

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

Greta Gedvilaitė-Vaicechauskienė

**GENETINIŲ IR MOLEKULINIŲ
PROGNOZINIŲ ŽYMENŲ REIŠMĖ
HIPOFIZĖS ADENOMOS BIOLOGINIAM
AKTYVUMUI, INVAZYVUMUI,
ATKRYČIUI IR DYDŽIUI**

Daktaro disertacija
Gamtos mokslai,
biologijos mokslo kryptis (N 010)

Kaunas, 2026

Disertacija rengta 2021–2025 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Medicinos akademijos Neuromokslų instituto Oftalmologijos laboratorijoje.

Mokslinė vadovė

prof. dr. Rasa Liutkevičienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, gamtos mokslai, biologija – N 010).

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Biologijos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkė

prof. dr. Astra Vitkauskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, gamtos mokslai, biologija – N 010).

Nariai:

dr. Paulina Vaitkienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, gamtos mokslai, biologija – N 010);

prof. dr. Jurgita Skiecevičienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, gamtos mokslai, biologija – N 010);

prof. dr. Janina Tutkuvienė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

doc. habil. dr. Darius Kalasauskas (Miuncheno universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija bus ginama viešajame Biologijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2026 m. birželio 12 d. 14 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Naujausių farmacijos ir sveikatos technologijų centro A-202 auditorijoje. Disertacijos gynimo vietos adresas: Sukilėlių pr. 13, LT-50162 Kaunas.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

Greta Gedvilaitė-Vaicechauskienė

**THE ROLE OF GENETIC AND
MOLECULAR PROGNOSTIC MARKERS
IN THE BIOLOGICAL ACTIVITY,
INVASIVENESS, RECURRENCE AND
SIZE OF PITUITARY ADENOMAS**

Doctoral Dissertation
Natural Sciences,
Biology (N 010)

Kaunas, 2026

The dissertation has been prepared at the Laboratory of Ophthalmology, Neuroscience Institute, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2021–2025.

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Rasa Liutkevičienė (Lithuanian University of Health Sciences, Natural Sciences, Biology – N 010).

The dissertation is defended at the Biology Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences:

Chairperson

Prof. Dr. Astra Vitkauskienė (Lithuanian University of Health Sciences, Natural Sciences, Biology – N 010).

Members:

Dr. Paulina Vaitkienė (Lithuanian University of Health Sciences, Natural Sciences, Biology – N 010);

Prof. Dr. Jurgita Skiecevičienė (Lithuanian University of Health Sciences, Natural Sciences, Biology – N 010);

Prof. Dr. Janina Tutkuvienė (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Assoc. Prof. Habil. Dr. Darius Kalasauskas (Munich University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

Dissertation will be defended at the open session of the Biology Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences at 2 p.m. on the 12th of June, 2026 in the Auditorium A-202 of the Centre for the Advanced Pharmaceutical and Health Technologies of Lithuanian University of Health Sciences.

Address: Sukilėlių 13, LT-50162 Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SANTRUMPOS.....	6
ĮVADAS.....	8
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	12
1.1. Hipofizės adenomos: klinikinė reikšmė, klasifikacija ir patogenezė	12
1.2. Telomeros ir telomerų homeostazė HA kontekste	14
1.3. JAK–STAT, SSTR ir AIP: papildomi mechanizmai HA patogenezėje.....	16
1.3.1. STAT4 ir JAK–STAT signalizacija.....	16
1.3.2. Somatostatino receptoriai (SSTR) ir AIP	17
1.4. Vieno nukleotido variantai tiriamų genų panelėje	19
2. TYRIMO METODIKA	21
2.1. Tyrimo struktūra ir tiriamasis kontingentas	21
2.2. Tyrimo metodai	23
2.2.1. DNR išskyrimas ir koncentracijos įvertinimas	23
2.2.2. Vieno nukleotido variantų nustatymas	24
2.2.3. Baltymų koncentracijos nustatymas	26
2.2.4. Santykinio leukocitų telomerų ilgio nustatymas.....	28
2.2.5. TL-PGR reakcijų efektyvumas	29
2.2.6. Santykinio leukocitų telomerų ilgio apskaičiavimas	30
2.2.7. Ki-67 nustatymas	30
2.3. Statistinė duomenų analizė.....	31
2.4. Tyrimo imtis.....	32
3. REZULTATAI.....	33
3.1. Pirmasis tyrimas	33
3.2. Antrasis tyrimas	49
3.3. Trečiasis tyrimas	65
3.4. Ketvirasis tyrimas.....	82
4. REZULTATŲ APTARIMAS	95
IŠVADOS	110
SUMMARY	111
BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS.....	134
PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA.....	143
PRIEDAI.....	145
CURRICULUM VITAE.....	147
PADĖKA	148

SANTRUMPOS

A	– adeninas
AKTH	– adrenokortikotropinis hormonas
ALT	– alternatyvus telomerų ilginimas
C	– citozinas
cAMP	– ciklinis adenozino monofosfatas
CST	– telomerų replikacijos kompleksas
CTC1	– CST telomerų replikacijos komplekso komponentas 1
DNR	– deoksiribonukleorūgštis
EDTA	– etilendiaminotetraacto rūgštis
FSH	– folikulus stimuliuojantis hormonas
G	– guaninas
GH	– augimo hormonas
GS	– galimybių santykis
GWAS	– viso geno asociacijos analizė (angl. <i>Genome-wide association study</i>)
HA	– hipofizės adenoma
HCC	– hepatocelulinė karcinoma
HWE	– Hardžio–Vainbergo pusiausvyra
ILK	– inkstų ląstelių karcinoma
IQR	– interkvartilinis plotis
JAK	– Januso kinazės
LD	– porinės sąsajos disbalansas (angl. <i>linkage disequilibrium</i>)
LH	– liuteinizuojantis hormonas
MAF	– minorinio alelio dažnis
NET	– neuroendokrininiai navikai
PBC	– pirminė tulžies cirozė
PRL	– prolaktinas
PsA	– psoriazinis artritas
PSO	– Pasaulinė sveikatos organizacija
RNR	– ribonukleorūgštis
SLTI	– santykinis leukocitų telomerų ilgis
SN	– standartinis nuokrypis
SSTR1	– somatostatino receptorių 1
SSTR2	– somatostatino receptorių 2
SSTR3	– somatostatino receptorių 3
SSTR4	– somatostatino receptorių 4
SSTR5	– somatostatino receptorių 5
SSTR5-AS1	– SSTR5 antisensinis RNR transkriptas 1
STAT4	– signalų perdavimo ir transkripcijos aktyvatorius 4
T	– timinas
TEP1	– su telomeraze susijęs baltymas 1
TERC	– telomerazės RNR komponentas
TERF1	– telomerinių pasikartojimų surišimo faktorius 1
TERF2	– telomerinių pasikartojimų surišimo faktorius 2
TERT	– telomerazės reversinė transkriptazė
TNKS2	– tankirazė 2
TSH	– skydliaukę stimuliuojantis hormonas

ŪML	– ūminė mieloidinė leukemija
VNV	– vieno nukleotido variantas
vs.	– palyginti (lot. <i>versus</i>)
ZNF676	– cinko piršto baltymas 676
χ^2	– chi kvadrato testas

ĮVADAS

Hipofizės adenomos (HA) sudaro apie 14,1 proc. visų pirminių smegenų navikų ir yra viena dažniausių jų formų [1]. Nors HA dažniausiai priskiriamos gerybiniais navikams [2], daliai jų būdingas invazyvus augimas, sukeliantis hipopituitarizmą ar regos lauko sutrikimus. Pagrindinis gydymo metodas – chirurginė rezekcija [3]; tačiau iki trečdaliao atvejų nustatomas ligos atkrytis, tiek funkcionuojančioms, tiek nefunkcionuojančioms HA. Todėl atkryčio pasireiškimo galimybės nustatymas yra labai svarbus ilgalaikiam stebėjimui ir gydymo planavimui [1].

Klinikinėje praktikoje HA klasifikuojamos pagal dydį (mikroadenomos < 10 mm, makroadenomos \geq 10 mm; milžiniškos adenomos \geq 40 mm), pagal funkcionalumą (funkcionuojančios ir nefunkcionuojančios) bei invazyvumą [4, 5]. Funkcionuojančios HA (pvz., prolaktinomos, somatotropinomos, kortikotropinomos, tiotropinomos ar gonadotropinomos) sukelia hormonų hipersekrecijai būdingus klinikinius simptomus, o nefunkcionuojančios dažnai diagnozuojamos vėliau ir neretai būna kliniškai agresyvesnės dėl masės efekto [6–8]. Vienas svarbiausių prognozinių požymių yra invazyvumas: naviko plitimas į aplinkines struktūras siejamas su sudėtingesne chirurgija, didesne komplikacijų bei atkryčio rizika [5, 9].

HA patogenezė yra daugiafaktorinė ir apima genetinius bei epigenetinius pokyčius, tokius kaip genų mutacijos, chromosomų anomalijos, DNR metilimas, mikroRNR reguliavimas bei transkripcijos veiksnių moduliavimas [7, 10, 11]. Naviko prognozavimui svarbūs ir proliferacijos rodikliai – Ki-67 proliferacijos indeksas laikomas vienu svarbiausių HA biologinio aktyvumo ir prognozės žymenų [12–14].

Telomeros – eukariotų chromosomų galuose esantys nukleoproteinų kompleksai, kurių ilgis trumpėja su amžiumi, o progresuojantis trumpėjimas siejamas su ląstelių senėjimu, apoptoze ir onkogenine transformacija [15]. Trumpesnis telomerų ilgis siejamas su didesniu sergamumu ir prastesnėmis išgyvenamumo prognozėmis [16]. Telomerų vientisumą palaiko Shelterino kompleksas, formuojantis T-kilpų struktūras ir apsaugantis chromosomų galus nuo klaidingo DNR pažaidos atpažinimo [17, 18]. Telomerų reguliacijoje taip pat svarbus telomerų replikacijos (CST) kompleksas, dalyvaujantis telomerų replikacijoje ir genomo stabilumo palaikyme [19]. Tarp svarbių telomerų ilgio reguliatorių minimi telomerinių pasikartojimų surišimo faktoriai TERF1 ir TERF2 bei tankirazė 2 (TNKS2), kurių raiškos pokyčiai gali būti susiję su telomerų ilgio reguliacija ir navikine transformacija [20, 22]. Be to, CST telomerų replikacijos komplekso komponentas 1 (CTC1) dalyvauja telomerų ilgio reguliacijoje ir genomo stabilumo palaikyme [23]. Pastaraisiais

metais aktyviai tiriama mažų molekulių inhibitoriai, nukreipti į Shelterino ir CST kompleksus, siekiant vertinti jų terapinį potencialą su telomeromis susijusių patologijų gydyme [24].

Telomerų palaikyme svarbi telomerazė – ribonukleoproteininis holoenzimas, sudarytas iš katalizinio subvieneto telomerazės reversinės transkriptazės (TERT), telomerazės RNR komponento (TERC) ir su telomeraze susijusio baltymo 1 (TEP1). TERT, naudodamas TERC kaip šabloną, pailgina telomerų 3' galus, o TEP1 dalyvauja telomerazės komplekso stabilizavime [15, 20].

Pastaraisiais metais daug dėmesio skiriama ir cinko pirštų baltymui 676 (ZNF676), kuris gali dalyvauti telomerų palaikymo procesuose reguliuodamas su telomeromis susijusių genų raišką [23–26].

Kita svarbi kryptis – signalų perdavimo ir transkripcijos aktyvatoriaus 4 (STAT4) vaidmuo naviko mikroaplinkoje. STAT4 aktyvuojamas JAK (Januso kinazių) signalizacijos keliu ir dalyvauja imuninio atsako bei uždegimo reguliacijoje, kurie laikomi svarbiais navikų vystymosi veiksniais [27–29].

Svarbią klinikinę reikšmę HA kontekste turi ir somatostatino receptoriai (SSTR1–SSTR5), ypač SSTR2 ir SSTR5, bei su arilo angliavandenilio receptoriumi sąveikaujantis baltymas (AIP). SSTR reguliuoja ląstelių signalizaciją per adenilciklazės slopinimą, jonų kanalų moduliaciją ir tirozino fosfatazių aktyvaciją [30, 31]. Neuroendokriniuose navikuose SSTR ekspresija gali būti reguliuojama epigenetiniais mechanizmais, o padidėjusi SSTR2 membraninė raiška laikoma svarbiu terapiniu taikiniu [32, 33]. *AIP* yra supresorinis genas, kurio mutacijos nustatomos tiek šeiminiuose, tiek sporadiniuose hipofizės neuroendokriniuose navikuose (PitNET) [34–38].

Atsižvelgiant į HA biologinį heterogeniškumą bei molekulinis pagrindus, šiame darbe tiriama telomerų reguliacijoje ir naviko signaliniuose keliuose dalyvaujantys žymenys (TERT, TERC, TEP1, TERF1/TERF2, TNKS2, CTC1, ZNF676, STAT4, SSTR2, SSTR5, AIP), telomerų ilgis bei Ki-67 proliferacijos indeksas, vertinant jų ryšį su HA pasireiškimu. Toks integruotas vertinimas gali padėti geriau suprasti HA biologiją ir sudaryti prielaidas individualizuotai pacientų stebėsenai bei gydymo planavimui.

Darbo tikslas ir uždaviniai

Darbo tikslas

Įvertinti telomerų biologijos, JAK–STAT ir somatostatino signalinių kelių genetinių variantų, jų koduojamų baltymų bei santykinio leukocitų telomerų ilgio sąsajas su hipofizės adenomos pasireiškimu ir naviko biologiniu elgesiu (aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu).

Uždaviniai

1. Nustatyti *TERC*, *TEP1*, *TERT* genų vieno nukleotido variantų ir santykinio leukocitų telomerų ilgio sąsajas su hipofizės adenoma bei su hipofizės adenomos aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu.
2. Nustatyti *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, *TERF2* genų vieno nukleotido variantų, *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, *TERF2* baltymų, santykinio leukocitų telomerų ilgio sąsajas su hipofizės adenoma bei su hipofizės adenomos aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu.
3. Nustatyti *STAT4* vieno nukleotido variantų ir *STAT4* baltymo bei haplotipų sąsajas su hipofizės adenoma bei su hipofizės adenomos aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu.
4. Nustatyti *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir *AIP* rs267606574 vieno nukleotido variantų ir baltymų sąsajas su hipofizės adenomos pasireiškimui ir naviko proliferaciniu aktyvumu, vertinamu pagal Ki-67 proliferacijos indeksą.

Mokslinis naujumas

Molekuliniai žymenys apibūdinami kaip molekulinio lygmens rodikliai, atspindintys organizme vykstančius biologinius ir patologinius procesus bei organizmo reakciją į taikomą farmakologinį gydymą, todėl jie gali būti svarbūs ligos diagnozei bei jos prognozei [39]. HA atsiradimą lemiantys patogeneziniai mechanizmai gali būti genetiniai ar epigenetiniai, dėl kurių gali atsirasti ląstelių reguliacijos sutrikimai, signalinių kelių defektai arba naviko slopinimo faktorių praradimas [11]. Šiame darbe atlikta kompleksinė HA molekulinų žymenų analizė, apimanti telomerazės ir telomerų biologijos mechanizmus, su uždegiminiu atsaku susijusius genetinius veiksnius ir somatostatino receptorių.

Atlikus keturis nuoseklius tyrimus, Lietuvoje pirmą kartą kompleksiskai įvertintos telomerų ir telomerazės biologijos, imuninės signalizacijos bei somatostatino receptorių sistemos genetinės sąsajos su HA. Nustatytos šios statistiškai reikšmingos sąsajos:

- Telomerazės ir telomerų biologijos kontekste identifikavome *TERC* rs35073794 kaip stipriausiai su HA susijusį VNV: AG genotipas statistiškai reikšmingai siejasi su didesne HA pasireiškimu galimybe ir makro HA, tačiau su mažesne aktyvių, neaktyvių, invazinių, neinvazinių ir mikro HA pasireiškimu galimybe.
- HA grupėje nustatytas ilgesnis santykinis leukocitų telomerų ilgis (SLTI); be to, *TERF1* rs1545827 T alelis siejamas su mažesne

trumpų telomerų pasireiškimo galimybe, o *CTC1* rs3027234 TT siejamas su ilgų telomerų fenotipu. Kraujo serume HA pacientams nustatyta padidėjusi TERF2, sumažėjusi TERF1 ir CTC1 koncentracija. *TNKS2* rs10509637 (G/GG) siejami su didesne HA pasireiškimo galimybe (taip pat su HA atkryčiu), o *TERF1* rs1545827 – su mažesne HA pasireiškimo galimybe.

- Imuninės signalizacijos lygmeniu *STAT4* rs7574865 (GT+GG) siejamas su didesne HA pasireiškimo galimybe; vyrams papildomai reikšmingas rs10168266 (CC+CT). Taip pat nustatyta didesnė *STAT4* koncentracija kraujo serume HA grupėje lyginant su kontroline grupe.
- *SSTR2* rs2236750 AG siejamas su didesne HA pasireiškimo galimybe. *SSTR2/SSTR5/AIP* koncentracijos kraujo serume tarp grupių nesiskyrė.
- Ki-67 daugumai pacientų buvo mažesnis nei 1 proc., o reikšmingų sąsajų su invazyvumu, aktyvumu, atkryčiu, dydžiu ar tirtais VNV nenustatyta.

Gauti rezultatai papildė esamas žinias apie genetinių ir molekulinį veiksmų sąsajas su HA biologiniu elgesiu, pirmą kartą kompleksškai įvertinant telomerų biologijos, imuninės signalizacijos ir somatostatino receptorių sistemos žymenis vienoje pacientų kohortoje, ir sudaro prielaidas tolesniems tyrimams, skirtiems ligos eigos vertinimui.

