниях щитовидной железы в Семипалатинском регионе: автореф. ... док. мед. наук. - Алматы, 1999. - 46 с.
- 54 Жумадилов Ж.Ш., Мусинов Д.Р., Васьковский Г.Г. и др. Скрининг тиреоидной патологии для групп населения с повышенным риском: методические рекомендации.- Алматы, 1999. - С. 40.
- 55 Зельцер М.Е., Базарбекова Р.Б., Абубакирова Ш.С., Кидирмаганбетова С.Л., Корнеева Е.В. Современные проблемы зобной эндемии в республике Казахстан // Здоровье и болезнь. – Алматы, 2005. - №2(39). - С. 5-8.
- 56 Апсаликов К.Н., Гусев Б.И., Пивина Л.М. и др. Заболевания щитовидной железы у населения ВосточноКазахстанской области, подвергшихся облучению при испытаниях ядерного оружия // Медицина.- 2006.- №2.- С. 58-61.
- 57 Еспенбетова М.Ж., Юрковская О.А., Денисова Л.М., Даньярова Л.Б. Показатели йодурии у детей и подростков в районах, прилегающих к

Семипалатинскому ядерному полигону // Вопросы эндокринологии. - 2004. - №2. – С. 35.

58 Adjadj E., Schlumberger M., de Vathaire F. Germ-line DNA polymorphisms and susceptibility to differentiated thyroid cancer // *Lancet Oncol.* – 2009. - №10. – P. 181-190.

59 Michael Mond. et al. Somatic Mutations of FOXE1 in Papillary Thyroid // *Cancer THYROID* // *Mary Ann Liebert.* – 2015. – Vol. 25, №8 // Inc.DOI: 10.1089/thy.2015.0030 904-910p.

60 Zhu C., Zheng T., Kilfoy B.A. et al. A birth cohort analysis of the incidence of papillary thyroid cancer in the United States, 1973-2004 // *Thyroid.* – 2009. - №19. – P. 1061–1066.

61 Cardis E., Kesminiene A., Ivanov V. et al. Risk of thyroid cancer after exposure to 131I in childhood // *J Natl Cancer Inst.* – 2005. - №97. – P. 724–732.

62 Landa I., Ruiz-Llorente S., Montero-Conde C. et al. The variant rs1867277 in FOXE1 gene confers thyroid cancer susceptibility through the recruitment of USF1/USF2 transcription factors // *PLoS Genet.* - 2009. - №5. – P. 1000637. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000637>

63 Tomaz R.A., Sousa I., Silva J.G. et al. FOXE1 polymorphisms are associated with familial and sporadic nonmedullary thyroid cancer susceptibility // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2012. - №77. - P. 926–933.

64 Bonora E., Rizzato C., Diquigiovanni C. et al. The FOXE1 locus is a major genetic determinant for familial nonmedullary thyroid carcinoma // *Int J Cancer.* – 2014. - №134. – P. 2098–2107.

65 Penna-Martinez M., Epp F., Kahles H. et al. FOXE1 association with differentiated thyroid cancer and its progression // *Thyroid.* - 2014. - №24. – P. 845–851.

66 Takahashi M., Saenko V.A., Rogounovitch T.I. et al. The FOXE1 locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl // *Hum Mol Genet.* – 2010. - №19. – P. 2516–2523.

67 Hemminki K., Eng C., Chen B. Familial risks for nonmedullary thyroid cancer // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2005. - №90. – P. 5747–5753.

68 Hemminki K., Sundquist J., Lorenzo Bermejo J. Familial risks for cancer as the basis for evidence-based clinical referral and counseling // *Oncologist.* – 2008. - №13. – P. 239–247.

69 Kabacik S., Mackay A., Tamber N. et al. Gene expression following ionising radiation: identification of biomarkers for dose estimation and prediction of individual response // *Int J Radiat Biol.* - 2011. - №87. – P. 115–129.

70 Bonora E., Tallini G., Romeo G. Genetic predisposition to familial nonmedullary thyroid cancer: an update of molecular findings and state of the art studies // *J Oncol.* - 2010. - №2010. – P. 385206. doi:10.1155/2010/385206

71 Landa I., Robledo M. Association studies in thyroid cancer susceptibility: are we on the right track? // *J Mol Endocrinol.* - 2011. - №47. – P. 43–58.