Atlikus sistemingą literatūros paiešką „PubMed“, „MEDLINE“ bei kitose tarptautinėse mokslinėse duomenų bazėse, publikacijų, kompleksškai analizuojančių minėtų molekulinį sistemų sąsajas su HA, aptikti nepavyko.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Hipofizės adenomos: klinikinė reikšmė, klasifikacija ir patogenezė

Hipofizės adenomos (HA) sudaro apie 14,1 proc. visų pirminių smegenų navikų ir yra vieni dažniausių šios lokalizacijos navikų [1]. Jos klasifikuojamos pagal dydį (mikroadenomos, makroadenomos), histologinę kilmę ir hormoninį aktyvumą. Kliniškai skiriamos funkcionuojančios ir nefunkcionuojančios HA [8]. Palyginti su funkcionuojančiomis, nefunkcionuojančios HA yra agresyvesnės ir sunkiau atpažįstamos, nes jos dažnai besimptomės ir išryškėja tik tada, kai HA padidėja ir pradeda spausti aplinkines struktūras [7]. Funkcionuojančios HA didina specifinių adenohipofizės hormonų (pvz., augimo hormono (GH), skydliaukę stimuliuojančio hormono (TSH), adrenokortikotropinio hormono (AKTH), folikulus stimuliuojančio hormono (FSH), liuteinizuojančio hormono (LH)) sekreciją [6, 40]. Jei HA neišskiria pakankamo kiekio hormonų, kad jie būtų aptinkami kraujyje arba sukeltų klinikiškus požymius, ji priskiriama nefunkcionuojančioms [41–43]. Prolaktinomos sudaro 40–57 proc. visų HA; toliau pagal dažnį seka nefunkcionuojančios HA (28–37 proc.), augimo hormoną išskiriančios HA (11–13 proc.) ir su AKTH susijusios HA; FSH, LH ar TSH sekretuojančios HA nustatomos retai [41]. Navikai taip pat skirstomi pagal dydį: ≥ 10 mm dydžio laikoma makroadenoma, mažesnė nei 10 mm – mikroadenoma; milžiniškos adenomos ≥ 40 mm. Mikroadenomos nustatomos kiek dažniau nei makroadenomos (57,4 proc. ir 42,6 proc.) [41, 42].

Nors HA priskiriamos nevėžiniams dariniams [2], dalis jų pasižymi invaziniu augimu ir gali sukelti komplikacijas, tokias kaip hipopituitarizmas ar regos lauko sutrikimai dėl aplinkinių struktūrų suspaudimo. Pagrindinis gydymo metodas yra chirurginė rezekcija, dažniausiai atliekama transfenoidiniu būdu [3]. Vis dėlto, nepaisant chirurginės intervencijos, iki trečdaliao atvejų pasireiškia atkrytis, pasitaikantis tiek funkcionuojančioms, tiek nefunkcionuojančioms HA; todėl atkryčio rizikos nustatymas yra itin svarbus priimant sprendimus dėl ilgalaikio stebėjimo ir adjuvantinio gydymo [1].

Viena svarbiausių HA savybių – invazyvumas, susijęs su aplinkinių struktūrų destrukcija, komplikacijomis ir blogesne prognoze [9]. Literatūros duomenimis, HA būdingas atkrytis, tačiau išsamių tyrimų apie jo dažnį ir susijusius klinikiškus veiksnius yra nedaug [4]. HA klinikinės charakteristikos aprašytos 1.1.1 lentelėje.

1.1.1 lentelė. Hipofizės adenomų klinikinės charakteristikos

Savybė	Kategorijos / apibrėžtys	Klinikinės pastabos
Dydis	Mikroadenoma: < 10 mm; Makroadenoma: ≥ 10 mm	Mikroadenomos nustatomos kiek dažniau; makroadenomos dažniau sukelia masės efektą ir regos sutrikimus.
Funkcionalumas	Funkcionuojančios HA: • Prolaktinoma (PRL) • Somatotropinoma (GH) • Kortikotropinoma (AKTH) • Tirotropinoma (TSH) • Gonadotropinė (FSH/LH) Nefunkcionuojančios HA: kliniškai/ biochemiškai reikšmingos sekrecijos nėra	Funkcionuojančios HA diagnozuojamos anksčiau dėl hormoninių sutrikimų; Nefunkcionuojančios HA neretai atpažįstamos vėliau ir gali atrodyti agresyvesnės dėl masės efekto.
Invazyvumas	Neinvazyvios HA: nepasireiškia plitimas Invazyvios HA (pvz., kaverninio sinuso ar kitų struktūrų įaugimas)	Invazyvumas siejamas su sudėtingesne chirurgija, komplikacijomis ir prastesne prognoze.
Atkrytis	Po chirurginės rezekcijos	Gali pasireikšti tiek funkcionuojančioms HA, tiek nefunkcionuojančioms HA; aprašoma iki trečdaliao atvejų, todėl būtinas ilgalaikis stebėjimas ir adjuvantinių intervencijų svarstymas.

Šaltiniai lentelės turiniui: [1, 4–7, 9, 41, 42].

HA patogenezė daugiafaktorinė – ją lemia genų mutacijos, chromosomų anomalijos, DNR metilinimas, mikroRNR reguliacija ir transkripcijos veiksnių moduliacija. Nenormali ląstelių ciklo genų raiška, onkobaltymų aktyvacija arba slopinamųjų veiksnių praradimas hipofizėje gali išbalansuoti augimo veiksnių signalizavimą [7, 10, 11]. Šių procesų kaita lemia ląstelių ciklo kontrolės praradimą, sekrecijos fenotipo susiformavimą ir audinių invaziją, kuri kliniškai pasireiškia naviko augimu, hormonų hipersekrecija ar hiposekrecija ir atkryčiu po gydymo [7, 9–11]. Todėl subląstelinų mechanizmų supratimas yra aktualus identifikuojant naviko agresyvumo žymenis ir plėtojant naujus tikslinius gydymo metodus [11].

Prognoziškai reikšmingi proliferacijos rodikliai: kai agresyviuose atvejuose mitozės retos, Ki-67 proliferacijos indeksas tampa svarbiu proliferacijos rodikliu ir pagal naujausią Pasaulinės sveikatos organizacijos (PSO) klasifikaciją išlieka reikšmingu HA prognozės veiksniu. Nuo XX a. devintojo dešimtmečio Ki-67 ryšys su naviko dydžiu, tipu, invazyvumu, atkryčiu ir piktybiškumu tirtas plačiai, o nuosekliausiai patvirtinta sąsaja su invazyvumu [12–14].

1.2. Telomeros ir telomerų homeostazė HA kontekste

Telomeros – nukleoproteinų kompleksai, lokalizuoti eukariotų chromosomų galuose. Jos su amžiumi trumpėja, o progresuojantis trumpėjimas siejamas su somatinių ląstelių senėjimu, apoptoze ar onkogenine transformacija [15]. Trumpesnis telomerų ilgis siejamas su didesniu sergamumu ir blogesnėmis išgyvenamumo prognozėmis [16]. Telomeros glaudžiai sąveikauja su shelterino kompleksu, kuris saugo chromosomas nuo galinių jungčių susijungimo ir skilimo, formuodamas T-kilpų struktūras [17, 18]. Taip jos apsaugomos nuo klaidingo atpažinimo kaip DNR dvigubos grandinės lūžių, palaikant chromosomų stabilumą [44]. Kitas svarbus telomerų reguliacijos elementas – CST kompleksas, slopinantis telomerazės aktyvumą, besijungiantis prie viengrandės DNR ir skatinantis atsiliekančios grandinės sintezę [19]. Tiesioginiai telomerų ilgio slopintojai TEF1 ir TEF2, jungdamiesi prie telomerinių pasikartojimų, veikia kaip telomerazės inhibitoriai [20]. Per didelę jų raiška lemia telomerų trumpėjimą, o sumažėjusi – pailgėjimą [21]. Tankirazės 2 (TNKS2) per didelę raiška navikinėse ląstelėse gali būti susijusi su telomerų pailgėjimu ir galimu onkogeniniu vaidmeniu [22]. CTC1, priklausantis CST kompleksui, taip pat susijęs su leukocitų telomerų ilgio reguliacija ir genomo stabilumo palaikymu [23]. Šiuo metu tiriamos mažosios molekulės, nukreiptos į Shelterino ir CST kompleksą, siekiant įvertinti jų potencialą gydant su telomeromis susijusias patologijas [24].

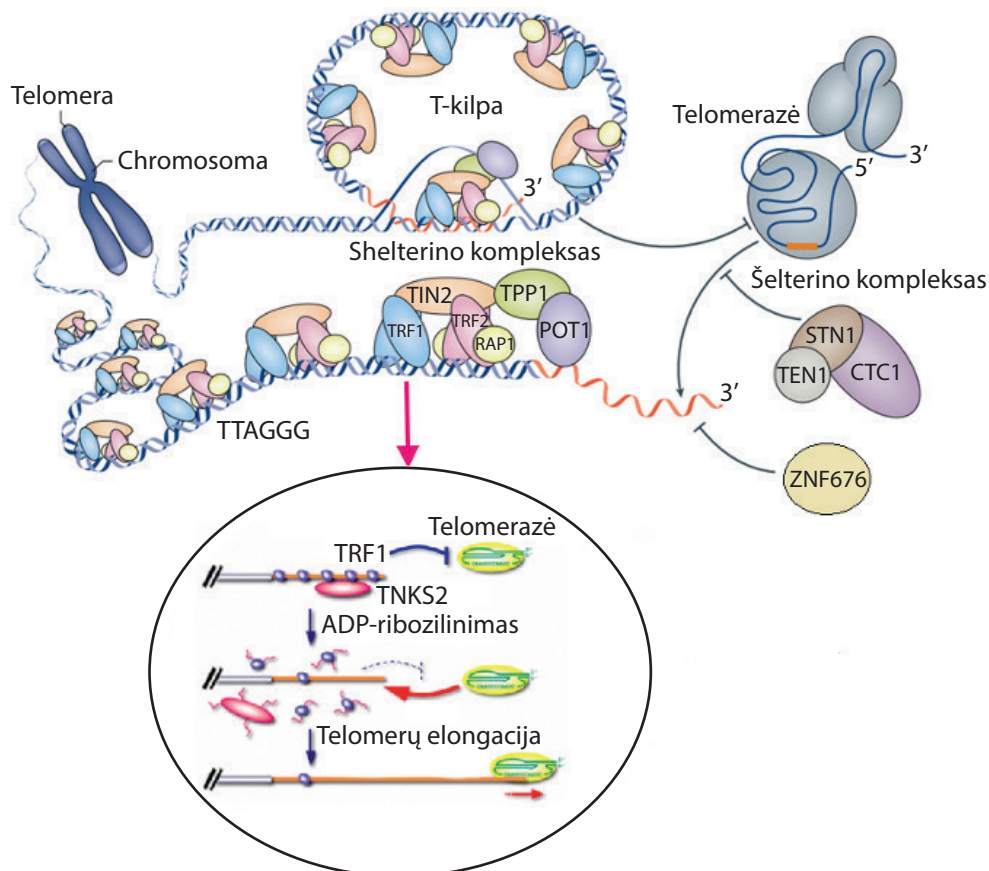
Telomerų palaikymą lemia telomerazė – ribonukleoproteininis fermentas, kurio pagrindiniai komponentai yra TERT (katalizinis subvienetas), TERC (RNR komponentas, teikiantis šabloną TTAGGG pasikartojimams) ir TEP1 (komplekso architektūros/stabilizacijos baltymas). TERT, naudodamas TERC kaip šabloną, pailgina telomerų 3' galus. Šį procesą papildomai koordinuoja su telomeromis susieti baltymai bei DNR antrinės struktūros (pvz., G-kvadrupleksai), galintys riboti polimerazės prieigą. TEP1, nors katalizinei reverstranskripcijai nėra būtinas, gali daryti įtaką telomerazės komplekso surinkčiai ir funkcijai *in vivo* [15, 20]. Be telomerazės kelio, kai kuriuose navikuose veikia alternatyvus telomerų ilginimas (ALT) – rekombinacinis mechanizmas, kurio aktyvumą taip pat veikia shelterino/CST pusiausvyra [20].

ZNF676 – transkripcijos reguliatorius, turintis reikšmės telomerų homeostazei. Telomerų disfunkcija yra svarbus vėžio vystymosi veiksnys, siejamas su genomo nestabilumu ir ląstelių ciklo kontrolės praradimu [25]. Tačiau ZNF676 poveikio telomerų ilgiui mechanizmai tebėra neaiškūs [26]. Teoriškai ZNF676 gali moduluoti telomerų ilgį dviem būdais:

- tiesiogiai prisijungdamas prie DNR ir reguliuodamas telomerų palaikyme dalyvaujančių genų raišką bei jų potransliacinius pokyčius;

- skatindamas viengrandės telomerinės DNR susilankstymą į G-kvadrupleksą, kuris telomerų 3' gale slopina telomerų ilginimą telomerazės pagalba [23].

Šių sąsajų schema pateikta 1.2.1 paveiksle.



1.2.1 pav. Molekuliniai žymenys, dalyvaujantys telomerų ilgio reguliacijos procesuose (adaptuota pagal [17–20, 45, 46])

Atsižvelgiant į glaudų telomerų reguliacijos ryšį su onkogeneze, šiame darbe tiriamo, ar su telomeromis susiję genai ir baltymai sietini su HA išsivystymu.

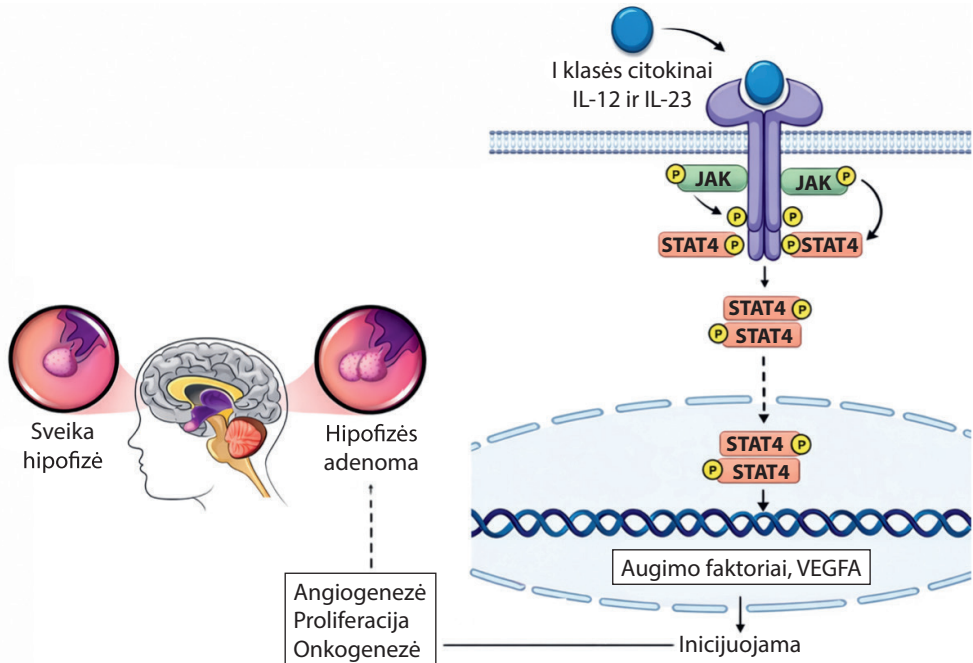
1.3. JAK–STAT, SSTR ir AIP: papildomi mechanizmai HA patogenezėje

1.3.1. STAT4 ir JAK–STAT signalizacija

Signalų perdavimo ir transkripcijos aktyvatorius 4 (STAT4) – JAK–STAT kaskados transkripcijos veiksnys, valdantis citokinų (ypač IL-12) indukuotą genų raišką ir formuojantis Th1/NK imuninį atsaką bei uždegiminę mikroaplinką [27–29]. Pagrindinis aktyvatorius – IL-12: per IL-12R β 2/IL-12R β 1 kompleksą suaktyvinami JAK2/TYK2, kurie fosforilina STAT4; šis dimerizuojasi ir branduolyje inicijuoja transkripciją [47, 50, 51]. STAT4 gali būti aktyvuojamas ir I tipo interferonų (IFN- α/β) per IFNAR–JAK1/TYK2 kelią, o silpnesnis signalas gaunamas per IL-23; taip moduluojamos CD8⁺ T ir NK ląstelių efektorinės funkcijos [47–51].

Lėtinis uždegimas yra žinomas vėžio išsivystymo rizikos veiksnys: padidėjęs uždegimo lygis kuria mikroaplinką, palankią naviko augimui ir progresavimui [29]. Todėl STAT4 disbalansas (hiperaktyvumas ar sutrikusi kontrolė) gali prisidėti prie onkogenezei palankios uždegiminės būklės. STAT4 atlieka svarbų vaidmenį reguliuojant genų raišką ir moduluojant imuninės sistemos atsaką į citokinų ir interferonų signalus [47]. Jis priklauso STAT baltymų šeimai, dalyvaujantį signalų perdavime ir transkripcijos aktyvime reaguojant į šiuos mediatorius [48].

JAK–STAT signalinis kelias yra esminis imuninės sistemos reguliavimui ir tokiems ląstelių procesams kaip proliferacija, diferenciacija ir apoptozė; jo veiklos pokyčiai prisideda prie navikogenezės [49]. Nesant citokinų, JAK baltymai išlieka neaktyvūs ties receptorių viduląsteliniais domenais; citokinui prisijungus, suaktyvinti JAK fosforilina STAT4, kuris dimerizuojasi ir branduolyje inicijuoja proliferacijoje dalyvaujančių genų transkripciją [50, 51]. Šio kelio hipersignalizacija palaiko lėtinį uždegimą, audinių remodeliavimą, angiogenezę ir imuninę naviko „apsaugą“, o tai siejama su naviko biologiniu elgesiu. Priešingai, efektyvus STAT4–IFN- γ kelio aktyvumas gali skatinti antinavikinį imuninį atsaką [28, 29, 54].



1.3.1.1 pav. *JAK–STAT signalinio kelio sąsajos su HA išsivystymu (scheminė santrauka pagal [50, 51])*

JAK-STAT4 signalo kelias apima JAK baltymus, kurie, nesant citokinų, lieka neaktyvūs šalia viduląstelių receptorių domenų. Citokinui prisijungus prie receptoriaus, JAK baltymai vykdo reciproką receptoriaus fosforilinimą ir fosforilina STAT4. STAT4 dimerizuojasi ir translokuojasi į branduolį, kur inicijuoja ląstelių proliferacijoje dalyvaujančių genų transkripciją. JAK: Januso kinazės baltymas; STAT: signalų perdavėjai ir transkripcijos aktyvatoriai.

Pastaraisiais dešimtmečiais atlikti *in vivo* ir *in vitro* tyrimai parodė, kad STAT4, reguliuodamas daugelį imuninio atsako aspektų, gali skatinti uždegimą, slopinti naviko augimą arba, priešingai, prisidėti prie naviko progresavimo [54]. Be to, STAT4 reguliuoja navikinių ląstelių migraciją ir proliferaciją [47]. Kadangi jis aktyvuojamas tiek naviko, tiek imuninėse ląstelėse, tikėtina, kad STAT4 moduluoja naviko ląstelių ir šeimininko imuniteto sąveiką [55].

1.3.2. Somatostatino receptoriai (SSTR) ir AIP

Somatostatino receptoriai (SSTR) veikia įvairiais būdais, įskaitant adenilciklazės slopinimą, rektifikuojančių K^+ kanalų stimuliavimą, Ca^{2+} kanalų laidumo mažinimą ir tirozino fosfatazės aktyvumo didinimą [30]. Visi penki potipiai (SSTR1–SSTR5) yra su G-baltymais susiję receptoriai, jų aktyvacija mažina cAMP/PKA signalizaciją, moduluoja MAPK/ERK ir PI3K/AKT kelius bei skatina SHP-1/2 tirozino fosfatazių aktyvumą, tai lemia anti-

sekrecinį, anti-proliferacinį ir pro-apoptozinį poveikį [30, 31]. Šie SSTR potipiai yra plačiai išreikšti tiek graužikų, tiek žmogaus audiniuose, o jų raiška stebima centrinėje nervų sistemoje ir pagumburyje [31]. Neuroendokrinių navikų (NET) kontekste 5 somatostatino receptorių potipiui (SSTR5) tenka reikšmingas vaidmuo, tačiau jo reguliavimo mechanizmai dar nėra iki galo iširti. Pedraza-Arevalo ir kt. atliktas tyrimas suteikia naujų įžvalgų ir rodo, kad SSTR5 raiška hipofizės NET gali būti epigenetiniu būdu reguliuojama – antisensiniu transkriptu SSTR5-AS1 ir DNR metiliniu [32]. Epigenetinis SSTR5 ekspresijos reguliavimas gali paaiškinti tarptumoringą jautrumo somatostatino analogams (SSA) kintamumą, ypač pasireotidui, turinčiam didelį afinitetą SSTR5 [31, 32]. Literatūros duomenimis, SSTR2 membrininė raiška NET ląstelėse, palyginti su nepakitusiomis ląstelėmis, padidėja maždaug 20 kartų, todėl SSTR2 laikomas potencialiu terapiniu taikiniu [33].

Arilvandenilio receptorių sąveikaujančio baltymo (AIP) mutacijos buvo išsamiai iširtos, ypač asmenų, kurie turi polinkį sirgti šeimyniniais ir sporadiniais hipofizės navikais [34]. AIP, veikiantis kaip supresorinis genas, koduoja 330 aminorūgščių ilgio baltymą, dalyvaujantį cAMP fosfodiesterazės signaliniame kelyje [35]. AIP sąveika su HSP90/AHR kompleksu ir PDE4 izoformų stabilizacija slopina cAMP kaupimąsi, todėl AIP funkcijos pokyčiai gali skatinti somatotropinių ląstelių proliferaciją ir GH sekreciją [35–37]. Labiausiai paplitę *AIP* variantai apima *nonsense* ir *missense* mutacijas, mutacijas splaisingo vietoje ir promotoriuje, taip pat dideles delecijas [36]. Dėl šių variantų dažnai susidaro sutrumpėjęs baltymas arba rečiau – tetratrikopeptidų pasikartojimo (TPR) domenai arba C-galinė α spiralė [37]. Be to, pacientams nustatytas heterozigotiškumo praradimas navikiniame audinyje *AIP* geno vietoje, 11q13 srityje [35]. Kai kurie *AIP* variantai yra reti genetiniai variantai, neturintys patogeninio poveikio ir nekeičiantys baltymo funkcijos. Šių dviejų aspektų atskyrimas yra svarbus, nes reti genetiniai variantai gali būti nustatomi ir kontrolinės grupės asmenims [36]. Nors yra žinoma nedaug šeiminių mutacijų, lemiančių paveldimą hipofizės navikų riziką, naujaisi duomenys rodo *AIP* geno mutacijų svarbą šeimyniniais atvejais ir jų galimą vaidmenį sporadinių somatotropinomų atveju. Daliai pacientų būdinga ankstyvesnė ligos pradžia ir didesnės apimties navikai [34–37]. Be to, duomenų apie genetines sąsajas su akromegalija ir SSTR literatūroje yra nedaug [38].

Šių duomenų sintezė pagrindžia, kodėl šiame darbe greta *SSTR* vertinamos ir *AIP* mutacijos bei jų ryšys su klinikiniais fenotipais: jos atspindi dvi glaudžiai susijusias ašis – G-baltyminius receptoriais perduodamą signalizaciją ir ciklinio adenozino monofosfato (cAMP) homeostazę – potencialiai lemiančias hipofizės NET molekulinės ir funkcinės savybes bei atsaką į gydymą [30–38].

1.4. Vieno nukleotido variantai tiriamų genų panelėje

Išanalizavę mokslinę literatūrą ir atliktus mokslinius HA genetinių žymenų tyrimus, savo darbui pasirinkome įvertinti genų *TEP1* rs1713418, rs1760904, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098, rs401681, *TNKS2* rs10509639, rs10509637, *CTC1* rs3027234, *ZNF676* rs412658, *TERF1* rs10107605, rs1545827, *TERF2* rs251796, *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266, *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, *AIP* rs267606574 VNV ir atitinkamų baltymų koncentracijas bei jų sąsajas su HA pasireiškimo galimybe. Šie genetiniai žymenys iki šiol nebuvo nagrinėjami atliekant molekulinį žymenų tyrimus, aiškinantis HA patogenezę molekuliniam lygmenyje.

Atsižvelgdami į HA patogenezės daugiasluoksniškumą, suformavome VNV panelę, atspindinčią:

- telomerų biologiją (*TERT*, *TERC*, *TEP1*, *TERF1*, *TERF2*, *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*);
- imuninę signalizaciją (*STAT4*);
- neuroendokrininius taikinius (*SSTR2*, *SSTR5*, *AIP*).

Pasirinkti VNV aprašyti 1.4.1 lentelėje.

1.4.1 lentelė. Pasirinktų VNV aprašymas

VNV	Genas	Lokusas (GRCh38)	Genominė sritis	Funkcinė anotacija	Šaltinis (duomenų bazė)
rs1713418	<i>TEP1</i>	14q11.2	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs1760904	<i>TEP1</i>	14q11.2	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs12696304	<i>TERC</i>	3q26.2	intergeninis / promotoriaus regionas	reguliacinis	dbSNP [56]; Ensembl [58]; UCSC [60]; GTEx [62]
rs35073794	<i>TERC</i>	3q26.2	promotoriaus regionas	reguliacinis / ncRNA sekos variantas	dbSNP [56]; RefSeq (TERC ncRNA) [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs2736098	<i>TERT</i>	5p15.33	egzonas	sinoniminis (p.Glu441=)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs401681	<i>TERT-CLPTMIL</i>	5p15.33	intronas	reguliacinis	dbSNP [56]; Ensembl [58]; UCSC [60]; GTEx [62]
rs10509639	<i>TNKS2</i>	10q23.31	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]

1.4.1 lentelė. Pasirinktų VNV aprašymas

VNV	Genas	Lokusas (GRCh38)	Genominė sritis	Funkcinė anotacija	Šaltinis (duomenų bazė)
rs10509637	<i>TNKS2</i>	10q23.31	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs3027234	<i>CTC1</i>	17p13.1	egzonas	reguliacinis	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs412658	<i>ZNF676</i>	19p13.12	intronas	introninis variantas	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs10107605	<i>TERF1</i>	8q24.12	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs1545827	<i>TERF1</i>	8q24.12	reguliacinis / intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; Ensembl [58]; UCSC [60]; GTEx [62]
rs251796	<i>TERF2</i>	16q22.1	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs10181656	<i>STAT4</i>	2q32.2	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]; GTEx [62]
rs7574865	<i>STAT4</i>	2q32.2	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]; GTEx [62]
rs7601754	<i>STAT4</i>	2q32.2	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs10168266	<i>STAT4</i>	2q32.2	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs2236750	<i>SSTR2</i>	17q24.3	egzonas	kodavimo srities variantas	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]
rs34037914	<i>SSTR5</i>	16p13.3	intronas	introninis (galimas reguliacinis)	dbSNP [56]; Ensembl [58]; UCSC [60]; GTEx [62]
rs267606574	<i>AIP</i>	11q13.3	egzonas	patogeninis / <i>missense</i>	dbSNP [56]; RefSeq [57]; Ensembl [58]; UCSC [60]; ClinVar [61]

VNV koordinatės ir anotacijos nurodytos pagal GRCh38 – naujos kartos žmogaus genomo pamatinė surinktį (angl. *Genome Reference Consortium Human Build 38*).

2. TYRIMO METODIKA

Doktorantūros tyrimas atliktas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto NI Oftalmologijos laboratorijoje, turint Kauno regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimus (protokolo Nr. BE-2-47, leidimas gautas 2016 m. gruodžio 14 d. (1 priedas); Nr. BE-2-140 leidimas gautas 2025 m. gruodžio 30 d. (2 priedas)). Darbe pateikti paveikslai ir lentelės yra originalūs arba adaptuoti.

2.1. Tyrimo struktūra ir tiriamasis kontingentas

Tyrimas atliktas 2021–2025 m. Visą tyrimo imtį sudarė 507 tiriamieji: 139 pacientai, sergantys HA, ir 368 sveiki asmenys – referentinė grupė. Grupės buvo suderintos pagal lytį ir amžių.

HA grupės veninio kraujo mėginiai surinkti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Neurochirurgijos klinikoje. Diagnozė nustatyta remiantis klinikinių tyrimų duomenimis atlikus magnetinio rezonanso tomografiją (MRT) ir histologinę verifikaciją Kauno klinikų Patologijos klinikoje. Pacientai, sergantys HA, papildomai buvo suskirstyti į pogrupius pagal klinikinius ir biologinius požymius: pagal ligos eigą (su atkryčiu ir be atkryčio), pagal naviko dydį (mikro ir makro HA), pagal invazyvumą (invazyvios ir neinvazyvios HA) bei pagal funkcinį aktyvumą (funkcionuojančios ir nefunkcionuojančios HA).

Tiriamųjų įtraukimo į HA grupę kriterijai:

- Pacientai, kuriems diagnozuota HA, diagnozė patvirtinta MRT tyrimu;
- Amžius ≥ 18 metų;
- Sutikimas dalyvauti tyrime.

Tiriamųjų neįtraukimo į HA grupę kriterijai:

- Onkologinių ligų diagnozė;
- Ūmios ar lėtinės infekcinės ligos;
- Sisteminiai CNS veikiančių vaistų preparatai, galintys paveikti tiriamus biomarkerius;
- Amžius < 18 metų;
- Anksčiau taikytas operacinis gydymas;
- Nesutikimas dalyvauti tyrime.

Referentinės grupės veninio kraujo mėginiai surinkti Kauno klinikų Akių ligų klinikoje.

Tiriamųjų įtraukimo į referentinę grupę kriterijai:

- Neturi diagnozuotos onkologinės ligos;
- Amžius ≥ 18 metų;
- Pasirašytas informuotas sutikimas.

Tiriamųjų neįtraukimo į referentinę grupę kriterijai:

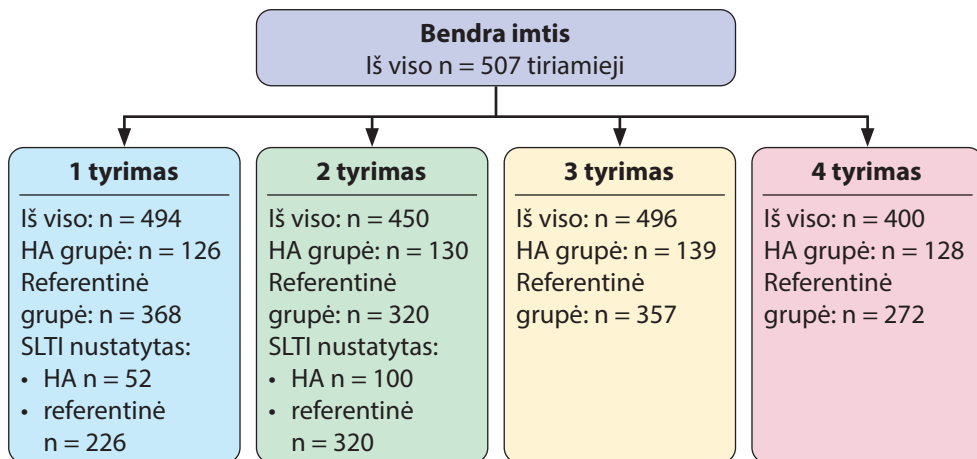
- Onkologinių ligų diagnozė ar gydymas;
- Ūmios ar lėtinės infekcinės ligos;
- Vartojami centrinę nervų sistemą veikiančių vaistų preparatai;
- Amžius < 18 metų;
- Nėštumas/žindymas;
- Nesutikimas dalyvauti tyrime.

Tyrimo struktūra pateikiama 2.1.1 lentelėje ir 2.1.1 paveiksle. Demografiniai rodikliai ir suderinamumas pagal amžių bei lytį pateikiami Rezultatų skyriuje.

2.1.1 lentelė. Tyrimo struktūra

Tyrimas	Pavadinimas	Tiriamieji		
		HA grupė	Referentinė grupė	Iš viso
1	<i>TERC, TEPI, TERT</i> genų vieno nukleotido variantų ir leukocitų telomerų ilgio sąsajos su HA bei su HA aktyvumu, invazyvumu ir atkryčiu [63]	126	368	494
2	<i>TNKS2, CTC1, ZNF676, TERF1, TERF2</i> genų vieno nukleotido variantų ir baltymų sąsajos su HA ir su HA aktyvumu, invazyvumu ir atkryčiu [64]	130	320	450
3	<i>STAT4</i> vieno nukleotido variantų ir <i>STAT4</i> baltymo bei haplotipų sąsajos su HA bei su HA aktyvumu, invazyvumu ir atkryčiu [65]	139	357	496
4	<i>SSTR2</i> rs2236750, <i>SSTR5</i> rs34037914 ir <i>AIP</i> rs267606574 vieno nukleotido variantų ir baltymų sąsajos su hipofizės adenomos pasireiškimu ir naviko proliferaciniu aktyvumu, vertinamu pagal Ki-67 proliferacijos indeksą [66]	128	272	400

Pastaba. Tyrimų imtys iš dalies persidengia; skirtumus lėmė tiriamųjų duomenų/mėginių prieinamumas konkreitiems tyrimams.



2.1.1 pav. Tiriamųjų pasiskirstymas

Pavaizduota bendra tiriamųjų imtis ir jos paskirstymas į keturis atskirus tyrimus, nurodant kiekvieno tyrimo imties dydį bei HA ir referentinės grupių pasiskirstymą. Pažymėtina, kad tyrimų imtys iš dalies persidengia.

2.2. Tyrimo metodai

Vykdamas doktorantūros baigiamojo darbo tyrimus, tiriamiesiems nustatytas SLTI, KI-67 PI, genų VNV (*TEP1* rs1713418, rs1760904, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098, rs401681, *TNKS2* rs10509639, rs10509637, *CTC1* rs3027234, *ZNF676* rs412658, *TERF1* rs10107605, rs1545827, *TERF2* rs251796, *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266, *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, *AIP* rs267606574) ir *TEP1*, *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, *TERF2*, *STAT4*, *SSTR2*, *SSTR5*, *AIP* baltymų koncentracijos kraujo serume sąsajos su HA.

2.2.1. DNR išskyrimas ir koncentracijos įvertinimas

Veninio kraujo mėginiai DNR išskyrimui buvo surinkti į vakuuminius mėgintuvėlius su antikoagulantu EDTA (etilendiamintetraacetatu), siekiant išvengti kraujo krešėjimo ir mikrokrešulių susidarymo. Genominė DNR buvo išskirta iš periferinio kraujo leukocitų taikant druskų nusodinimo metodą (angl. *DNA salting-out*).

Pirmuosiuose DNR išskyrimo etapuose svarbu slopinti nukleazių aktyvumą, kad būtų išvengta nukleorūgščių degradacijos. Tai pasiekama naudojant buferinius tirpalus ir atliekant procedūras žemoje temperatūroje (apie 4 °C). Išskirta DNR ilgalaikiam saugojimui laikyta –70 °C temperatūroje.

Druskų nusodinimo metodas apima kelis pagrindinius etapus. Pirmiausia eritrocitai buvo liziuojami naudojant lizės I buferį (155 mM NH₄Cl, 10 mM

KHCO₃, 1 mM EDTA), o mėginiai centrifuguoti 6 min., esant 2500–3000 aps./min. Šis plovimo etapas kartotas 4–5 kartus, siekiant pašalinti eritrocitus ir išskirti leukocitų nuosėdas.

Leukocitų nuosėdos buvo suspenduojamos lizės II buferyje (10 mM Tris-HCl, 400 mM NaCl, 2 mM EDTA). Ląstelių membranos buvo suardomos naudojant 10 proc. natrio dodecilsulfato (SDS) tirpalą, o baltymai hidrolizuojami proteinaze K, mėginius inkubuojant 56 °C temperatūroje 10 min.