72 Database of Single Nucleotide Polymorphisms // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.

- 73 Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. *Molecular Biology of the Gene*. – М.: Мир, 1978. – 706 с.
- 74 Linee Guida.Trattamento e Follow-up del Carcinoma Differenziato della Tiroide. - SIE-AIMN-AIFM, 2004. - 77 p.
- 75 Кубарко А.И., Ямасита С., Фоли Т. Щитовидная железа у детей. *Pediatric Thyroidology*. – Минск; Нагасаки-Питтсбург, 2002. - 450 с.
- 76 Akulevich N.M., Saenko V.A., Rogounovitch T.I. et al. Polymorphisms of DNA damage response genes in radiation-related and sporadic papillary thyroid carcinoma // *Endocr Relat Cancer*. – 2009. - №16. – P. 491-503.
- 77 Pereda C., Lesueur F. et al. Common variants at the 9q22.33, 14q13.3 and ATM loci, and risk of differentiated thyroid cancer in the Cuban population // *BMC genetics*. – 2015. – №16 – P. 22-31.
- 78 Andrew C. Lidral, Huan Liu, Steven A. et al. A single nucleotide polymorphism associated with isolated cleft lip and palate, thyroid cancer and hypothyroidism alters the activity of an oral epithelium and thyroid enhancer near FOXE1 // *Human Molecular Genetics*. – 2015. - Vol. 24, №14. – P. 3895–3907 // doi:10.1093/hmg/ddv047 Advance Access Publication Date: 4 February 2015 p3895-3907.
- 79 Mitchell L.E., Christensen K. et al. Evaluation of family history data for Danish twins with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate // *Am. J. Med. Genet.* – 1997. - №72. – P. 120–121.
- 80 Castanet M., Park S., Smith A. et al. A novel loss of function mutation in TTF-2 is associated with congenital hypothyroidism, thyroid agenesis and cleft palate // *Hum. Mol. Genet.* – 2002. - №11. – P. 2051–2059.
- 81 Clifton-Bligh R.J., Wentworth J.M., Heinz P. et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia // *Nat. Genet.* – 1998. - №1. – P. 399–401.
- 82 Baris I., Arisoy A.E., Smith A. et al. A novel missense mutation in human TTF-2 (FKHL15) gene associated with congenital hypothyroidism but not athyreosis // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. - №91. – P. 4183–4187.
- 83 Hishinuma A., Ohyama Y., Kuribayashi T. et al. Polymorphism of the polyalanine tract of thyroid transcription factor-2 gene in patients with thyroid dysgenesis // *Eur. J. Endocrinol.* – 2001. - №145. – P. 385–389.
- 84 Carré A., Castanet M., Sura-Trueba S., et al. Polymorphic length of FOXE1 alanine stretch: evidence for genetic susceptibility to thyroid dysgenesis // *Hum.Genet.* - 2007. - №122. - P. 467–476.
- 85 Szczepanek E., Ruchala M., Szaflarski W., et al. FOXE1 polyalanine tract length polymorphism in patients with thyroid hemiagenesis and subjects with normal thyroid // *Horm. Res. Paediatr.* – 2011. - №75. – P. 329–334.
- 86 Eriksson N., Tung J.Y., Kiefer A.K. et al. Novel associations for hypothyroidism include known autoimmune risk loci // *PLoS One*. - 2012. - №7. – P. 34442.
- 87 Denny J.C., Crawford D.C., Ritchie M.D. et al. Variants near FOXE1 are associated with hypothyroidism and other thyroid conditions: using electronic

medical records for genome and phenome-wide studies // *Am. J. Hum. Genet.* – 2011. - №89. – P. 529–542.

88 Bullock M., Duncan E.L., O'Neill C. et al. Association of FOXE1 polyalanine repeat region with papillary thyroid cancer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 2012. - №97. – P. 1814–1819.

89 Zhan M., Chen G., Pan C.M. et al. Genome-wide association study identifies a novel susceptibility gene for serum TSH levels in Chinese populations // *Hum. Mol. Genet.* - 2014. - №23. – P. 5505–5517.

90 Damiola F., Byrnes G., Moissonnier M. et al. Contribution of ATM and FOXE1 (TTF2) to risk of papillary thyroid carcinoma in Belarusian children exposed to radiation // *Int. J. Cancer.* - 2014. - №134. – P. 1659–1668.

91 Kallel R., Belguith-Maalej S., Akdi A. et al. Genetic investigation of FOXE1 polyalanine tract in thyroid diseases: new insight on the role of FOXE1 in thyroid carcinoma // *Cancer Biomark.* – 2010. - №8. – P. 43–51.

92 Kohler A., Chen B., Gemignani F. et al. Genome-wide association study on differentiated thyroid cancer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. - №98. - P. 1674–1681.

93 Medici M., van der Deure, W.M., Verbiest M. et al. A large scale association analysis of 68 thyroid hormone pathway genes with serum TSH and FT4 levels // *Eur. J. Endocrinol.* - 2011. - №164. – P. 781–788.

94 Lowe J.K., Maller J.B., Pe'er I. et al. Genome-wide association studies in an isolated founder population from the Pacific Island of Kosrae // *PLoS Genet.* - 2009. - №5. – P. 1000365.

95 Comuzzie A.G., Cole S.A., Laston S.L. et al. Novel genetic loci identified for the pathophysiology of childhood obesity in the Hispanic population // *PLoS One.* – 2012. - №7. - P. 51954.

96 Alul F.Y., Shchelochkov O.A., Berberich S.L. et al. Genetic associations with neonatal thyroid-stimulating hormone levels // *Pediatr. Res.* – 2013. - №73. – P. 484–491.

97 Porcu E., Medici M., Pistis G. et al. A meta-analysis of thyroid-related traits reveals novel loci and gender-specific differences in the regulation of thyroid function // *PLoS Genet.* – 2013. - №9. - P. 1003266.

98 Santisteban P., Acebrón A., Polycarpou-Schwarz M., Di Lauro R. Insulin and insulin-like growth factor I regulate a thyroid-specific nuclear protein that binds to the thyroglobulin promoter // *Mol. Endocrinol.* – 1992. - №6. – P. 1310–1317.

99 Clifton-Bligh R.J., Wentworth J.M., Heinz P. et al. "Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia" // *Nat Genet.* - 1998. - №19(4). – P. 399–401 // doi:10.1038/1294. PMID 9697705.

100 Kumagai A., Namba H., Akanov Z., Saenko V.A., Meirmanov S., Ohtsuru A., Yano H., Maeda S., Anami M., Hayashi T., Ito M., Sagandikova S., Eleubaeva Z., Mussinov D., Espenbetova M., Yamashita S. Clinical implications of preoperative

rapid BRAF analysis for papillary thyroid cancer // *Endocr J.* – 2007. - №54. – P. 399-405.

101 Nakayama H., Yoshida A., Nakamura Y. et al. Clinical significance of BRAF (V600E) mutation and Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinomas // *Anticancer Res.* – 2007. - №27. – P. 3645-3649.