Toliau į mėginius pridėtas 6 M NaCl tirpalas baltymų denatūracijai ir chloroformas deproteinizacijai. Po to mėginiai centrifuguoti 5 min. esant 3200 aps./min., susidarant dviem fazėms. Viršutinė vandeninė fazė, kurioje buvo ištirpusi DNR, buvo perkelta į naujus mėgintuvėlius.

DNR buvo išsodinama naudojant šaltą 96 proc. etanolį santykiu 1:1. Susidariusi DNR nuosėda buvo perplauta 70 proc. etanoliumi ir centrifuguota 1–2 min., esant 14680 aps./min. Po centrifugavimo etanolis pašalintas, o DNR išdžiovinta 37 °C temperatūroje. Galiausiai DNR ištirpinta TE buferyje, o jos koncentracija ir grynumas buvo įvertinti naudojant UV–Vis spektrofotometrą „Agilent Cary 60“. Mėginiai matuoti vandeniniuose ar buferiniuose tirpaluose, registruojant absorbciją ties 260 nm (nukleorūgštys), 280 nm (baltymai) ir 230 nm (organinės bei druskinės priemaišos: fenolis, guanidino druskos, EDTA, angliavandeniai). Dvigrandės DNR grynumui vertinti taikyti A260/A280 ir A260/A230 santykiai. A260/A280 ≈ 1,8 rodo minimalias baltymų/fenolio priemaišas, o A260/A230 ≈ 2,0–2,2 – organinių reagentų ar druskų liekanas; reikšmingi nukrypimai nuo šių ribų laikyti indikacija pakartotiniam mėginių išgryninimui [71, 72].

2.2.2. Vieno nukleotido variantų nustatymas

Genų variantų tyrimas buvo atliktas naudojant TL-PGR gausintuvą „StepOne Plus“ sistemą (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Singapūras).

TL-PGR procedūra apima tris cikliškus etapus, kurie lemia eksponentišką DNR kiekio didėjimą:

- Denatūracija: 95 °C, 15 sekundžių; nutrūksta vandenilinės jungtys tarp azotinių bazių ir atsiskiria DNR grandinės.
- Pradmenų hibridizacija (anilimas): 60 °C, 60 sekundžių; pradmenys prisijungia prie komplementarių DNR sekų.
- Elongacija: 72 °C, Taq polimerazė sintetina komplementarią DNR grandinę.

Paruošimas:

- Paruoštas mišinys išpilstomas į 96 šulinėlių plokštelę po 9 µl.
- Į 95 šulinėlius įpilama po 1 µl genomines DNR, o į paskutinį šulinėlį NTC – sterilus H₂O.
- Plokštelė užklijuojama optine plėvele, centrifuguojama 30 sekundžių 3000 aps./min. greičiu, įdedama į TL-PGR gausintuvą paleidžiama genotipavimo programa.

TL-PGR mišinio sudėtis bei PGR reakcijos sąlygos pateiktos 2.2.2.1 ir 2.2.2.2 lentelėse.

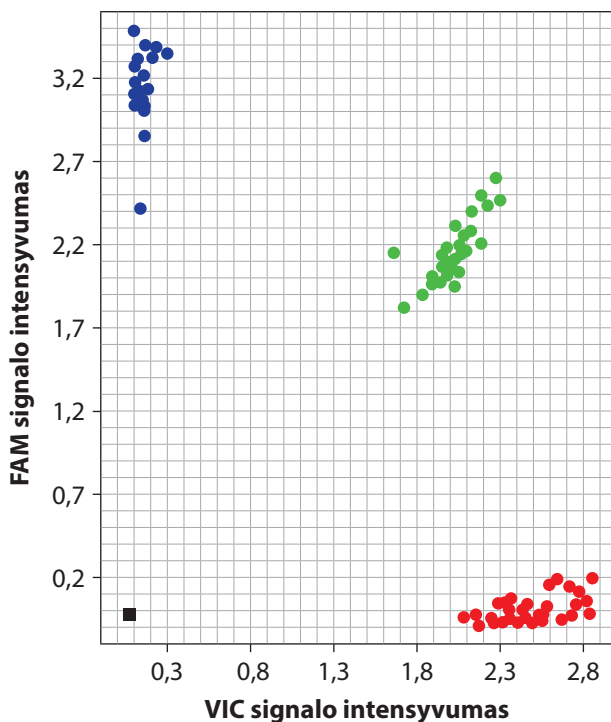
2.2.2.1 lentelė. TL- PGR mišinio sudėtis

Reagentai	1 mėginys, µl	96 mėginiai, µl
Buferis (TaqMan Universal PCR Master Mix II, no UNG, „Thermo Fisher Scientific“, Lietuva)	5	480
Pradmenys su zondais (Genotyping Assay (20x), „Thermo Fisher Scientific“, Didžioji Britanija)	0,5	48
Sterilus H ₂ O be nukleazijų („Thermo Fisher Scientific“, Didžioji Britanija)	3,5	336

2.2.2.2 lentelė. Optimalios TL-PGR programos genotipavimo sąlygos

Genas, VNV	Genotipavimo rinkinys	PGR sąlygos
TEPI rs1713418, rs1760904 TERC rs12696304, rs35073794 TERT rs2736098, rs401681 TNKS2 rs10509639, rs10509637 CTC1 rs3027234 ZNF676 rs412658 TERF1 rs10107605, rs1545827 TERF2 rs251796 STAT4 rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266 SSTR2 rs2236750 SSTR5 rs34037914 AIP rs267606574	„Thermo Fisher Scientific“ patentas	95 °C, 10 min. 45 ciklai: 92 °C 15 s 60 °C 60 s

Genotipai nustatomi pagal fluorescencijos signalų santykį iš dviejų alelių atpažįstančių zondų, paženklintų VIC ir FAM dažais. X ašyje vaizduojamas VIC signalo intensyvumas, Y ašyje – FAM (2.2.2.1 pav.). Mėginiai grupuojasi į tris tipinius klasterius (VIC-homozigotai, heterozigotai, FAM-homozigotai); neigiama kontrolė (be DNR) patenka į žemo signalo sritį. Automatinės klasterizacijos rezultatai peržiūrimi ir, jei reikia, koreguojami pagal kontrolinių mėginių padėtį. Galutiniai genotipai eksportuojami statistinei analizei.



2.2.2.1 pav. Alelių nustatymo (VIC/FAM) klasteriai

Mėlyni/raudoni taškai žymi homozigotinius mėginius, žali – heterozigotinius. X ašis – VIC signalo intensyvumas, Y ašis – FAM; NTC kontrolė – juoda spalva.

2.2.3. Baltymų koncentracijos nustatymas

Veninio kraujo mėginiai buvo surinkti į vakuuminius mėgintuvėlius be antikoagulianto ir laikomi kambario temperatūroje iki krešulio susidarymo. Vėliau mėginiai centrifuguoti 10 min., esant 3000 aps./min., siekiant atskirti serumą. Gautas serumas buvo perkeliamas į sterilius mikrocentrifuginius ependorfus ir laikomas -80°C temperatūroje iki analizės. Siekiant išvengti baltymų degradacijos, buvo vengiama pakartotinių užšaldymo ir atšildymo ciklų.

Baltymų koncentracijai kraujo serume nustatyti atlikta imunofermentinė analizė (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA), naudojant komercinius „sandwich“ tipo rinkinius TEP1, TNKS2, CTC1, ZNF676, TERF1, TERF2, STAT4, SSTR2, SSTR5 ir AIP baltymams nustatyti. Naudoti ELISA rinkiniai, jų gamintojai ir katalogo numeriai pateikti 2.2.3.1 lentelėje.

ELISA analizė atlikta pagal gamintojų pateiktas instrukcijas. 96 šulinių mikroplokštelės buvo iš anksto padengtos specifiniais „capture“ antikūnais prieš tiriamus baltymus. Į šulinius buvo pipetuojami standartai, kontroliniai

mėginiai ir serumo mėginiai ir inkubuojami pagal gamintojo rekomenduojamas sąlygas. Po inkubacijos buvo pridėtas biotinilintas „detection“ antikūnas, specifiskai prisijungiantis prie analizuojamo baltymo, o vėliau – streptavidinu konjuguotas horseradišo peroksidazės (HRP) kompleksas.

Fermentinė reakcija buvo vizualizuota naudojant tetrametilbenzidino (TMB) substratą. Reakcija sustabdyta rūgštis tirpalu, susidarius geltonos spalvos produktui. Optinis tankis (OD) buvo matuojamas 450 nm bangos ilgyje mikroplokštelių skaitytuvu (modelis: Multiskan FC Microplate Photometer, gamintojas: Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Tiriamų baltymų koncentracijos buvo apskaičiuotos pagal standartinę kreivę, naudojant keturių parametru logistinį modelį (4PL). Visi mėginiai ir standartai analizuoti dviem pakartojimais. Priimtinas vidinis variacijos koeficientas (*intra-assay CV*) buvo < 10 proc., o tarp tyrimų variacijos koeficientas (*inter-assay CV*) < 15 proc. Analitinis matavimo diapazonas, mėginių skiedimai ir koncentracijų vienetai atitiko gamintojo rekomendacijas. Tyrimo metu buvo naudojami tušti šuliniai (*blank*) ir teigiamos bei neigiamos kontrolės mėginiai.

2.2.3.1 lentelė. ELISA rinkiniai, naudoti baltymų koncentracijai serume nustatyti

Baltymas	ELISA rinkinys	Gamintojas	Katalogo Nr.
TEP1	Human TEP1 (Telomerase Protein Component 1) ELISA	Novus Biologicals, JAV	NBP3-40190
TNKS2	Tankyrase 2 (TNKS2) Antibody ELISA	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx037908
CTC1	Human CST Complex Subunit CTC1 (CTC1) ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx509040
ZNF676	Human Zinc Finger Protein 676 (ZNF676) ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx554903
TERF1	Human Telomeric Repeat-Binding Factor 1 (TERF1) ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx153252
TERF2	Telomeric Repeat Binding Factor 2 (TERF2) Antibody ELISA	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx027648
STAT4	Signal Transducer and Activator of Transcription 4 (STAT4) ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx156860
SSTR2	Human Somatostatin Receptor 2 (SSTR2) ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx251546
SSTR5	Somatostatin Receptor 5 (SSTR5) Antibody ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx002253
AIP	Human Aryl Hydrocarbon Receptor Interacting Protein (AIP) Protein ELISA Kit	Abbexa, Cambridge, Jungtinė Karalystė	abx168881

2.2.4. Santykinio leukocitų telomerų ilgio nustatymas

Periferinio kraujo leukocitų telomerų ilgis buvo vertinamas taikant kiekybinės tikro laiko PGR (TL-PGR) metodiką, aprašytą Richard M. Cawthon [67]. Šis metodas leidžia nustatyti SLTI, apskaičiuojant telomerinių sekų (T) ir referentinio vienos kopijos geno (angl. *single copy gene*) – albumino (S) – santykį. Kiekvieno mėginio telomerų sekų ir albumino geno kiekiai buvo nustatomi atliekant po du techninius pakartojimus.

SLTI nustatymas buvo atliekamas naudojant TL-PGR analizę tuo pačiu prietaisu, kuris buvo taikytas ir genotipavimo tyrimuose – „StepOne Plus“ TL-PGR gausintuvu. Kalibraciniam (referentiniam) mėginiui buvo naudojamas dviejų atsitiktinai pasirinktų tiriamųjų DNR mišinys. Teigiama kontrolė buvo DNR, išskirta iš komercinės žmogaus ląstelių linijos 1301, pasižyminti labai ilgomis telomeromis („Sigma-Aldrich“, JAV), o neigiama kontrolė – sterilus vanduo (NTC).

Tyrime naudotos šios pradmenų sekos:

- Telg: 5' - ACA CTA AGG TTT GGG TTT GGG TTT GGG TTT GGG TTA GTG T- 3'
- Telc: 5' - TGT TAG GTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA ACA- 3'
- Albd: 5' - GCC CGG CCC GCC GCG CCC GTC CCG CCG GAA AAG CAT GGT CGC CTG TT- 3'
- Albu: 5' - CGG CGG CGG G GCG GCG CGG GCT GGG CGG AAA TGCTGC ACA GAA TCC TTG- 3'

Darbo eiga:

1. Paruoštas mišinys 96 šulinių plokštelei (reagentų kiekiai – 2.2.5.1 lentelėje).
2. Į kiekvieną šulinėlį supilta po 17 µl mišinio. Į 78 šulinius įpilta po 3 µl tiriamųjų DNR (20 ng/µl): 39 mėginiai × 2 pakartojimai.
3. Kiekvienoje plokštelėje iš kalibracinio mėginio parengta 4–5 taškų dvigubų skiedimų serija standartinei kreivei ir efektyvumui įvertinti; įtrauktos teigiama ir neigiama kontrolės.
4. Plokštelė užklijuota optine plėvele, trumpai centrifuguota (~30 s, 3000 aps./min.) ir įdėta į TL-PGR aparatą (temperatūrinė programa – 2.2.4.2 lentelėje).

PGR produktų specifškumas ir tapatumas buvo įvertinti atliekant lydymosi kreivės analizę (angl. *melting curve analysis*). Nustatyta, kad telomerų 79 bp amplikono lydymosi temperatūra siekia apie 75 °C, o albumino 98 bp produkto – apie 87 °C. Aptikus papildomus pikas, mėginiai vertinti kritiškai ir prireikus kartoti.

2.2.4.1 lentelė. TL-PGR mišinio sudėtis

Reagentai	Pradinė koncentracija	Galutinė koncentracija	1 pvz., μl
Reakcijos mišinys PowerUp SYBR Green Master Mix („Applied Biosystems“, Lietuva)	2X	1X	10 μl
Pradmenys: Forward (Telg arba Albu) Reverse (Telc arba Albd)	20 μM	0,9 μM	0,9 μl 1 μl
Sterilus H_2O („ZYMO RESEARCH“, JAV)	–	–	5,1 μl
DNR mėginys	20 ng/ μl	3 ng/ μl	3 μl
Iš viso:	–	–	20 μl

2.2.4.2 lentelė. TL-PGR temperatūrinė programa

Etapai	Temperatūra	Trukmė	Ciklai
AmpliTaqa Gold DNR polimerazės aktyvinimas	95 °C	10 min.	1
Denatūracija	95 °C	15 s	35
Pradmenų hibridizacija, elongacija	60 °C	60 s	
Lydomosi kreivės („melting curve“) analizė	60–95 °C	laipsniškai didinant temperatūrą	1
Inkubacija	4 °C	∞	1

2.2.5. TL-PGR reakcijų efektyvumas

Prieš analizuojant TL-PGR duomenis, kiekvienam mėginiui įvertintas amplifikacijos efektyvumas ir linijškumas, kad būtų atmestos pipetavimo ar plokštelės surinkimo klaidos. Iš referentinės DNR buvo paruošti dvigubi koncentracijos skiedimai (20 ng/ μl , 10 ng/ μl , 5 ng/ μl , 2,5 ng/ μl ir 1,25 ng/ μl), sudarytos standartinės kreivės, Ct reikšmės vaizduojant logaritminėje koncentracijos skalėje. Ct (angl. *threshold cycle*) – ciklas, kuriame fluorescencija viršija nustatytą slenkstį; skaičiavimams naudota techninių pakartojimų vidutinė Ct reikšmė.

Kokybės kriterijai optimizuotai reakcijai:

- linijinė standartinė kreivė: $r \geq 0,990$ (arba $R^2 \geq 0,98$);
- efektyvumas 90–105 proc.;
- geras pakartojamumas.

Amplifikacijos reakcijos efektyvumas (E) buvo įvertintas pagal standartinės kreivės nuolydžio koeficientą (angl. *slope*), taikant formulę:

$$E = 10^{-1/\text{tiesės krypties koeficientas}}$$

Idealiu atveju $E = 2$ (dvigubėjimas kas ciklą). Tokiu atveju optimalus tiesės krypties koeficientas $\approx -3,32$; priimtinas intervalas $\sim -3,6$ iki $-3,2$ [68].

Kompiuterinės programos efektyvumo vertinimą dažniausiai pateikia procentais, kuris apskaičiuojamas pagal šią formulę:

$$E, \text{ proc.} = (E - 1) \times 100 \text{ proc.}$$

Idealios reakcijos atveju efektyvumas 100 proc., o vertinamas intervalas – 90–105 proc., rezultatai, nepatenkantys į šias ribas nėra vertinami [68].

Techninių pakartojimų Ct verčių standartinis nuokrypis (SN) turėjo būti $< 0,30$; jį viršijus, analizė buvo kartojama. Tyrimo viduje (angl. *Intra-assay*) bei tarp tyrimų (angl. *Inter-assay*), variacijos koeficientai, apskaičiuoti iš referentinio ir teigiamos kontrolės mėginių Ct, buvo < 10 proc., rodydami gerą procedūros reprodukuojamumą [69].

2.2.6. Santykinio leukocitų telomerų ilgio apskaičiavimas

TL-PGR duomenys gali būti analizuojami absoliučiosios arba santykinės kiekybinės analizės metodais. Šiame tyrime taikyta santykinė analizė.

SLTI buvo apskaičiuojamas pagal Kenneth J. Livak ir Thomas D. Schmittgen santykinės analizės metodą ($SLTI = 2^{-\Delta\Delta Ct}$) [70], prieš tai patikrinus, kad telomerų (T) ir vienos kopijos referentinio geno (albumino, S) amplifikacijos efektyvumai yra pakankami (90–105 proc.) ir tarpusavyje nesiskiria > 5 proc. [68].

Skaičiavimas:

1. $\Delta Ct = Ct_{(T)} - Ct_{(S)}$
2. $\Delta\Delta Ct = Ct_{(\text{tiriamojo mėginio})} - Ct_{(\text{referentinio mėginio})}$
3. $SLTI = 2^{-\Delta\Delta Ct}$

Referentinis mėginys – to paties eksperimento standartinei kreivei naudotas DNR mėginys, matuotas tomis pačiomis sąlygomis kaip ir tiriamieji mėginiai (20 ng/μl). Visos Ct reikšmės naudotos kaip techninių pakartojimų vidurkiai.