102 Watanabe R., Hayashi Y., Sassa M. et al. Possible involvement of BRAFV600E in altered gene expression in papillary thyroid cancer // *Endocr J.* - 2009. - №56. – P. 407-414.

103 Zuo H., Nakamura Y., Yasuoka H. et al. Lack of association between BRAF V600E mutation and mitogen-activated protein kinase activation in papillary thyroid carcinoma // *Pathol Int.* – 2007. - №57. – P. 12-20.

104 Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases and clinical implications // *Endocr Rev.* - 2007. - №28. – P. 742-762.

105 Kim S.W., Lee J.I., Kim J.W. et al. BRAFV600E mutation analysis in fine-needle aspiration cytology specimens forevaluation of thyroid nodule: a large series in a BRAFV600E-prevalent population // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2010. - №95. – P. 3693-3700.

106 Feldt-Rasmussen U. Iodine and cancer // *Thyroid.*- 2001.- №11.-P.483-486.

107 Williams E.D., Abrosimov A., Bogdanova T. et al. Morphologic characteristics of Chernobyl-related childhood papillary thyroid carcinomas are independent of radiation exposure but vary with iodine intake // *Thyroid.* – 2008. - №18. – P. 847-852.

108 Guan H., Ji M., Bao R. et al. Association of high iodine intake with the T1799A BRAF mutation in papillary thyroid cancer // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2009. - №94. – P. 1612-1617.

109 Tronko M.D., Howe G.R., Bogdanova T.I. et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the chornobyl accident: thyroid cancer in Ukraine detected during first screening // *J Nat Cancer Inst.*–2006.- №98.-P.897–903.

110 Ron E. Thyroid cancer incidence among people living in areas contaminated by radiation from the Chernobyl accident // *Health Phys.* – 2007. - №93. – P. 502–511.

111 Likhtarov I., Kovgan L., Vavilov S. et al. Post-Chernobyl thyroid cancers in Ukraine. Report 2: risk analysis // *Radiat Res.* – 2006. - №166. – P. 375–386.

112 Yamashita S., Saenko V. Mechanisms of disease: molecular genetics of childhood thyroid cancers // *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* – 2007. - №3. – P. 422–429.

113 Williams D. Radiation carcinogenesis: lessons from Chernobyl // *Oncogene.* - 2009. - №27. – S. 9–18.

114 Gembicki M., Stozharov A.N., Arinchin A.N. et al. Iodine deficiency in Belarusian children as a possible factor stimulating the irradiation of the thyroid gland during the Chernobyl catastrophe // *Environ Health Perspect.* – 1997. - №61. – P. 1487–1490.

- 115 Cardis E., Hatch M. The Chernobyl accident an epidemiological perspective // *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. – 2011. - №23. – P. 251–260.
- 116 Brenner A.V., Tronko M.D., Hatch M. et al. I-131 dose response for incident thyroid cancers in Ukraine related to the Chernobyl accident // *Environ Health Perspect.* - 2011. - №119. – P. 933–939.
- 117 Zablotska L.B., Ron E., Rozhko A.V. et al. Thyroid cancer risk in Belarus among children and adolescents exposed to radioiodine after the Chornobyl accident // *Br J Cancer*. - 2011. - №104. – P. 181–187.
- 118 Huang Y., Prasad M., Lemon W.J. et al. Gene expression in papillary thyroid carcinoma reveals highly consistent profiles // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2001. - №98. – P. 15044–15049.
- 119 Chevillard S., Ugolin N., Vielh P. et al. Gene expression profiling of differentiated thyroid neoplasms: diagnostic and clinical implications // *Clin Cancer Res.* – 2004. - №10. - P. 6586–6597.
- 120 Jarzab B., Wiench M., Fujarewicz K. et al. Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications // *Cancer Res.* – 2005. - №65. – P. 1587–1597.
- 121 Eszlinger M., Wiench M., Jarzab B. et al. Meta- and reanalysis of gene expression profile of hot and cold nodules and papillary thyroid carcinoma for gene groups // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2006. - №91. – P. 1934–1942.
- 122 Delys L., Detours V., Franc B. et al. Gene expression and the biological phenotype of papillary thyroid carcinomas // *Oncogene*. - 2007. - №26. – P. 7894–903.
- 123 Handkiewicz-Janak D., Czarniecka A., Jarzab B. et al. Molecular prognostic markers in papillary and follicular thyroid cancer: current status and future directions // *Mol Cell Endocrinol*. – 2010. - №322. – P. 8–28.
- 124 Detours V., Wattel S., Venet D. et al. Absence of a specific radiation signature in post-Chernobyl thyroid cancers // *Br J Cancer*. - 2005. - №92. – P. 1545–1552.
- 125 Port M., Boltze C., Wang Y. et al. A radiation-induced gene signature distinguishes post-Chernobyl from sporadic papillary thyroid cancers // *Radiat Res.* - 2007. - №168. – P. 639–649.
- 126 Detours V., Delys L., Libert F. et al. Genome-wide gene expression profiling suggests distinct radiation susceptibilities in sporadic and post-Chernobyl papillary thyroid cancers // *Br J Cancer*. – 2007. - №97. – P. 818–825.
- 127 Dom G., Tarabichi M., Unger K. et al. A gene expression signature distinguishes normal tissues of sporadic and radiation-induced papillary thyroid Carcinomas // *Br J Cancer*. – 2012. - №107. – P. 994–1000.
- 128 Maenhaut C., Detours V., Dom G. et al. Gene expression profiles for radiation-induced thyroid cancer // *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. – 2011. - №23. – P. 282–288.
- 129 Dal Maso L., Bosetti C., LaVecchia C., Franceschi S. Risk factors for thyroid cancer: an epidemiological review focused on nutritional factors // *Cancer Causes Control*. – 2009. - №20. – P. 75–86.

- 130 Fallah M., Pukkala E., Tryggvadottir L. et al. Risk of thyroid cancer in first-degree relatives of patients with non-medullary thyroid cancer by histology type and age at diagnosis: a joint study from five Nordic countries // *J Med Genet.* – 2013. - №50. – P. 373–382.
- 131 Schneider A.B., Sarne D.H. Long-term risks for thyroid cancer and other neoplasms after exposure to radiation // *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* – 2005. - №1. – P. 82–91.
- 132 Goldgar D.E., Easton D.F., Cannon-Albright L.A., Skolnick M.H. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands // *J Natl Cancer Inst.* – 1994. - №86. – P. 1600–1608.
- 133 Risch N. The genetic epidemiology of cancer: Interpreting family and twin studies and their implications for molecular genetic approaches // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2001. - №10. – P. 733–741.
- 134 Dong C., Hemminki K. Modification of cancer risks in offspring by sibling and parental cancers from 2,112,616 nuclear families // *Int J Cancer.* - 2001. - №92. – P. 144–150.
- 135 Ito Y. et al. Biological behavior and prognosis of familial papillary thyroid carcinoma // *Surgery.* – 2009. - №145. – P. 100–105.
- 136 Uchino S. et al. Familial nonmedullary thyroid carcinoma characterized by multifocality and a high recurrence rate in a large study population // *World J Surg.* – 2002. - №26. – P. 897–902.
- 137 De la Chapelle A., Jazdzewski K. MicroRNAs in thyroid cancer // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2011. - №96. – P. 3326–3336.
- 138 Manolio T.A. et al. Finding the missing heritability of complex diseases // *Nature.* - 2009. - №461. – P. 747–753.
- 139 Jones A.M. et al. TCUKIN Consortium Thyroid cancer susceptibility polymorphisms: Confirmation of loci on chromosomes 9q22 and 14q13, validation of a recessive 8q24 locus and failure to replicate a locus on 5q24 // *J Med Genet.* - 2012. - №49. – P. 158–163.
- 140 Jaroslaw Jendrzewskia, Huiling Hea, Hanna S. Radomskaa et al. The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type // *PNAS.* – 2012. - Vol. 109, №22. – P. 8686-8651.
- 141 Guazzi S., Price M., De Felice M. et al. Thyroid nuclear factor 1 (TTF-1) contains a homeodomain and displays a novel DNA binding specificity // *The EMBO Journal.* - 1990. - №9(11). – P. 3631–3639.
- 142 Li Y., Eggermont K., Vanslebrouck V., Verfaillie C.M. NKX2-1 activation by SMAD2 signaling after definitive endoderm differentiation in human embryonic stem cell // *Stem Cells and Development.* - 2013. - №22 (9). – P. 1433–1442 // doi:10.1089/scd.2012.0620.
- 143 Kendall J., Liu Q., Bakleh A. et al. Oncogenic cooperation and coamplification of developmental transcription factor genes in lung cancer // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* - 2007. - №104 (42). – P. 16663–16668 // doi:10.1073/pnas.0708286104.

- 144 Tanaka H., Yanagisawa K., Shinjo K. et al. Lineage-specific dependency of lung adenocarcinomas on the lung development regulator TTF-1 // *Cancer Research*. - 2007. - №67 (13). – P. 6007–6011 // doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4774. PMID 17616654.
- 145 Weir B.A., Woo M.S., Getz G. et al. Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma // *Nature*. - 2007. - №450 (7171). – P. 893–898 // doi:10.1038/nature06358. PMC 2538683. PMID 17982442.
- 146 Kwei K.A., Kim Y.H., Girard L. et al. Genomic profiling identifies TTF1 as a lineage-specific oncogene amplified in lung cancer // *Oncogene*. - 2008. - №27 (25). – P. 3635–3640 // doi:10.1038/sj.onc.1211012. PMC 2903002. PMID 18212743.
- 147 Kimura S., Hara Y., Pineau T. et al. The Tebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary // *Genes Dev*. – 1996. - №10. – P. 60-69.
- 148 Hoshi S., Hoshi N., Okamoto M. et al. Role of NKX2-1 in N-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine-induced thyroid adenoma in mice // *Carcinogenesis*. - 2009. - Vol. 30, №9. – P. 1614–1619.
- 149 Zhang P., Zuo H., Nakamura Y., Nakamura M., Wakasa T., Kakudo K. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors // *Pathology International*. - 2006. - Vol. 56, №5. - P. 240–245.
- 150 Kondo T., Nakazawa T., Ma D. et al. Epigenetic silencing of TTF-1/NKX2-1 through DNA hypermethylation and histone H3 modulation in thyroid carcinomas // *Laboratory Investigation*. - 2009. - Vol. 89, №7. - P. 791–799.
- 151 Ngan E.S.W., Lang B.H.H., Liu T. et al. A germline mutation (A339V) in thyroid transcription factor-1 (TTF1/NKX2.1) in patients with multinodular goiter and papillary thyroid carcinoma // *Journal of the National Cancer Institute*. - 2009. - Vol. 101, №3. - P. 162–175.
- 152 Zhang P., Zuo H., Nakamura Y., Nakamura M., Wakasa T., Kakudo K. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors // *Pathology International*. – 2006. - Vol. 56, №5. - P. 240–245.
- 153 Ordóñez N.G. Thyroid transcription factor-1 is a marker of lung and thyroid carcinomas // *Advances in Anatomic Pathology*. - 2000. - Vol. 7, №2. – P. 123–127.
- 154 Nonaka D., Tang Y., Chiriboga L., Rivera M., Ghossein R. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms // *Modern Pathology*. - 2008. - Vol. 21, №2. - P. 192–200.
- 155 Katoh R., Miyagi E., Nakamura N. et al. Expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in human C cells and medullary thyroid carcinomas // *Human Pathology*. - 2000. - Vol. 31, №3. - P. 386–393.
- 156 Stransky N., Egloff A.M., Tward A.D. et al. The mutational FOXE1 mutations in thyroid cancer 909 landscape of head and neck squamous cell carcinoma // *Science*. - 2011. - №333. – P. 1157–1160.