2.2.7. Ki-67 nustatymas

Ki-67 proliferacijos indeksas (PI) buvo nustatytas atliekant imunohistocheminę analizę naudojant monokloninį antikūną prieš Ki-67 (klonas SP6; Spring Bioscience Corporation). Šis indeksas parodo teigiamai nudažytų naviko ląstelių procentinę dalį.

Audiniai fiksuoti 10 proc. neutraliame formaline 24–48 val., įlieti į parafiną; pjūvių storis 3–4 μm. Dažymai atlikti Kauno klinikų Patologinės anatomijos klinikoje „Ventana BenchMark XT“ platformoje (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, JAV), laikantis gamintojo protokolo: pjūviai nuvaškuoti „Ventana“ reagentais; antigenų demaskavimas – Cell Conditioning (pH 8,4), 60 min., 100 °C; pirminis antikūnas inkubuotas 32 min., 37 °C;

vizualizacijai naudotas „Ventana iVIEW DAB Detection Kit“. Kontrastavimas atliktas Gill hematoksilinu, „blueing“ – ličio karbonato buferiu, pjūviai uždenkti.

Kaip teigiama kontrolė naudotas tonzilės/limfmazgio audinys; neigiama kontrolė – pjūviai be pirminio antikūno.

PI skaičiuotas karščiausiuose taškuose $\times 400$ didinimu, suskaičiuojant ≥ 500 –1000 navikinių ląstelių (≥ 3 laukus) ir išreiškiant procentais. Artefaktiniai plotai (nekrozė, kraujosruvos) nevertinti. Vertinimą atliko kvalifikuotas patologas, esant neaiškumams, atliktas pakartotinis įvertinimas.

2.3. Statistinė duomenų analizė

Duomenys analizuoti naudojant IBM SPSS Statistics for Windows, v29.0 (IBM Corp., JAV). Skirstinių normalumas vertintas Šapiro–Vilko testu ($n < 2000$) ir, prireikus, Kolmogorovo–Smirnov. Normaliai pasiskirsčiusiems kintamiesiems pateiktas vidurkis ir standartinis nuokrypis (SN), nenormaliai – mediana ir interkvartilinis plotis (IQR).

Genotipų pasiskirstymas referentinėje grupėje tikrintas pagal Hardžio–Vainbergo pusiausvyrą (HWE), taikant tikslųjį (angl. exact) testą. Genotipų dažnių homogeniškumui tarp grupių vertinti naudoti χ^2 arba Fisher tikslaus kriterijaus testai (kai laukiamieji dažniai < 5).

Norint įvertinti VNV ryšį su HA pasireiškimu, taikyta dvinarė logistinė regresija, pateikiant galimybių santykius (GS) ir 95 proc. pasikliautinusius intervalus (PI). Tyrime buvo vertinami keli genetinio paveldimumo modeliai:

- kodominantinis modelis – lyginami heterozigotai su laukinio tipo homozigotais bei homozigotai, turintys retesnę alelį, su laukinio tipo homozigotais;
- dominantinis modelis – heterozigotai ir homozigotai su retesniu aleliu analizuojami kartu ir lyginami su laukinio tipo homozigotais;
- recesyvinis modelis – homozigotai, turintys retesnę alelį, lyginami su laukinio tipo homozigotais ir heterozigotais;
- viršdominantinis modelis – heterozigotai lyginami su abiejų tipų homozigotais (laukinio tipo ir turinčiais retesnę alelį);
- adityvinis modelis – vertinamas kiekvieno retesnio alelio indėlis į HA išsivystymo riziką.

Optimalus modelis kiekvienam VNV parinktas pagal Akaike informacinį kriterijų (AIK) (mažiausia AIK reikšmė nusako labiausiai tinkantį genetinį modelį). Regresijos modeliai buvo koreguoti pagal amžių ir lytį.

Skirtingų grupių SLTI palyginimui ir, kai duomenys neatitiko normaliojo skirstinio, buvo taikytas Manno–Vitnio (Mann–Whitney) U testas. Statistinėms hipotezėms tikrinti reikšmingumo lygmuo nustatytas 0,05.

Visuose tyrimuose pirmiausia pateikiamos nekoreguotos p reikšmės ($\alpha = 0,05$), po to įvertinama daugybinių testų įtaka taikant Bonferoni korekciją, nes kiekviename tyrime buvo iš anksto (*a priori*) parinktas fiksuotas VNV skaičius (m). Bonferoni taikyta taip:

- 1-asis tyrimas ($m = 6$ VNV): $\alpha^* = 0,05/6 = 0,0083$.
- 2-asis tyrimas ($m = 7$ VNV): $\alpha^* = 0,05/7 = 0,0071$.
- 3-iasis tyrimas ($m = 4$ VNV): $\alpha^* = 0,05/4 = 0,0125$.
- 4-asis tyrimas ($m = 3$ VNV): $\alpha^* = 0,05/3 = 0,0167$.

2.4. Tyrimo imtis

Imties dydis buvo planuotas siekiant patikimų, reprezentatyvių rezultatų, atsižvelgiant į numatytas analizes (genetines sąsajas, serumo biomarkerius, SLTI palyginimus) ir daugybinių palyginimų korekciją. *A priori* imties skaičiavimui įprastai galima taikyti galios skaičiuokles (pvz., G*Power ar genetinėms sąsajoms pritaikytas programas), tačiau genetiniuose atveju – kontrolės tyrimuose galia pirmiausia priklauso nuo retesniojo alelio dažnio (MAF), pasirinkto genetinio modelio (adityvinis/dominantinis/recesyvinis), prognozuojamo efekto dydžio (pvz., GS) ir α lygmens (ypač kai taikoma Bonferoni korekcija).

Nepriklausomoms grupėms, modeliuojant dvejetainę baigtį taikant logistinę regresiją ($\alpha = 0,05$; siekiant 80 proc. galios), esant tikėtinam efekto dydžiui $GS \approx 2,2$, reikėtų apie 120–130 tiriamųjų kiekvienoje grupėje. Tikslus imties dydis priklauso nuo MAF ir pasirinkto genetinio modelio. Šis pavyzdys pateikiamas kaip orientacinis; tikslios reikšmės kinta keičiantis MAF ir pasirinktai korekcijai dėl daugybinių testų.

Praktiniame darbe imtis suformuota pagal realų prieinamumą ir atrankos kriterijus. Galutinę analizę sudarė 507 tiriamieji (HA grupė $n = 139$, referentinė grupė $n = 357$ – 368 , priklausomai nuo analizės ir trūkstamų duomenų), kas užtikrino pakankamą statistinę galią pirminiams palyginimams bei logistinėms asociacijoms pagal suplanuotus modelius. Visose analizėse aiškiai nurodėme faktines analizės imtis.

3. REZULTATAI

3.1. Pirmasis tyrimas

***TERC*, *TEPI* ir *TERT* genų vieno nukleotido variantų bei leukocitų telomerų ilgio sąsajos su HA bei su HA aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu**

Atvejo–kontrolės tyrime dalyvavo 494 tiriamieji, suskirstyti į dvi grupes: referentinę ($n = 368$) ir pacientų, sergančių HA, grupę ($n = 126$). Nors bendrą šio darbo imtį sudarė 507 tiriamieji, atskiruose tyrimuose analizuotų tiriamųjų skaičius skyrėsi. Į kiekvieną analizę buvo įtraukti tik tie mėginiai, kuriems buvo prieinami visi reikalingi genetiniai duomenys bei užtikrinta tinkama mėginių kokybė. Dalis mėginių nebuvo įtraukti dėl riboto biologinės medžiagos kiekio ar techninių analizės apribojimų.

Tiriamiesiems buvo nustatyti *TEPI* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098 ir rs401681 variantų genotipai.

HA grupę sudarė 126 pacientai: 51 vyras (40,5 proc.) ir 75 moterys (59,5 proc.). Pacientų amžiaus mediana buvo 53 metai, IQR – 23. Referentinę grupę sudarė 368 asmenys: 151 vyras (41 proc.) ir 217 moterų (59 proc.). Jų amžiaus mediana siekė 57 metus, IQR – 37.

SLTI buvo nustatytas 52 HA sergantiems tiriamiesiems ir 226 referentinės grupės dalyviams. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių pagal lytį, amžių ir SLTI nenustatyta (atitinkamai $p = 0,913$; $p = 0,615$; $p = 0,901$). Tiriamųjų demografiniai duomenys pateikti 3.1.1 lentelėje.

3.1.1 lentelė. Demografinės pirmojo tyrimo charakteristikos

Charakteristikos		Grupė		p
		HA	Referentinė	
Lytis	Vyrai, n (proc.)	51 (40,5)	151 (41,0)	0,913
	Moterys, n (proc.)	75 (59,5)	217 (59,0)	
Amžiaus mediana (IQR)		53 (23,0)	57 (37,0)	0,615*
SLTI		0,645 (1,112)	0,603 (0,635)	0,901

*Naudotas Stjudent T testas.

TEPI rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098 ir rs401681 genotipų bei alelių dažniai buvo nustatyti HA sergančių pacientų ir referentinėje grupėje. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp genotipų ir alelių pasiskirstymo nenustatyta šiems VNV: *TEPI* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, *TERT* rs2736098 ir rs401681.

Reikšmingas ryšys nustatytas tik *TERC* rs35073794: AG genotipas dažnesnis HA grupėje nei referentinėje grupėje (84,9 proc. ir 57,6 proc., $p < 0,001$), o GG genotipas HA grupėje buvo statistiškai reikšmingai retesnis nei referentinėje grupėje (0,8 proc. ir 42,4 proc., $p < 0,001$) (3.1.2 lentelė). Šie skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$).

3.1.2 lentelė. Vieno nukleotido variantų (*TEPI* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098, rs401681) genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>TEPI</i> rs1760904	AA	33 (26,2)	95 (25,8)	0,845
	AG	66 (52,4)	185 (50,3)	
	GG	27 (21,4)	88 (23,9)	
	Iš viso	126 (100,0)	368 (100,0)	
	A	132 (52,4)	375 (51,0)	0,695
	G	120 (47,6)	361 (49,0)	
<i>TEPI</i> rs1713418	AA	45 (35,7)	136 (37,0)	0,120
	AG	69 (54,8)	172 (46,7)	
	GG	12 (9,5)	60 (16,3)	
	Iš viso	126 (100,0)	368 (100)	
	A	159 (63,1)	444 (60,3)	0,437
	G	93 (36,9)	292 (39,7)	
<i>TERC</i> rs12696304	CC	64 (50,8)	199 (54,1)	0,687
	CG	54 (42,9)	142 (38,6)	
	GG	8 (6,3)	27 (7,3)	
	Iš viso	126 (100)	368 (100)	
	C	182 (72,2)	540 (73,4)	0,723
	G	70 (27,8)	196 (26,6)	
<i>TERC</i> rs35073794	GG	1 (0,8) ¹	156 (42,4) ¹	< 0,001
	AG	107 (84,9) ²	212 (57,6) ²	
	AA	18 (14,3)	0 (0,0)	
	Iš viso	126 (100)	368 (100)	
	G	109 (43,3)	524 (71,2)	< 0,001
	A	143 (56,7)	212 (28,8)	
<i>TERT</i> rs2736098	CC	72 (57,1)	221 (60,1)	0,223
	CT	38 (30,2)	119 (32,3)	
	TT	16 (12,7)	28 (7,6)	
	Iš viso	126 (100)	368 (100)	
	C	182 (72,2)	561 (76,2)	0,204
	T	70 (27,8)	175 (23,8)	

3.1.2 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>TERC</i> rs401681	CC	47 (37,3)	126 (34,2)	0,732
	CT	60 (47,6)	177 (48,1)	
	TT	19 (15,1)	65 (17,7)	
	Iš viso	126 (100)	368 (100)	
	C	143 (56,7)	429 (58,3)	0,075
T	77 (43,3)	307 (41,7)		

¹p < 0,001 (GG vs. AA+AG); ²p < 0,001 (AG vs. GG+AA). Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Dvinarės logistinės regresijos analizė parodė, kad *TERC* rs35073794 AG genotipas pagal kodominantinį modelį, AG+AA genotipas pagal dominantinį modelį, AG genotipas pagal viršdominantinį modelį ir A alelis pagal adityvinį modelį statistiškai reikšmingai didina HA pasireiškimo galimybę: atitinkamai 79 kartus (GS = 78,736; 95 proc. PI: 10,872–570,221; p < 0,001), 92 kartus (GS = 91,981; 95 proc. PI: 12,717–665,277; p < 0,001), 4 kartus (GS = 4,144; 95 proc. PI: 2,439–7,040; p < 0,001) ir 114 kartų (GS = 114,329; 95 proc. PI: 15,941–819,982; p < 0,001) (3.1.3 lentelė). Po Bonferroni korekcijos ($\alpha^* = 0,0083$) šiems skirtumams statistinis reikšmingumas buvo nustatytas.

TEPI rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, *TERT* rs2736098 ir rs401681 genų variantų analizė neatskleidė statistiškai reikšmingų skirtumų tarp HA ir referentinės grupės.

3.1.3 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG	78,736 (10,872–570,221)	< 0,001	423,120
	AA vs. GG	–	–	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	91,981 (12,717–665,277)	< 0,001	458,571
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	4,144 (2,439–7,040)	< 0,001	529,245
Adityvinis	A	114,329 (15,941–819,982)	< 0,001	421,856

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

TEPI, *TERC* ir *TERT* genų VNV buvo analizuojami siekiant įvertinti jų sąsają su HA aktyvumu, invazyvumu ir atkryčiu. *TEPI* rs1713418 varianto analizė parodė statistiškai reikšmingus rezultatus lyginant aktyvios HA grupę ir referentinę grupę, atitinkamai AA, AG ir GG (34,3 proc., 59,7 proc. ir

6,0 proc. vs. 37,0 proc., 46,7 proc. ir 16,3 proc., $p = 0,046$). Tačiau po Bonferroni korekcijos ($\alpha^* = 0,05/6 = 0,0083$) statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas.

Analizė parodė, kad *TERC* rs35073794 yra susijęs tiek su aktyvia, tiek su neaktyvia HA forma. GG genotipas statistiškai reikšmingai retesnis aktyvios HA grupėje nei referentinėje grupėje, taip pat neaktyvios HA grupėje nei referentinėje grupėje (atitinkamai 1,5 proc. vs. 42,4 proc., $p < 0,001$; 9,1 proc. vs. 42,4 proc., $p < 0,001$). AG genotipas dažniau pasireiškė tiek aktyvios HA grupėje nei referentinėje grupėje (79,1 proc. vs. 57,6 proc., $p = 0,001$), tiek neaktyvios HA grupėje nei referentinėje grupėje (90,9 proc. vs. 57,6 proc., $p < 0,001$). Taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$), šiems skirtumams statistinis reikšmingumas buvo pasiektas.

TEPI rs1760904, *TERC* rs12696304, *TERT* rs2736098 ir rs401681 variantų genotipų bei alelių pasiskirstymo analizėje nenustatyta statistiškai reikšmingų skirtumų tarp pacientų, sergančių aktyvia ar neaktyvia HA, ir referentinės grupės (3.1.4 lentelė).

3.1.4 lentelė. *TEPI*, *TERC* ir *TERT* genų vieno nukleotido variantų genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas hormonų atžvilgiu aktyvios ir neaktyvios hipofizės adenomos bei referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	Aktyvios HA grupė, n (proc.)	p	Neaktyvios HA grupė, n (proc.)	p
<i>TEPI</i> rs1760904	AA	95 (25,8)	17 (25,4)	0,997	15 (27,3)	0,815
	AG	185 (50,3)	34 (50,7)		29 (52,7)	
	GG	88 (23,9)	16 (23,9)		11 (20,0)	
	Iš viso	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	A	375 (51,0)	68 (40,7)	0,960	59 (53,6)	0,672
	G	361 (49,0)	66 (49,3)		51 (46,4)	
<i>TEPI</i> rs1713418	AA	136 (37,0)	23 (34,3)	0,046	22 (40,0)	0,776
	AG	172 (46,7)	40 (59,7)		26 (47,3)	
	GG	60 (16,3)	4 (6,0)		7 (12,7)	
	Iš viso	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	A	444 (60,3)	86 (64,2)	0,457	70 (63,6)	0,576
	G	292 (39,7)	48 (35,8)		40 (36,4)	
<i>TERC</i> rs12696304	CC	199 (54,1)	31 (46,3)	0,687	30 (54,5)	0,581
	CG	142 (38,6)	30 (44,8)		23 (41,8)	
	GG	27 (7,3)	6 (9,0)		2 (3,6)	
	Iš viso	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	C	540 (73,4)	92 (68,7)	0,308	83 (75,5)	0,729
	G	196 (26,6)	42 (31,3)		27 (24,5)	

3.1.4 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	Aktyvios HA grupė, n (proc.)	p	Neaktyvios HA grupė, n (proc.)	p
<i>TERC</i> rs35073794	GG	156 (42,4) ^{1, 3}	1 (1,5) ¹	< 0,001	5 (9,1) ³	< 0,001
	AG	212 (57,6) ^{2, 4}	53 (79,1) ²		50 (90,9) ⁴	
	AA	0 (0,0)	13 (19,4)		5 (9,1)	
	Iš viso	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	G	524 (71,2)	55 (41,0)	< 0,001	60 (50,0)	< 0,001
A	212 (28,8)	79 (59,0)		60 (50,0)		
<i>TERT</i> rs2736098	CC	221 (60,1)	33 (49,3)	0,209	35 (63,6)	0,105
	CT	119 (32,3)	26 (38,8)		12 (21,8)	
	TT	28 (7,6)	8 (11,9)		8 (14,5)	
	Iš viso	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	C	561 (76,2)	92 (68,7)	0,080	82 (74,5)	0,791
T	175 (23,8)	42 (31,3)		28 (25,5)		
<i>TERC</i> rs401681	CC	126 (34,2)	24 (35,8)	0,859	23 (41,8)	0,542
	CT	177 (48,1)	33 (49,3)		23 (41,8)	
	TT	65 (17,7)	10 (14,9)		9 (16,4)	
	Iš viso	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	C	429 (58,3)	81 (60,4)	0,710	69 (62,7)	0,436
T	307 (41,7)	53 (39,6)		41 (37,3)		

¹p < 0,001 (GG vs. AA+AG); ²p = 0,001 (AG vs. GG+AA); ³p < 0,001 (GG vs. AA+AG); ⁴p < 0,001 (AG vs. GG+AA). Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo α^* = 0,0083.