- 157 Peifer M., Fernandez-Cuesta L., Sos M.L. et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer // *Nat Genet.* – 2012. - №44. – P. 1104–1110.
- 158 He H. et al. Genetic predisposition to papillary thyroid carcinoma: Involvement of FOXE1, TSHR, and a novel lincRNA gene PTCSC2 // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2015. - №100(1). – P. 164–172.
- 159 Ernst J. et al. Mapping and analysis of chromatin state dynamics in nine human cell types // *Nature.* – 2011. – Vol. 473, №7345. – P. 43–49.
- 160 Paul D.S. et al. Cardiogenics Consortium; MuTHER Consortium Maps of open chromatin guide the functional follow-up of genome-wide association signals: Application to hematological traits // *PLoS Genet.* – 2011. - №7(6). – P. 1002139.
- 161 Maurano M.T. et al. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA // *Science.* – 2012. - Vol. 337, №6099. – P. 1190–1195.
- 162 Van der Harst P. et al. Seventy-five genetic loci influencing the human red blood cell // *Nature.* – 2012. - Vol. 492, №7429. – P. 369–375.
- 163 Ortiz L., Zannini M., Di Lauro R., Santisteban P. Transcriptional control of the forkhead thyroid transcription factor TTF-2 by thyrotropin, insulin, and insulin-like growth factor I // *J Biol Chem.* – 1997. - №272. – P. 23334–23339.
- 164 Zannini M., Avantaggiato V., Biffali E. et al. TTF-2, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation // *EMBO J.* – 1997. - №16. – P. 3185–3197.
- 165 Chadwick B.P., Obermayr F., Frischauf A.M. FKHL15, a new human member of the forkhead gene family located on chromosome 9q22 // *Genomics.* - 1997. - №41. – P. 390–396.
- 166 Fernandez L.P., Lopez-Marquez A., Martinez A.M., Gomez Lopez G., Santisteban P. New insights into FoxE1 functions: Identification of direct FoxE1 targets in thyroid cells // *PLoS One.* – 2013. - №8. – P. 62849.
- 167 Li W., Ain K.B. Human sodium–iodide symporter (hNIS) gene expression is inhibited by a trans-active transcriptional repressor, NIS-repressor, containing PARP-1 in thyroid cancer cells // *Endocr Relat Cancer.* – 2010. - №17. – P. 383–398.
- 168 Arden K.C. FoxO: linking new signaling pathways // *Mol Cell.* – 2004. - №14. – P. 416–418.
- 169 Amiel J., Trochet D., Clement-Ziza M. et al. Polyalanine expansions in human // *Hum Mol Genet.* – 2004. - Vol. 13, №2. – P. 235–243.
- 170 Licht J.D., Hanna-Rose W., Reddy J.C. et al. Mapping and mutagenesis of the amino-terminal transcriptional repression domain of the Drosophila Kruppel protein // *Mol Cell Biol.* – 1994. - №14. – P. 4057–4066.
- 171 Venza I., Visalli M., Parrillo L. et al. MSX1 and TGF-beta3 are novel target genes functionally regulated by FOXE1 // *Hum Mol Genet.* – 2011. - №20. – P. 1016–1025.

172 Nonaka D., Tang Y., Chiriboga L., Rivera M., and Ghossein R. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms // *Modern Pathology*. - 2008. - Vol. 21, №2. – P. 192–200.

173 Sequeira M.J., Morgan J.M., Fuhrer D., Wheeler M.H., Jasani B., Ludgate M. Thyroid transcription factor-2 gene expression in benign and malignant thyroid lesions // *Thyroid*. - 2001. - Vol. 11, №11. - P. 995–1001.

174 Kimura S. Thyroid-Specific Transcription Factors and Their Roles in Thyroid Cancer // *Access to Research Journal of Thyroid Research*. – 2011. – Article ID 710213.- P. 8 // doi:10.4061/2011/710213.

175 Еспенбетова М.Ж., Крыкпаева А.С., Амренова К.Ш., Шалгумбаева Г.М., Жуманбаева Ж.М. Ранняя диагностика новообразований щитовидной железы на молекулярно-генетическом уровне (обзор литературы) // *Medicine*. – Алматы, 2016. – №4 (166). – P. 36-48.

176 Еспенбетова М.Ж., Крыкпаева А.С., Глушкова Н.Е., Рогонович Т., Мусажанова Ж.Б., Накашима М. Онкомаркер FOXE1 (rs9655313) в развитии папиллярного рака щитовидной железы в казахской популяции // *Medicine*. - Алматы, 2017. - №3 (177). - С. 10-17.

177 Еспенбетова М.Ж., Заманбекова Ж.К., Юрковская О.А., Жуманбаева Ж.М., Амренова К.Ш., Крыкпаева А.С. Методы лечения доброкачественных новообразований щитовидной железы: методические рекомендации. - Астана, 2015. – 38 с.

178 Крыкпаева А.С., Накашима М., Еспенбетова М.Ж., Мусажанова Ж.Б., Азизов Б.С. Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные со спорадическим папиллярным раком щитовидной железы, в казахской популяции // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2018. - №73(6). – С. 431-435 // <https://doi.org/10.15690/vramn1024>.

179 Еспенбетова М.Ж., Жуманбаева Ж.М., Крыкпаева А.С., Заманбекова Ж.К., Юрковская О.А., Амренова К.Ш., Шалгумбаева Г.М., Глушкова Н.Е. Частота встречаемости патологии щитовидной железы у жителей территорий, прилегающих к бывшему Семипалатинскому испытательному ядерному полигону // *Наука и здравоохранение*. - 2016. - №6. - С. 80-88.

180 Еспенбетова М.Ж., Крыкпаева А.С., Жуманбаева Ж.М., Глушкова Н.Е. Онкологические показатели рака щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области // *Наука и здравоохранение*. - 2018. - Т.20, №5. – С. 88-95.

181 Нургазиев К.Ш., Байпеисов Д.М., Ауезова Э.Т., Жылкайдарова А.Ж., Сейсенбаева Г.Т. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2014 г. (статистические материалы). - Алматы, 2015. - 138 с.

182 Кайдарова Д.Р., Ауезова Э.Т., Чингисова Ж.К., Сейсенбаева Г.Т., Ажмагамбетова А.Е., Жылкайдарова А.Ж. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2015 г. (статистические материалы). - Алматы, 2016. - 168 с.

- 183 Espenbetova M. et al. Thyroid cancer in the population living around Semipalatinsk nuclear testing site, Kazakhstan // *Eur J Public Health.* – 2015. - Vol. 25, suppl 3. – P. 281.
- 184 Aschebrook-Kilfoy B., Schechter R.B., Shih Y.C. et al. The clinical and economic burden of a sustained increase in thyroid cancer incidence // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* - 2013. - Vol. 22. - P. 1252–1259.
- 185 Espenbetova M.Zh. et al. Thyroid disorders in population living around the Semipalatinsk Nuclear Test Site, Kazakhstan // *Eur J Public Health.* – 2015. – Vol. 25, suppl 3. – P.319-320.
- 186 Крыкпаева А.С., Еспенбетова М.Ж., Заманбекова Ж.К., Жуманбаева Ж.М. и соавт. Распространенность рака щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области // Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых «Наука и здоровье», посвященной 75 - летию Президента Ассоциации оториноларингологов Республики Казахстан, академика Национальной Академии Наук Республики Казахстан, доктора медицинских наук, профессора Толебаева Райса Кажкеновича. – Семей, 2016. 2016. - 103 с.
- 187 Крыкпаева А.С., Абенова А.С. и соавторы. Эпидемиологические показатели рака щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области // Материалы 61-ой научно-практической конференции студентов с международным участием на тему «Студент и Наука», посвящённая году молодежи в Республике Казахстан. – Семей, 2019. – С. 37.
- 188 Еспенбетова М.Ж., Крыкпаева А.С, Жуманбаева Ж.М., Глушкова Н.Е. Заманбекова Ж.К., Амренова К.Ш. Семей ядролық полигон аймағында тұратын тұрғындар арасындағы қалқанша без обыры // XII Международная научно – практическая конференция «Экология. Радиация. Здоровье» посвященная академику Б. Атчабарову и 25-летию закрытия Семипалатинского испытательного ядерного полигона. – Семей, 2016. - 113 с.
- 189 Каприн А.Д., Старинский В.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. - 250 с.
- 190 Болезни щитовидной железы, связанные с йодной недостаточностью и сходные состояния. Р-Т-024. Республиканский центр развития здравоохранения РЦРЗ (Республиканский центр развития здравоохранения МЗ РК), Клинический протокол МЗ РК (Приказ №764). – 2007.
- 191 Landa I., Robledo M. Association studies in thyroid cancer susceptibility: are we on the right track? // *J. Mol. Endocrinol.* - 2011. - Vol. 47, №1. - P. 43-58.
- 192 Pal T., Vogl F.D., Chappuis P.O. et al. Increased risk for nonmedullary thyroid cancer in the first degree relatives of prevalent cases of nonmedullary thyroid cancer: a hospital-based study // *J. Clin. Endocrinol. Met.* - 2001. - Vol. 86, №11. - P. 5307-5312.
- 193 Nagataki S., Nystrom E. Epidemiology and primary prevention of thyroid cancer // *Thyroid.* - 2002. - Vol. 12, №10. - P. 889–896.

194 Жуманбаева Ж.М., Еспенбетова М.Ж., Заманбекова Ж.К., Крыкпаева А.С. и соавторы. Узловые образования щитовидной железы у жителей Семипалатинского региона // Наука и здоровье. - 2016. - С. 76-77.

195 Крыкпаева А.С., Абенова А.С. Ассоциация генов FOXE1 и NKX2-1 с риском папиллярного рака щитовидной железы в казахской популяции // XIV Международная (XXIII Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых. – М., 2019. -93с.

196 Mussazhanova Zh., Rogounovith T., Saenko V., Krykpayeva A., Tuleuthaev M., Espenbetova M. Replication study of genetic determinants associating with risk for sporadic papillary thyroid carcinoma in Kazakh population // The 20th Annual Meeting of the Japan Endocrine Pathology Society in Tokyo. – Tokyo, 2016. - 83 p.