Dvinarės logistinės regresijos analizė parodė, kad *TEPI* rs1713418 GG genotipas, palyginti su AA + AG, pagal recesyvinį modelį yra susijęs su 3 kartus didesne aktyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 3,068; 95 proc. PI: 1,076–8,748; p = 0,036). Vis dėlto, taikant Bonferroni korekciją (α^* = 0,0083), statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas.

TERC rs35073794 AG genotipas pagal kodominantinį modelį mažina aktyvios HA pasireiškimo galimybę 38 kartus (GS = 0,026; 95 proc. PI: 0,004–0,187; p < 0,001), o AG+AA genotipas pagal dominantinį modelį mažina aktyvios HA pasireiškimo galimybę 47 kartus (GS = 0,021; 95 proc. PI: 0,003–0,150; p < 0,001). AG genotipas pagal viršdominantinį modelį mažina aktyvios HA pasireiškimo galimybę apie 3 kartus (GS = 0,359; 95 proc. PI: 0,192–0,670; p = 0,001), o A alelis pagal adityvinį modelį mažina aktyvios HA pasireiškimo galimybę 91 kartą (GS = 0,011; 95 proc. PI: 0,002–0,082; p < 0,001). Be to, *TERC* rs35073794 AG genotipas, palyginti su AA+GG genotipais pagal dominantinį modelį, 7 kartus mažina neaktyvios HA pasireiškimo galimybę (GS = 0,136; 95 proc. PI: 0,053–0,349; p < 0,001) (3.1.5 lentelė). Taikant Bonferroni korekciją (α^* = 0,0083), šiems skirtumams statistinis reikšmingumas buvo pasiektas.

Analizuojant *TEP1* rs1760904, *TERC* rs12696304, *TERT* rs2736098 ir rs401681 statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatėme.

3.1.5 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė, vertinant aktyvios ir neaktyvios hipofizės adenomos pasireiškimo galimybę, palyginti su referentine grupe

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
Aktyvi HA				
<i>TEP1</i> rs1713418				
Kodominantinis	AG vs. AA GG vs. AA	0,727 (0,415–1,273) 2,537 (0,841–7,654)	0,265 0,099	370,706
Dominantinis	AG+GG vs. AA	0,892 (0,516–1,541)	0,681	375,603
Recesyvinis	GG vs. AA+AG	3,068 (1,076–8,748)	0,036	369,971
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,592 (0,349–1,006)	0,053	371,947
Adityvinis	A	1,183 (0,803–1,743)	0,395	375,043
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG AA vs. GG	0,026 (0,004–0,187) –	< 0,001 –	281,319
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,021 (0,003–0,150)	< 0,001	318,836
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,359 (0,192–0,670)	0,001	363,936
Adityvinis	A	0,011(0,002–0,082)	< 0,001	280,958
Neaktyvi HA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG AA vs. GG	– –	– –	–
Dominantinis	AG+AA vs. GG	–	–	–
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,136 (0,053–0,349)	< 0,001	301,980
Adityvinis	G	–	–	–

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Analizuojant VNV genotipų ir alelių pasiskirstymą tarp invazyvios/ neinvazyvios HA ir referentinės grupių, nustatyta, kad *TERC* rs35073794 yra susijęs su invazyvia ir neinvazyvia HA. Nustatyta, kad AG genotipas yra dažnesnis invazyvia HA sergančiųjų grupėje nei referentinėje grupėje, taip pat dažnesnis neinvazyvia HA sergančiųjų grupėje nei referentinėje grupėje (86,4 proc. vs. 57,6 proc., $p < 0,001$; 81,8 proc. vs. 57,6 proc., $p = 0,002$, atitinkamai). Šie skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$). Be to, *TERT* rs2736098 TT genotipas buvo dažnesnis invazyvia HA sergančiųjų grupėje nei referentinėje grupėje (16,0 proc. vs. 7,6 proc., $p = 0,017$),

tačiau pritaikius Bonferroni korekciją šis ryšys statistiškai reikšmingas neišliko.

TEPI rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, *TERT* rs401681 analizė neparodė statistiškai reikšmingų skirtumų tarp pacientų, sergančių invazyvia ar neinvazyvia HA, ir referentinės grupės (3.1.6 lentelė).

3.1.6 lentelė. *TEPI*, *TERC* ir *TERT* genų vieno nukleotido variantų genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas invazyvia ir neinvazyvia HA sergančiųjų ir referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipai aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	Invazyvios HA grupė, n (proc.)	p	Neinvazyvios HA grupė, n (proc.)	p
<i>TEPI</i> rs1760904	AA	95 (25,8)	24 (29,6)	0,538	8 (18,2)	0,538
	AG	185 (50,3)	42 (51,9)		24 (54,5)	
	GG	88 (23,9)	15 (18,5)		12 (27,3)	
	Iš viso	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	A	375 (51,0)	90 (55,6)	0,288	40 (45,5)	0,330
G	361 (49,0)	72 (44,4)	48 (54,5)			
<i>TEPI</i> rs1713418	AA	136 (37,0)	30 (37,0)	0,098	15 (34,1)	0,772
	AG	172 (46,7)	45 (55,6)		23 (52,3)	
	GG	60 (16,3)	6 (7,4)		6 (13,6)	
	Iš viso	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	A	444 (60,3)	105 (64,8)	0,289	53 (60,2)	0,986
G	292 (39,7)	57 (35,2)	35 (39,8)			
<i>TERC</i> rs12696304	CC	199 (54,1)	43 (53,1)	0,431	20 (45,5)	0,453
	CG	142 (38,6)	35 (43,2)		19 (43,2)	
	GG	27 (7,3)	3 (3,7)		5 (11,4)	
	Iš viso	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	C	540 (73,4)	121 (74,7)	0,730	59 (67,0)	0,208
G	196 (26,6)	41 (25,3)	29 (33,0)			
<i>TERC</i> rs35073794	GG	156 (42,4)	0 (0,0)	< 0,001	1 (2,3)	< 0,001
	AG	212 (57,6) ^{1:2}	70 (86,4) ¹		36 (81,8) ²	
	AA	0 (0,0)	11 (13,6)		7 (15,9)	
	Iš viso	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	G	524 (71,2)	70 (43,2)	< 0,001	38 (43,2)	< 0,001
A	212 (28,8)	92 (56,8)	50 (56,8)			
<i>TERT</i> rs2736098	CC	221 (60,1)	45 (55,6)	0,057	26 (59,1)	0,963
	CT	119 (32,3)	23 (28,4)		15 (34,1)	
	TT	28 (7,6) ³	13 (16,0) ³		3 (6,8)	
	Iš viso	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	C	561 (76,2)	113 (69,8)	0,085	67 (76,1)	0,986
T	175 (23,8)	49 (30,2)	21 (23,9)			

3.1.6 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	Invazyvios HA grupė, n (proc.)	p	Neinvazyvios HA grupė, n (proc.)	p
<i>TERT</i> rs401681	CC	126 (34,2)	33 (40,7)	0,524	14 (31,8)	0,870
	CT	177 (48,1)	36 (44,4)		23 (52,3)	
	TT	65 (17,7)	12 (14,8)		7 (15,9)	
	Iš viso	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	C	429 (58,3)	102 (63,0)	0,273	51 (58,0)	0,952
	T	307 (41,7)	60 (37,0)		37 (42,0)	

¹p < 0,001 (AG vs. AA+GG); ²p = 0,002 (AG vs. AA+GG); ³p = 0,017 (TT vs. CC+CT). Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Atlikta dvinarės logistinės regresijos analizė tarp invazyvios bei neinvazyvios HA ir referentinės grupės tiriamųjų. Nustatyta, kad *TEPI* rs1713418 GG, palyginti su AA+AG, pagal recesyvinį modelį, yra susijęs su 2,4 karto didesne invazyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 2,435; 95 proc. PI: 11,014–5,849; p = 0,047), tačiau pritaikius Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$), statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas.

TERC rs35073794 AG, palyginti su AA+GG, pagal dominantinį modelį, yra susijęs su 5 kartus sumažėjusia invazyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 0,214; 95 proc. PI: 0,109–0,417; p < 0,001); ryšys išliko taikant Bonferroni korekciją.

TERT rs2736098 TT, palyginti su CC, yra susijęs su apie 2,3 karto mažesne invazyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 0,439; 95 proc. PI: 0,211–0,912; p = 0,027), o pagal recesyvinį modelį TT, palyginti su CC+CT, yra susijęs su apie 2,3 karto mažesne invazyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 0,431; 95 proc. PI: 0,212–0,874; p = 0,020), tačiau pritaikius Bonferroni korekciją statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas.

Be to, *TERC* rs35073794 AG genotipas pagal kodominantinį modelį, AG+AA genotipas, pagal dominantinį modelį, AG genotipas pagal viršdominantinį modelį ir G alelis pagal adityvų modelį sumažino neinvazyvios HA pasireiškimo galimybę atitinkamai 26 kartus (GS = 0,038; 95 proc. PI: 0,005–0,278; p = 0,001), apie 31 kartą (GS = 0,032; 95 proc. PI: 0,004–0,232; p = 0,001), apie 3,3 karto (GS = 0,302; 95 proc. PI: 0,137–0,668; p = 0,003) ir apie 62 kartus (GS = 0,016; 95 proc. PI: 0,002–0,116; p < 0,001); po Bonferroni korekcijos šiems skirtumams statistinis reikšmingumas buvo nustatytas (3.1.7 lentelė).

Analizuojant *TEPI* rs1760904, *TERC* rs12696304 ir *TERT* rs401681 statistiškai reikšmingų skirtumų tarp invazyvia ir neinvazyvia HA sergančių asmenų bei referentinės grupės nenustatyta.

3.1.7 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė invazyvia HA, neinvazyvia HA sergančiųjų ir referentinėje grupėje

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
Invazyvi HA				
<i>TEPI</i> rs1713418				
Kodominantinis	AG vs. AA	0,843 (0,504–1,409)	0,515	422,616
	GG vs. AA	2,206 (0,872–5,578)	0,095	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,003 (0,610–1,651)	0,989	425,857
Recesyvusis	GG vs. AA+AG	2,435 (1,014–5,849)	0,047	421,042
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,702 (0,423–1,139)	0,152	423,790
Adityvinis	A	1,216 (0,850–1,740)	0,285	424,699
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,000 (0,000– -)	0,995	320,054
	AA vs. GG	0,000 (0,000– -)	0,997	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,000 (0,000– -)	0,995	347,488
Recesyvusis	AA vs. GG+AG	0,000 (0,000– -)	0,998	386,885
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,214 (0,109–0,417)	< 0,001	401,155
Adityvinis	A	0,000 (0,000– -)	0,995	318,054
<i>TERT</i> rs2736098				
Kodominantinis	CT vs. CC	1,054 (0,608–1,825)	0,853	422,844
	TT vs. CC	0,439 (0,211–0,912)	0,027	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,831 (0,512–1,351)	0,456	425,304
Recesyvusis	TT vs. CC+CT	0,431 (0,212–0,874)	0,020	420,879
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,205 (0,709–2,048)	0,490	425,372
Adityvinis	C	0,752 (0,531–1,067)	0,111	423,376
Neinvazyvi HA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,038 (0,005–0,278)	0,001	221,561
	AA vs. GG	0,000 (0,000– -)	0,999	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,032 (0,004–0,232)	0,001	245,495
Recesyvusis	AA vs. GG+AG	0,000 (0,000– -)	0,999	249,592
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,302 (0,137–0,668)	0,003	271,385
Adityvinis	G	0,016 (0,002–0,116)	< 0,001	221,340

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Nustatyta, kad *TEPI* rs1713418 GG genotipas HA be atkryčio grupėje buvo statistiškai reikšmingai retesnis nei referentinėje grupėje (6,5 proc. vs. 16,3 proc., $p = 0,017$), tačiau pritaikius Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,083$) statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas. Nustatyta *TERC* rs35073794 sąsaja tiek su HA su atkryčiu, tiek be jo: AG genotipas dažnesnis HA su atkryčiu grupėje nei referentinėje (90,0 proc. vs. 57,6 proc.; $p < 0,001$) ir HA

be atkryčio grupėje nei referentinėje (82,6 proc. vs. 57,6 proc.; $p < 0,001$); Statistinis reikšmingumas buvo pasiektas ir taikant Bonferroni korekciją. Be to, *TERT* rs2736098 TT genotipas buvo dažnesnis HA be atkryčio grupėje nei referentinėje grupėje (15,2 proc. vs. 7,6 proc., $p = 0,026$), tačiau po Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko.

Analizuojant *TEPI* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304 ir *TERT* rs401681 genotipų bei alelių pasiskirstymą, statistiškai reikšmingų skirtumų tarp hipofizės adenomos su atkryčiu ir be atkryčio grupių, palyginti su referentine grupe, nenustatyta (3.1.8 lentelė).

3.1.8 lentelė. *TEPI*, *TERC* ir *TERT* genų vieno nukleotido variantų genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas hipofizės adenomos su atkryčiu arba be jo ir referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	HA su atkryčiu grupė, n (proc.)	p	HA be atkryčio grupė, n (proc.)	p
<i>TEPI</i> rs1760904	AA AG GG Iš viso	95 (25,8) 185 (50,3) 88 (23,9) 368 (100)	8 (26,7) 18 (60,0) 4 (13,3) 30 (100)	0,393	24 (26,1) 45 (48,9) 23 (25,0) 92 (100)	0,968
	A G	375 (51,0) 361 (49,0)	34 (45,7) 26 (43,3)	0,373	93 (50,5) 91 (49,5)	0,921
<i>TEPI</i> rs1713418	AA AG GG Iš viso	136 (37,0) 172 (46,7) 60 (16,3) 368 (100)	12 (40,0) 13 (43,3) 5 (16,7) 30 (100)	0,932	33 (35,9) 53 (57,6) 6 (6,5) ¹ 92 (100)	0,035
	A G	444 (60,3) 292 (39,7)	37 (61,7) 23 (38,3)	0,838	119 (64,7) 65 (35,3)	0,279
<i>TERC</i> rs12696304	CC CG GG Iš viso	199 (54,1) 142 (38,6) 27 (7,3) 368 (100)	14 (46,7) 14 (46,7) 2 (6,6) 30 (100)	0,683	47 (51,1) 39 (42,4) 6 (6,5) 92 (100)	0,794
	C G	540 (73,4) 196 (26,6)	42 (70,0) 18 (30,0)	0,571	133 (72,3) 51 (27,7)	0,766
<i>TERC</i> rs35073794	GG AG AA Iš viso	156 (42,4) 212 (57,6) ^{1;2} 0 (0,0) 368 (100)	0 (0,0) 27 (90,0) ¹ 3 (10,0) 30 (100)	< 0,001	1 (1,1) 76 (82,6) ² 15 (16,3) 92 (100)	< 0,001
	G A	524 (71,2) 212 (28,8)	27 (45,0) 33 (55,0)	< 0,001	78 (42,4) 106 (57,6)	< 0,001-

3.1.8 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	HA su atkryčiu grupė, n (proc.)	p	HA be atkryčio grupė, n (proc.)	p
<i>TERT</i> rs2736098	CC	221 (60,1)	16 (53,3)	0,691	52 (56,5)	0,074
	CT	119 (32,3)	12 (40,0)		26 (28,3)	
	TT	28 (7,6) ³	2 (6,7)		14 (15,2) ³	
	Iš viso	368 (100)	30 (100)		92 (100)	
	C	561 (76,2)	44 (73,3)	0,614	130 (70,7)	0,118
T	175 (23,8)	16 (26,7)		54 (29,3)		
<i>TERT</i> rs401681	CC	126 (34,2)	9 (30,0)	0,881	38 (41,3)	0,414
	CT	177 (48,1)	15 (50,0)		41 (44,6)	
	TT	65 (17,7)	6 (20,0)		13 (14,1)	
	Iš viso	368 (100)	30 (100)		92 (100)	
	C	429 (58,3)	33 (55,0)	0,620	117 (63,6)	0,191
T	307 (41,7)	27 (45,0)		67 (36,4)		

¹p < 0,001 (AG vs. AA+GG); ²p < 0,001 (AG vs. AA+GG); ³p = 0,026 (TT vs. CC+CT). Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta HA su atkryčiu arba be jo ir referentinės grupės tiriamiesiems. Nustatėme, kad *TERC* rs35073794 AG, palyginti su AA+GG, pagal dominantinį modelį, yra susijęs su apie 7 kartus sumažėjusia HA su atkryčiu pasireiškimo galimybe (GS = 0,151; 95 proc. PI: 0,045–0,507; p = 0,002), sąsaja išliko statistiškai reikšminga taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$). *TEPI* rs1713418 GG, palyginti su AA+AG, pagal recesyvinį modelį, yra susijęs su apie 3 kartus didesne HA be atkryčio pasireiškimo galimybe (GS = 2,792; 95 proc. PI: 1,167–6,682; p = 0,021), po Bonferroni korekcijos statistinis reikšmingumas nebuvo nustatytas.

TERC rs35073794 AG genotipas pagal kodominantinį modelį, AG+AA genotipai pagal dominantinį modelį, AG genotipas pagal viršdominantinį modelį ir A alelis pagal adityvinį modelį mažino HA be atkryčio pasireiškimo galimybę atitinkamai 56 kartus (GS = 0,018; 95 proc. PI: 0,002–0,130; p < 0,001), 67 kartus (GS = 0,015; 95 proc. PI: 0,002–0,108; p < 0,001), 3 kartus (GS = 0,286; 95 proc. PI: 0,161–0,510; p < 0,001), 100 kartų (GS = 0,010; 95 proc. PI: 0,001–0,074; p < 0,001), visos sąsajos buvo statistiškai reikšmingos ir po Bonferroni korekcijos.

TERT rs2736098 TT, palyginti su CC, yra susijęs su apie 2 kartus mažesne HA be atkryčio pasireiškimo galimybe (GS = 0,471; 95 proc. PI: 0,232–0,956; p = 0,037). Be to, pagal recesyvinį modelį, TT, palyginti su CC+CT, yra susijęs su 2 kartus mažesne HA be atkryčio pasireiškimo galimybe (GS = 0,459; 95 proc. PI: 0,231–0,912; p = 0,026), tačiau po Bonferroni korekcijos šios sąsajos neišliko reikšmingos (3.1.9 lentelė).

3.1.9 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė HA su atkryčiu arba be atkryčio ir referentinėje grupėse

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
HA su atkryčiu				
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG AA vs. GG	– –	– –	–
Dominantinis	AG+AA vs. GG	–	–	–
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,151 (0,045–0,507)	0,002	202,347
Adityvinis	G	–	–	–
HA be atkryčio				
<i>TEP1</i> rs1713418				
Kodominantinis	AG vs. AA GG vs. AA	0,787 (0,483–1,285) 2,426 (0,966–6,097)	0,339 0,059	456,762
Dominantinis	AG+GG vs. AA	0,954 (0,593–1,535)	0,847	462,333
Recesyvinis	GG vs. AA+AG	2,792 (1,167–6,682)	0,021	455,687
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,646 (0,407–1,024)	0,063	458,883
Adityvinis	A	1,211 (0,860–1,705)	0,272	461,151
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG AA vs. GG	– –	– –	–
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,015 (0,002–0,108)	< 0,001	384,459
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,286 (0,161–0,510)	< 0,001	440,861
Adityvinis	A	0,010 (0,001–0,074)	< 0,001	347,599
<i>TERT</i> rs2736098				
Kodominantinis	CT vs. CC TT vs. CC	1,077 (0,640–1,813) 0,471 (0,232–0,956)	0,780 0,037	459,722
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,865 (0,545–1,372)	0,537	461,991
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,459 (0,231–0,912)	0,026	457,800
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,213 (0,733–2,007)	0,452	461,795
Adityvinis	C	0,781 (0,559–1,091)	0,148	460,319

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Buvo analizuojamas VNV genotipų ir alelių pasiskirstymas tarp mikro arba makro HA ir referentinės grupių. Nustatyta, kad *TERC* rs35073794 yra susijęs tiek su makro, tiek mikro HA. Analizė parodė, kad AG genotipas yra dažnesnis makro HA grupėje nei referentinėje grupėje ir mikro HA grupėje nei referentinėje grupėje (atitinkamai 84,8 proc. ir 57,6 proc., $p < 0,001$;

82,9 proc. ir 57,6 proc., $p = 0,002$), statistinis reikšmingumas buvo pasiektas ir taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$).

Taip pat, *TERT* rs2736098 TT genotipas dažnesnis makro HA grupėje nei referentinėje grupėje (16,5 proc. ir 7,6 proc., $p = 0,013$), taip pat kiekvienas T alelis dažnesnis mikro HA grupėje nei referentinėje grupėje (31,6 proc. ir 23,8 proc., $p = 0,039$); po Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko.

Analizuojant *TEPI* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, *TERT* rs401681 variantus, statistiškai reikšmingų skirtumų tarp pacientų, sergančių mikro ar makro HA, ir referentinės grupės nenustatyta (3.1.10 lentelė).

3.1.10 lentelė. *TEPI*, *TERC* ir *TERT* genų vieno nukleotido variantų genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas makro arba mikro HA ir referentinės grupės

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	Makro HA grupė, n (proc.)	p	Mikro HA grupė, n (proc.)	p
<i>TEPI</i> rs1760904	AA AG GG Iš viso	95 (25,8) 185 (50,3) 88 (23,9) 368 (100)	20 (25,3) 39 (49,4) 20 (25,3) 79 (100)	0,966	12 (29,3) 23 (56,1) 6 (14,6) 41 (100)	0,407
	A G	375 (51,0) 361 (49,0)	79 (50,0) 79 (50,0)	0,828	47 (57,3) 35 (42,7)	0,274
<i>TEPI</i> rs1713418	AA AG GG Iš viso	136 (37,0) 172 (46,7) 60 (16,3) 368 (100)	28 (35,4) 42 (53,2) 9 (11,4) 79 (100)	0,445	17 (41,5) 22 (53,7) 2 (4,8) 41 (100)	0,153
	A G	444 (60,3) 292 (39,7)	98 (62,0) 60 (38,0)	0,692	56 (68,3) 26 (31,7)	0,160
<i>TERC</i> rs12696304	CC CG GG Iš viso	199 (54,1) 142 (38,6) 27 (7,3) 368 (100)	36 (45,6) 39 (49,4) 4 (5,1) 79 (100)	0,197	23 (56,1) 14 (34,1) 4 (9,8) 41 (100)	0,778
	C G	540 (73,4) 196 (26,6)	111 (70,3) 47 (29,7)	0,424	60 (73,2) 22 (26,8)	0,969
<i>TERC</i> rs35073794	GG AG AA Iš viso	156 (42,4) 212 (57,6) ^{1;2} 0 (0,0) 368 (100)	1 (1,3) 67 (84,8) ¹ 11 (13,9) 79 (100)	< 0,001	0 (0,0) 34 (82,9) ² 7 (17,1) 44 (100)	< 0,001
	G A	524 (71,2) 212 (28,8)	69 (43,7) 89 (56,3)	< 0,001	34 (41,5) 48 (58,5)	< 0,001

3.1.10 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	Makro HA grupė, n (proc.)	p	Mikro HA grupė, n (proc.)	p
<i>TERT</i> rs2736098	CC	221 (60,1)	42 (53,2)	0,046	24 (58,5)	0,973
	CT	119 (32,3)	24 (30,4)		14 (34,1)	
	TT	28 (7,6) ³	13 (16,5) ³		3 (7,3)	
	Iš viso	368 (100)	79 (100)		41 (100)	
	C	561 (76,2)	108 (68,4)	0,039	62 (75,6)	0,902
T	175 (23,8)	50 (31,6)	20 (24,4)			
<i>TERT</i> rs401681	CC	126 (34,2)	30 (38,0)	0,672	17 (41,5)	0,638
	CT	177 (48,1)	38 (48,1)		17 (41,5)	
	TT	65 (17,7)	11 (13,9)		7 (17,0)	
	Iš viso	368 (100)	79 (100)		41 (100)	
	C	429 (58,3)	98 (62,0)	0,386	51 (62,2)	0,496
T	307 (41,7)	60 (38,0)	31 (37,8)			

¹p < 0,001 (AG vs. AA+GG); ²p = 0,002 (AG vs. AA+GG); ³p = 0,013 (TT vs. CC+CT). Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Mikro arba makro HA ir referentinės grupės tiriamiesiems atlikta dvina-
rės logistinės regresijos analizė. Nustatyta, kad *TERC* rs35073794 AG, paly-
ginti su AA+GG, pagal dominantinį modelį, yra susijęs su 4 kartus mažesne
mikro HA pasireiškimo galimybe (GS = 0,280; 95 proc. PI: 0,121–0,648; p =
0,003). *TERC* rs35073794 turi priešingą poveikį makro HA išsivystymo gali-
mybei: AG genotipas pagal kodominantinį modelį, AG+AA genotipai pagal
dominantinį modelį, AG genotipas pagal viršdominantinį modelį ir G alelis
pagal adityvinį modelį padidino makro HA pasireiškimo galimybę atitinka-
mai 49 kartus (GS = 49,302; 95 proc. PI: 6,771–358,990; p < 0,001), 57 kartus
(GS = 57,393; 95 proc. PI: 7,899–417,078; p < 0,001), 4 kartus (GS = 4,108;
95 proc. PI: 2,149–7,856; p < 0,001), 82 kartus (GS = 83,234; 95 proc. PI:
11,522–601,271; p < 0,001); visi rezultatai išliko statistiškai reikšmingi po
Bonferroni korekcijos ($\alpha^* = 0,0083$).

TERT rs2736098 TT pagal kodominantinį modelį, taip pat pagal rece-
syvinį modelį, siejosi su apie 2 kartus didesne makro HA pasireiškimo gali-
mybe (atitinkamai GS = 2,443; 95 proc. PI: 1,170–5,099; p = 0,017; ir GS =
2,392; 95 proc. PI: 1,177–4,858; p = 0,016); po Bonferroni korekcijos reikš-
mingumas neišliko (3.1.11 lentelė).

3.1.11 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė mikro arba makro HA ir referentinėje grupėse

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
Mikro HA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG	–	NA	NA
	AA vs. GG	–	NA	NA
Dominantinis	AG+AA vs. GG	–	NA	NA
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	NA	NA
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,280 (0,121–0,648)	0,003	257,403
Adityvinis	G	–	NA	NA
Makro HA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Kodominantinis	AG vs. GG	49,302 (6,771–358,990)	< 0,001	323,701
	AA vs. GG	–	NA	NA
Dominantinis	AG+AA vs. GG	57,393 (7,899–417,078)	< 0,001	351,798
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	NA	NA
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	4,108 (2,149–7,856)	< 0,001	396,054
Adityvinis	A	83,234 (11,522–601,271)	< 0,001	322,740
<i>TERT</i> rs2736098				
Kodominantinis	CT vs. CC	1,061 (0,613–1,837)	0,832	415,617
	TT vs. CC	2,443 (1,170–5,099)	0,017	NA
Dominantinis	CT+TT vs. CC	1,324 (0,812–2,159)	0,260	417,702
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	2,392 (1,177–4,858)	0,016	413,662
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,913 (0,539–1,546)	0,735	418,850
Adityvinis	C	1,408 (0,992–2,000)	0,055	415,400

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

TEP1 koncentracija kraujo serume buvo matuojama pacientams, sergantiems HA (n = 40) ir referentinės grupės asmenims (n = 40), tačiau statistškai reikšmingo skirtumo nenustatyta (mediana (IQR): 236 (127) ir 269 (200), p = 0,370).

Buvo atliktas skirtingų genotipų serumo TEP1 koncentracijų kraujo serume palyginimas pasirinktų vieno nukleotido variantų atveju. HA pacientų, turinčių bent vieną *TEP1* rs1713418 G alelį, serumo TEP1 koncentracija kraujo serume buvo statistškai reikšmingai mažesnė nei referentinės grupės asmenų (p = 0,035); tačiau pritaikius Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0083$) reikšmingumas neišliko. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp *TEP1* rs1760904, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098 ir rs401681 nenustatyta (3.1.12 lentelė).

3.1.12 lentelė. TEPI koncentracija kraujo serume pagal genotipus

Genas, VNV	Genotipai	TEPI koncentracija kraujo serume		p*
		HA grupė mediana (IQR)	Referentinė grupė mediana (IQR)	
TEPI rs1760904	AA	240,5 (111)	272,18 (180,12)	0,366
	AG+GG	235,83 (173,86)	268,89 (199,71)	0,616
TEPI rs1713418	AA	265,89 (108,21)	297,08 (204,90)	0,622
	AG+GG	233,45 (132,81)	348,09 (324,42)	0,035
TERC rs12696304	CC	254,30 (141,52)	269,26 (193,06)	0,464
	CG+GG	228,80 (146,63)	234,51 (132,14)	1,000
TERC rs35073794	GG	–	258,09 (165,74)	NA
	AG+AA	235,83 (127,19)	326,76 (189,41)	0,196
TERT rs2736098	CC	254,30 (406,35)	282,99 (251,93)	0,891
	CT+TT	228,80 (129,18)	268,89 (153,22)	0,308
TERT rs401681	CC	272,76 (87,16)	261,42 (146,86)	0,866
	CT+TT	231,07 (146,08)	268,89(197,58)	0,242

* Naudotas Manno–Vitnio U testas. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

Santykinis leukocitų telomerų ilgis (SLTI) buvo nustatytas 52 pacientams, sergantiems HA, ir 226 referentinės grupės tiriamiesiems. Analizė parodė, kad statistiškai reikšmingo skirtumo tarp HA ir referentinės grupės SLTI nenustatyta (mediana (IQR): 0,645 (1,112) vs. 0,603 (0,635), $p = 0,901$).

Be to, buvo atliktas visų tirtų variantų SLTI palyginimas tarp skirtingų genotipų. Statistiškai reikšmingų skirtumų, lyginant HA ir referentinės grupes, nenustatyta (3.1.13 lentelė).

3.1.13 lentelė. Santykinis leukocitų telomerų ilgis pagal genotipus

Genas, VNV	Genotipai	Santykinis leukocitų telomerų ilgis		p
		HA grupė mediana (IQR)	Referentinė grupė mediana (IQR)	
TEPI rs1760904	AA	0,198 (1,05)	0,511 (0,84)	0,172*
	AG+GG	0,624 (0,54)	0,822 (1,31)	0,360*
TEPI rs1713418	AA	0,331 (1,07)	0,613 (0,73)	0,372*
	AG+GG	0,857 (1,13)	0,603 (0,55)	0,525*
TERC rs12696304	CC	0,361 (0,89)	0,539 (0,66)	0,301*
	CG+GG	0,932 (1,57)	0,633 (0,58)	0,199**
TERC rs35073794	GG	–	0,631 (0,90)	NA
	AG+AA	0,645 (1,11)	0,576 (0,43)	0,774*

3.1.13 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipai	Santykiniis leukocitų telomerų ilgis		p
		HA grupė mediana (IQR)	Referentinė grupė mediana (IQR)	
TERT rs2736098	CC	0,440 (1,26)	0,561 (0,59)	0,561*
	CT+TT	0,944 (1,04)	0,665 (0,67)	0,645*
TERT rs401681	CC	1,166 (1,88)	0,661 (0,68)	0,137*
	CT+TT	0,411 (0,85)	0,596 (0,55)	0,204*

* Naudotas Manno–Vitnio U testas. **Buvo naudojamas Stjudento T testas. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0083$.

3.2. Antrasis tyrimas

TNKS2, CTC1, ZNF676, TERF1 ir TERF2 genų vieno nukleotido variantų, baltymų ir santykinio leukocitų telomerų ilgio sąsajos su HA bei su HA aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu

Tyrime dalyvavo 450 tiriamųjų, suskirstytų į dvi grupes: referentinę (n = 320) ir pacientų, sergančių HA, grupę (n = 130). Nors bendrą šio darbo imtį sudarė 507 tiriamieji, atskiruose tyrimuose analizuotų tiriamųjų skaičius skyrėsi. Į šią analizę buvo įtraukti tik tie mėginiai, kuriuose buvo prieinami tiek genetinių variantų, tiek baltymų koncentracijų duomenys, todėl dalis mėginių nebuvo įtraukti dėl riboto serumo kiekio, mėginių kokybės ar techninių analizės apribojimų.

Referentinė grupė buvo koreguota pagal lytį ir amžių su HA grupe (atitinkamai p = 0,124; p = 0,620). SLTI buvo nustatytas 100 tiriamųjų, sergančių HA, ir 320 referentinės grupės tiriamųjų. Analizė parodė statistiškai reikšmingus skirtumus tarp referentinės ir HA grupių SLTI (p < 0,001). Tiriamųjų demografiniai duomenys pateikti 3.2.1 lentelėje.

3.2.1 lentelė. Demografinės antrojo tyrimo charakteristikos

Charakteristikos		Grupė		p
		HA	Referentinė	
Lytis	Vyrai, n (proc.)	50 (38,5)	99 (30,9)	0,124
	Moterys, n (proc.)	80 (61,5)	221 (69,1)	
Amžiaus vidurkis (SN)		52,73 (14,118)	51,88 (21,325)	0,620*
Santykinio leukocitų telomerų ilgio mediana (IQR)		1,987 (3,225)	0,619 (0,632)	< 0,001**

*Buvo naudojamas Stjudento T testas; **Buvo naudojamas Manno-Vitnio U testas; HA – hipofizės adenoma; SD – standartinis nuokrypis; IQR – tarpkvartilinis plotis; p – reikšmingumo lygmuo ($\alpha = 0,05$).

Tiriamųjų grupėse buvo analizuoti šių VNV genotipų ir alelių dažniai: *TERF1* rs1545827, *TERF1* rs10107605, *TNKS2* rs10509637, *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTCI* rs3027234.

Analizė parodė, kad *TERF1* rs1545827 (CC, CT ir TT) atveju nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp HA ir referentinės grupės: HA grupėje genotipų dažniai buvo 62,3 proc., 31,5 proc. ir 6,2 proc., o referentinėje grupėje – 37,2 proc., 50,6 proc. ir 12,2 proc. ($p < 0,001$). Taip pat T alelis buvo statistiškai reikšmingai retesnis HA grupėje (21,9 proc.) nei referentinėje grupėje (37,5 proc., $p < 0,001$).

TERF1 rs10107605 (AA, AC ir CC) atveju taip pat nustatyti reikšmingi skirtumai tarp HA ir referentinės grupės: HA grupėje genotipų dažniai buvo 90,8 proc., 9,2 proc. ir 0,0 proc., o referentinėje grupėje – 80,9 proc., 13,1 proc. ir 5,9 proc. ($p = 0,007$). Be to, C alelis HA grupėje buvo retesnis (4,6 proc.), palyginti su referentine grupe (12,5 proc., $p < 0,001$).