197 Mussazhanova Zh., Rogounovitch T., Saenko V., Krykpayeva A. Zhumanbayeva Zh., Espenbetova M., Tuleutayev M., Sandybayev M., Yamashita Sh., Nakashima M. Association of some oncogenes with papillary thyroid cancer // XII Международная научно – практическая конференция «Экология. Радиация. Здоровье» посвященная академику Б. Атчабарову и 25-летию закрытия Семипалатинского испытательного ядерного полигона. – Семей, 2016. - 141 с.

198 Mussazhanova Zh. et al. SNP association with risk for sporadic papillary thyroid carcinoma in Kazakh population // The 12 th Asia and Oceania Thyroid Association Congress. - Busan-Korea, 2017. - 268p.

199 Shaha A.R., Shah J.P., Loree T.R. Risk group stratification and prognostic factors in papillary carcinoma of thyroid // Ann Surg Oncol. – 1996. - №3. – P. 534–538.

200 Leboulleux S., Rubino C., Baudin E., Caillou B., Hartl D.M., Bidart J.M., Travagli J.P., Schlumberger M. Prognostic factors for persistent or recurrent disease of papillary thyroid carcinoma with neck lymph node metastases and/or tumor extension beyond the thyroid capsule at initial diagnosis // J Clin Endocrinol Metab. – 2005. - №90. – P. 5723–5729.

201 Al Afif A., Williams B.A., Rigby M.H., Bullock M.J., Taylor S.M., Trites J., Hart R.D. Multifocal papillary thyroid cancer increases the risk of central lymph node metastasis // Thyroid. – 2015. - №25. – P. 1008–1012.

202 Kuo S.F., Lin S.F., Chao T.C., Hsueh C., Lin K.J., Lin J.D. Prognosis of multifocal papillary thyroid carcinoma // Int J Endocrinol. – 2013. - №2013. – P. 809382.

203 Jendrzewski J. et al. Papillary thyroid carcinoma: association between germline DNA variant markers and clinical parameters //Thyroid. – 2016. – Vol. 26. – № 9. – P. 1276-1284.

204 Березина Г.М. Генетико-демографические процессы в сельских популяциях Казахстана и их генетическая дифференциация по митохондриальной ДНК: дис. ... док. биол. наук. - Алматы, 2005. - 307 с.

205 Russ G. Risk stratification of thyroid nodules on ultrasonography with the French TI-RADS: description and reflections // Ultrasonography. 2016. Vol. 35. N 1. P. 25–38

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права «Ранняя диагностика рака щитовидной железы на молекулярно-генетическом уровне» № Гос. Регистрации № 2343 от 17 июля 2018 г.

Авторлық құқық объектісіне құқықтарды мемлекеттік тіркеу туралы

КУӘЛІК

№ 2343 17 шілде 2018 ж.

Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінде авторлардың өтініші бойынша авторлары **Майра Жаксимановна Еспенбетова, Айнур Сериковна Крыкпаева** болып табылатын авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлдітік құқықтар «Ранняя диагностика рака щитовидной железы на молекулярно-генетическом уровне» (ғылыми туынды) атауымен тіркелгені куәландырылады.

Авторлардың өтініші бойынша авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлдітік құқықтар және 2017 жылғы 20 қарашада жасалған объекті М.Ж. Еспенбетоваға, А.С. Крыкпаеваға тиесілі және авторлар жоғарыда көрсетілген объектіні жасаған кезде басқа адамдардың зияткерлік меншік құқығы бұзылмағандығына кепілдік береді.

Тізілімде 2018 жылғы 17 шілдеде жасалған № 2343 жазба бар.

Вице-министр  Н. Пан



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации прав на объект авторского права

№ 2343 17 июля 2018 г.

Настоящим удостоверяется, что в Министерстве юстиции Республики Казахстан зарегистрированы исключительные имущественные права на объект авторского права под названием «Ранняя диагностика рака щитовидной железы на молекулярно-генетическом уровне» (произведение науки), авторами которого по заявлению авторов являются Еспенбетова Майра Жаксимановна, Крыкпаева Айнур Сериковна.

По заявлению авторов исключительные имущественные права на объект авторского права, созданный 20 ноября 2017 года, принадлежат Еспенбетовой М.Ж., Крыкпаевой А.С. и авторы гарантируют, что при создании вышеуказанного объекта не были нарушены права интеллектуальной собственности других лиц.

Запись в реестре за № 2343 от 17 июля 2018 года имеется.

Вице-министр  Н. Пан



ис 3487

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Удостоверение на рационализаторское предложение «Способ определения специфического онкомаркера FOXE1 (rs965513)»



УДОСТОВЕРЕНИЕ

на рационализаторское предложение
№ 2430

Настоящее удостоверение выдано
Крыкпаевой А.С. и др.
(фамилия, имя, отчество)

на принятое БРИЗом Государственного
медицинского университета города Семей к
внедрению рационализаторское предложение

Способ определения специфического
онкомаркера FOXE1 (rs965513).



М.П. Ректор

Т. Рахыпбеков

«14» марта 2017 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Удостоверение на рационализаторское предложение «Анкета выявления состояния функции щитовидной железы»



УДОСТОВЕРЕНИЕ

на рационализаторское предложение
№ 2388

Настоящее удостоверение выдано
Крыкпаевой А.С. и др.

(фамилия, имя, отчество)

на принятое БРИЗом Государственного
медицинского университета города Семей к
внедрению рационализаторское предложение

Анкета для выявления состояния
функции щитовидной железы.



М.П. Ректор

Т. Рахымбеков

«19» февраля 2015 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

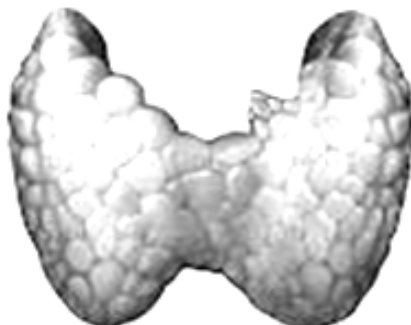
Анкета выявления состояния функции щитовидной железы

Оценка состояния и функции щитовидной железы

Дата _____

АНКЕТА

Ф.И.О. больного _____
Пол _____ национальность _____
Дата рождения _____ место рождения _____
Место проживания в данный момент _____
С какого периода живете в дан. регионе _____
Образование _____
Место работы _____
Вредные привычки _____
Контактный телефон, сот. _____
E-mail _____
Имеются ли в семье больные с зобом: _____
Было ли рак щитовидной железы в семье _____
Жалобы _____
Когда была обнаружена патология щит. жел. _____
Диагноз _____
Получали ли лечение _____
Какое лечение получили _____
УЗИ щитовидной железы на момент обследования:
Контур _____ Эластичность _____
Размеры щитовидной железы: V _____ перешеек _____
Правая доля _____ левая доля _____
Эхоструктура: _____
Эхогенность: _____
Узлы: Правая доля: _____ Левая доля _____
Заключение: _____
Биопсия _____
ТТГ _____ Т4 _____ АТ ТПО _____ АТ ТТГ _____
Сахар крови натощак _____ после еды _____
ХС _____ ЛПВП _____ ЛПНП _____ Триглицериды _____
Коэффициент атерогенности _____ Склеротерапия _____
Вес _____ Рост _____ ОТ _____



ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Форма информированного согласия пациента

ИНФОРМИРОВАННОЕ ДОБРОВОЛЬНОЕ СОГЛАСИЕ ПАЦИЕНТА ИССЛЕДОВАНИЕ

В РАМКАХ ВЫПОЛНЕНИЯ НАУЧНОЙ РАБОТЫ ПО ТЕМЕ «Ранняя диагностика рака щитовидной железы на молекулярно-генетическом уровне»

На кафедре интернатуры по ОВП (общей врачебной практике с курсом эндокринологии) ГМУ г. Семей

Цель работы: Выявить связь однонуклеотидных полиморфизмов генов FOXE1 (rs 965513) и NKX2-1(rs 944289) у больных с папиллярным раком щитовидной железы среди казахской популяции, для использования в качестве дополнительных диагностических маркеров и выбора персонализированной тактики послеоперационного лечения.

Задачи:

1. Провести эпидемиологическую оценку злокачественных опухолей щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области.
2. Изучить частоту встречаемости полиморфизмов генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1(rs 965513) в исследуемых группах казахской популяции.
3. Проанализировать ассоциацию полиморфизмов генов NKX2-1 (rs944289) и FOXE1 (rs 965513) с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции.
4. Разработать алгоритм диагностики новообразования ЩЖ на основе молекулярно-генетических исследований.

Пациент отдает себе отчет и том, что он/она может в любой момент отказаться от участия в исследовании и что такой отказ ни в коей мере не повлияет на на его /ее дальнейшее лечение или медицинскую помощь.

Предполагается, что ни в каких сообщениях по данному исследованию не будет указано имя пациента или сообщено какому-либо третьему лицу.

Подписывая эту форму, я не теряю никаких прав, принадлежащих мне закону. Я имел/а возможность задать вопросы, на которые получила удовлетворившие меня ответы. Я, _____

(Ф.И.О. полностью)

даю добровольное согласие на проведение следующей манипуляции:

Забор венозной крови для определения:

онкомаркеров рака щитовидной железы ДА НЕТ

Мне в доступной и понятной форме разъяснены правила подготовки к лабораторным исследованиям и возможные погрешности в результатах при их несоблюдении, вероятные риски манипуляций (боль или дискомфорт при введении иглы, гематома в области пункции вены, обморок).

Я подтверждаю, что согласен (-а) с тем, что результаты исследования будут готовы не менее чем через 6 мес и претензий по обоснованности их выполнения предъявлять не буду.

Я утверждаю, что все интересующие меня вопросы мною заданы, все полученные ответы и разъяснения представителя кафедры интернатуры по ОВП(общей врачебной практике), ГМУ г. Семей мною поняты, возможный риск предстоящих манипуляций мною осознан.

Я получила экземпляр «Информированного согласия пациента»

« _____ » _____ 20__ года Подпись пациент _____

Ф.И.О и подпись представителя кафедры интернатуры по ОВП

ГМУ г. Семей: Крыкпаева А.С. _____

Если у Вас возникнут какие-либо вопросы Вы можете обратиться в Этический комитет ГМУ г. Семей тел: 8(7222) 569755 (внутрен 1047) г. Семей ул. Абая 103

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Акт внедрения

G-041.07.08.28-2015

Акт внедрения результатов
научно-исследовательской работы

Ред. 1. Страница 1 из 1

А К Т № 2430

внедрения результатов научно-исследовательской работы

Государственный медицинский университет г. Семей
наименование учреждения, где внедряется работа

Наименование предложения: Определение специфического онкомаркера папиллярного рака щитовидной железы FOXE1 (rs965513).

Работа внедрена в инициативном порядке (по материалам докторской диссертации PhD Крыкпаевой А.С.)

Форма внедрения - способ

Ответственный за внедрение и исполнитель - докторант PhD Крыкпаева А.С.

Эффективность внедрения - исследование данных специфических маркеров позволит сформировать группы риска для более интенсивного наблюдения и выявления папиллярного рака щитовидной железы на раннем этапе.

Предложения, замечания, учреждения, осуществляющего внедрение - нет

Срок внедрения 2017 г.

Ректор



Т.К.Рахыпбеков

Исполнитель

А.С.Крыкпаева