TNKS2 rs10509637 (AA, AG ir GG) analizė parodė statistiškai reikšmingą skirtumą tarp HA ir referentinės grupės: HA grupėje genotipų dažniai buvo 51,6 proc., 31,5 proc. ir 16,8 proc., o referentinėje grupėje – 68,5 proc., 28,1 proc. ir 3,4 proc. ($p < 0,001$). G alelis buvo reikšmingai dažnesnis HA grupėje (32,7 proc.), palyginti su referentine grupe (17,5 proc., $p < 0,001$). Šie skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,05/7 = 0,0071$). Tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp HA sergančių pacientų ir referentinės grupės nenustatyta šių VNV atveju: *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTCI* rs3027234. Rezultatai pateikti 3.2.2 lentelėje.

3.2.2 lentelė. Vieno nukleotido variantų genotipų ir alelių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	81 (62,3)	119 (37,2)	< 0,001
	CT	41 (31,5)	162 (50,6)	
	TT	8 (6,2)	39 (12,2)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	C	203 (78,1)	400 (62,5)	< 0,001
T	57 (21,9)	240 (37,5)		
<i>TERF1</i> rs10107605	AA	118 (90,8)	259 (80,9)	0,007
	AC	12 (9,2)	42 (13,1)	
	CC	0 (0,0)	19 (5,9)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	A	248 (95,4)	560 (87,5)	< 0,001
C	12 (4,6)	80 (12,5)		

3.2.2 lentelės tęsinys

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	67 (51,6)	219 (68,5)	< 0,001
	AG	41 (31,5)	90 (28,1)	
	GG	22 (16,8)	11 (3,4)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	A	175 (67,3)	528 (82,5)	< 0,001
G	85 (32,7)	112 (17,5)		
<i>TNKS2</i> rs10509639	AA	107 (82,3)	252 (78,8)	0,513
	AG	22 (16,9)	67 (20,9)	
	GG	1 (0,8)	1 (0,3)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	A	236 (90,8)	571 (89,2)	0,489
G	24 (9,2)	69 (10,8)		
<i>TERF2</i> rs251796	AA	61 (46,9)	154 (48,1)	0,215
	AG	59 (45,4)	125 (39,1)	
	GG	10 (7,7)	41 (12,8)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	A	181 (69,6)	433 (67,7)	0,567
G	79 (30,4)	207 (32,3)		
<i>ZNF676</i> rs412658	CC	64 (49,2)	135 (42,2)	0,287
	CT	50 (38,5)	149 (46,6)	
	TT	16 (12,3)	36 (11,2)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	C	178 (68,5)	419 (65,5)	0,389
T	82 (31,5)	221 (34,5)		
<i>CTCI</i> rs3027234	CC	78 (60,0)	199 (62,2)	0,702
	CT	46 (35,4)	102 (31,9)	
	TT	6 (4,6)	19 (5,9)	
	Iš viso	130 (100)	320 (100)	
	C	202 (76,9)	500 (78,1)	0,887
T	58 (23,1)	140 (21,9)		

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Hardy–Weinbergo pusiausvyros (HWE) analizė parodė, kad referentinės grupės *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509637, *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTCI* rs3027234 genotipų pasiskirstymas nenukrypo nuo HWE ($p > 0,05$). Tačiau nustatyta, kad *TERF1* rs10107605 genotipų pasiskirstymas neatitiko HWE (3.2.3 lentelė). Atsižvelgiant į šį rezultatą, šis VNV buvo pašalintas iš tolimesnių analizių.

3.2.3 lentelė. Hardy-Weinbergo pusiausvyros analizė referentinėje grupėje

Genas ir VNV	Alelių pasiskirstymas		Genotipų pasiskirstymas	p
<i>TERF1</i> rs1545827	0,62 C	0,38 T	39/162/119	0,152
<i>TERF1</i> rs10107605	0,87 A	0,13 C	19/42/259	< 0,0001
<i>TNKS2</i> rs10509637	0,82 A	0,18 G	11/90/219	0,642
<i>TNKS2</i> rs10509639	0,89 A	0,11 G	1/67/252	0,114
<i>TERF2</i> rs251796	0,68 A	0,32 G	41/125/154	0,055
<i>ZNF676</i> rs412658	0,65 C	0,35 T	36/149/135	0,594
<i>CTC1</i> rs3027234	0,78 C	0,22 T	19/102/199	0,228

VNV – vieno nukleotido variantas; p – reikšmingumo lygmuo ($\alpha = 0,05$).

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės tiriamiesiems, siekiant iširti pasirinktų VNV ryšį su HA pasireiškimu. Nustatėme, kad *TERF1* rs1545827 CT+TT genotipai, palyginti su CC, pagal geriausiai tinkantį genetinį modelį (pagal mažiausią AIK vertę), yra susijęs su 2,9 karto mažesne HA pasireiškimu galimybe (GS = 0,358; 95 proc. PI: 0,235–0,546; $p < 0,001$). *TNKS2* rs10509637 GG genotipas, palyginti su AA, pagal geriausiai tinkantį recesyvinį genetinį modelį, yra susijęs su 6,5 karto didesne HA pasireiškimu galimybe (GS = 6,537; 95 proc. PI: 3,015–14,172; $p < 0,001$) (3.2.4 lentelė). Šie skirtumai išliko statistiškai reikšmingi taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0071$).

Tačiau analizuojant HA pasireiškimu ryšį su *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTC1* rs3027234, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatėme.

3.2.4 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>TERF1</i> rs1545827				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,372 (0,239–0,580)	< 0,001	521,1
	TT vs. CC	0,301 (0,134–0,678)	0,004	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,358 (0,235–0,546)	< 0,001	519,4
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,472 (0,214–1,041)	0,063	519,1
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,449 (0,292–0,691)	< 0,001	529,2
Adityvinis	T	0,453 (0,320–0,642)	< 0,001	521,1

3.2.4 lentelės tęsinys

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,489 (0,940–2,358)	0,090	520,2
	GG vs. AA	6,537 (3,015–14,172)	< 0,001	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	2,039 (1,344–3,094)	< 0,001	531,9
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	5,722 (2,686–12,189)	< 0,001	521,1
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,177 (0,756–1,833)	0,470	542,5
Adityvinis	G	2,081 (1,516–2,857)	< 0,001	522,3
<i>TNKS2</i> rs10509639				
Kodominantinis	AG vs. AA	0,773 (0,454–1,317)	0,344	541,7
	GG vs. AA	2,355 (0,146–38,001)	0,546	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	0,797 (0,472–1,345)	0,395	542,3
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	2,473 (0,154–39,834)	0,523	542,6
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,769 (0,452–1,309)	0,333	540,1
Adityvinis	G	0,831 (0,502–1,378)	0,474	542,5
<i>TERF2</i> rs251796				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,192 (0,776–1,829)	0,423	541,8
	GG vs. AA	0,616 (0,290–1,306)	0,206	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,049 (0,698–1,579)	0,817	543,0
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,567 (0,275–1,169)	0,124	540,5
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,296 (0,859–1,957)	0,217	541,5
Adityvinis	G	0,917 (0,677–1,243)	0,578	542,7
<i>ZNF676</i> rs412658				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,708 (0,457–1,096)	0,121	542,5
	TT vs. CC	0,938 (0,485–1,813)	0,848	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,753 (0,500–1,133)	0,173	541,2
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	1,107 (0,591–2,074)	0,750	542,9
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,717 (0,473–1,087)	0,117	540,6
Adityvinis	T	0,874 (0,643–1,189)	0,392	542,3
<i>CTC1</i> rs3027234				
Kodominantinis	CT vs. CC	1,151 (0,744–1,779)	0,528	544,3
	TT vs. CC	0,806 (0,310–2,093)	0,657	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	1,096 (0,722–1,664)	0,666	542,9
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,767 (0,299–1,965)	0,580	542,7
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,170 (0,762–1,798)	0,473	542,5
Adityvinis	T	1,024 (0,729–1,439)	0,889	543,0

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijusio Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Tiriamųjų grupių genotipų ir alelių dažniai buvo analizuojami pagal lytį.

TERF1 rs1545827 (CC, CT ir TT) atveju nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp HA ir referentinės grupės moterų: dažniai HA grupėje buvo 65,0 proc., 26,3 proc. ir 8,7 proc., palyginti su 37,1 proc., 48,9 proc. ir 14,0 proc. referentinėje grupėje ($p < 0,001$). Be to, T alelis HA grupėje buvo retesnis – 21,9 proc., palyginti su 38,5 proc. referentinėje grupėje ($p < 0,001$). Panašiai, *TNKS2* rs10509637 (AA, AG ir GG) atveju nustatytas reikšmingas skirtumas tarp HA ir referentinės grupės moterų: dažniai HA grupėje buvo 52,5 proc., 31,3 proc. ir 16,2 proc., palyginti su 68,8 proc., 27,1 proc. ir 4,1 proc. referentinėje grupėje ($p < 0,001$). G alelis HA grupėje buvo dažnesnis – 31,9 proc., palyginti su 17,6 proc. referentinėje grupėje ($p < 0,001$) (3.2.5 lentelė). Visi skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0071$).

Tačiau statistiškai reikšmingų genotipų ir alelių pasiskirstymo skirtumų tarp HA sergančių moterų ir referentinės grupės moterų nenustatyta analizuojant šiuos VNV: *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTCI* rs3027234.

3.2.5 lentelė. *TERF1* rs1545827 ir *TNKS2* rs10509637 genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA sergančioms ir referentinės grupės moterims

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupės moterys, n (proc.)	Referentinės grupės moterys, n (proc.)	P
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	52 (65,0)	82 (37,1)	< 0,001
	CT	21 (26,3)	108 (48,9)	
	TT	7 (8,7)	31 (14,0)	
	Iš viso	80 (100)	221 (100)	
	C	125 (78,1)	272 (61,5)	< 0,001
T	35 (21,9)	170 (38,5)		
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	42 (52,5)	152 (68,8)	< 0,001
	AG	25 (31,3)	60 (27,1)	
	GG	13 (16,2)	9 (4,1)	
	Iš viso	80 (100)	221 (100)	
	A	109 (68,1)	364 (82,4)	< 0,001
	G	51 (31,9)	78 (17,6)	

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės moterims, siekiant iširti pasirinktų VNV ryšį su HA atsiradimu. Rezultatai parodė, kad *TERF1* rs1545827 CT+TT genotipas, palyginti su CC, pagal patikimiausią dominantinį genetinį modelį (atrinktą pagal mažiausią AIK vertę), yra susijęs su 3,1 karto mažesne HA pasireiškimo galimybe moterims (GS = 0,318; 95 proc. PI: 0,186–0,542; $p < 0,001$).

TNKS2 rs10509637 AA genotipas, palyginti su AG+GG, pagal recesyvinį modelį, yra susijęs su 4,6 karto didesne HA pasireiškimo galimybe moterims (GS = 4,579; 95 proc. PI: 1,871–11,165; $p < 0,001$). Šie skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0071$).

Be to, *TERF2* rs251796 AA genotipas, palyginti su AG+GG, pagal recesyvinį modelį, yra susijęs su 3 kartus mažesne HA pasireiškimo galimybe moterims (GS = 0,335; 95 proc. PI: 0,114–0,983; $p = 0,047$); bet po Bonferroni korekcijos ryšys nebebuvo statistiškai reikšmingas (3.2.6 lentelė).

Analizuojant HA pasireiškimo moterims ryšį su *TNKS2* rs10509639, *ZNF676* rs412658 ir *CTC1* rs3027234, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatyta.

3.2.6 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė HA sergančioms ir referentinės grupės moterims

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>TERF1</i> rs1545827				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,307 (0,171–0,549)	< 0,001 0,023	333,9
	TT vs. CC	0,356 (0,146–0,868)		
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,318 (0,186–0,542)	< 0,001	332,0
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,588 (0,248–1,394)	0,228	349,0
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,372 (0,212–0,654)	< 0,001	337,8
Adityvinis	T	0,455 (0,298–0,697)	< 0,001	335,9
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,508 (0,846–2,689)	0,164 < 0,001	359,5
	GG vs. AA	5,228 (2,092–3,065)		
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,993 (1,181–3,362)	0,010	343,9
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	4,579 (1,871–11,165)	< 0,001	339,4
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,220 (0,698–2,131)	0,485	350,1
Adityvinis	G	1,973 (1,334–2,920)	< 0,001	339,0
<i>TERF2</i> rs251796				
Kodominantinis	AG vs. AA	0,917 (0,537–1,567)	0,752 0,044	347,5
	GG vs. AA	0,322 (0,107–0,971)		
Dominantinis	AG+GG vs. AA	0,765 (0,458–1,277)	0,306	349,5
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,335 (0,114–0,983)	0,047	345,6
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,081 (0,643–1,820)	0,768	350,5
Adityvinis	G	0,707 (0,476–1,051)	0,086	347,5

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Analizuojant vyrų grupę, nustatėme, kad *TERF1* rs1545827 (CC, CT ir TT) genotipų dažniai statistiškai reikšmingai skyrėsi tarp HA ir referentinės grupės vyrų. HA grupėje jie sudarė atitinkamai 58,0 proc., 40,0 proc. ir 2,0 proc., palyginti su 37,4 proc., 54,5 proc. ir 8,1 proc. referentinės grupės vyrų ($p = 0,036$). Be to, T alelis buvo retesnis HA grupėje – 22,0 proc., palyginti su 35,4 proc. referentinėje grupėje ($p = 0,018$), tačiau po Bonferroni korekcijos ($\alpha^* = 0,0071$) reikšmingumas neiškilo.

Reikšmingas skirtumas taip pat nustatytas *TNKS2* rs10509637 (AA, AG ir GG) atveju. HA grupei priklausantiems vyrams genotipų dažniai buvo 50,0 proc., 32,0 proc. ir 18,0 proc., o referentinės grupės vyrams – 67,7 proc., 30,3 proc. ir 2,0 proc. ($p = 0,001$). G alelis buvo dažnesnis HA grupės vyrams nei referentinės grupės vyrams (34,0 proc. ir 7,2 proc., $p = 0,001$). Šie skirtumai išliko statistiškai reikšmingi taikant Bonferroni korekciją (3.2.7 lentelė).

Tačiau *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTCI* rs3027234 atveju statistiškai reikšmingų genotipų ir alelių dažnių skirtumų tarp HA grupės ir referentinės grupės vyrų nenustatyta.

3.2.7 lentelė. *TERF1* rs1545827 ir *TNKS2* rs10509637 genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA sergantiems ir referentinės grupės vyrams

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupės vyrai, n (proc.)	Referentinės grupės vyrai, n (proc.)	p
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	29 (58,0)	37 (37,4)	0,036
	CT	20 (40,0)	54 (54,5)	
	TT	1 (2,0)	8 (8,1)	
	Iš viso	50 (100)	99 (100)	
	C	78 (78,0)	128 (64,6)	0,018
T	22 (22,0)	70 (35,4)		
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	25 (50,0)	67 (67,7)	0,001
	AG	16 (32,0)	30 (30,3)	
	GG	9 (18,0)	2 (2,0)	
	Iš viso	50 (100)	99 (100)	
	A	66 (66,0)	164 (82,8)	0,001
G	34 (34,0)	34 (17,2)		

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta pacientams, sergantiems HA, ir referentinei grupei, siekiant įvertinti pasirinktų VNV ryšį su HA pasireiškimo galimybe vyrams. Rezultatai parodė, kad *TERF1* rs1545827 T alelis, pagal patikimiausią adityvinį genetinį modelį (atrinktą pagal mažiausią AIK vertę), yra susijęs su 2,2 karto sumažėjusia HA pasireiškimo galimybe vyrams (GS = 0,450; 95 proc. PI: 0,242–0,834; $p = 0,011$); po Bonferroni korekcijos ($\alpha^* = 0,0071$) reikšmingumas neiškilo.

TNKS2 rs10509637 AA genotipas, palyginti su GG+AG, pagal patikimiausią recesyvinį genetinį modelį, yra susijęs su 10,6 karto padidėjusia HA pasireiškimo galimybe vyrams (GS = 10,646; 95 proc. PI: 2,204–51,433; $p = 0,003$); šis ryšys išliko taikant Bonferroni korekciją (3.2.8 lentelė).

Analizuojant sąsajas su *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTCI* rs3027234, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatyta.

3.2.8 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė tarp vyrų, sergančių HA, ir referentinės grupės vyrų

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>TERF1</i> rs1545827				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,473 (0,233–0,958)	0,038	187,2
	TT vs. CC	0,159 (0,019–1,349)	0,092	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,432 (0,216–0,865)	0,018	186,4
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,232 (0,028–1,910)	0,174	189,6
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,556 (0,279–1,108)	0,095	189,3
Adityvinis	T	0,450 (0,242–0,834)	0,011	185,2
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,489 (0,668–3,059)	0,358	181,5
	GG vs. AA	2,060 (2,436–59,707)	0,002	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	2,094 (1,044–4,200)	0,037	187,8
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	10,646 (2,204–51,433)	0,003	180,3
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,082 (0,520–2,252)	0,832	192,1
Adityvinis	G	2,298 (1,330–3,972)	0,003	182,9

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Buvo analizuojami *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509637 ir rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 bei *CTCI* rs3027234 genų VNV siekiant įvertinti jų ryšį su HA atkryčiu. Tik analizuojant *TERF1* rs1545827 ir *TNKS2* rs10509637 nustatėme statistiškai reikšmingus skirtumus tarp grupių. HA be atkryčio grupėje *TERF1* rs1545827 genotipų pasiskirstymas buvo statistiškai reikšmingas (CC, CT ir TT: 67,4 proc., 27,2 proc. ir 5,4 proc. vs. 37,2 proc., 50,6 proc. ir 12,2 proc. referentinėje grupėje, $p < 0,001$), o T alelis buvo retesnis HA be atkryčio grupėje nei referentinėje grupėje (19,0 proc. vs. 37,5 proc., $p < 0,001$). Šie skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0071$).

Analizuojant *TNKS2* rs10509637 nustatėme statistiškai reikšmingus skirtumus tiek HA su atkryčiu, tiek HA be atkryčio grupėse. HA su atkryčiu genotipų pasiskirstymas buvo AA, AG ir GG: 52,6 proc., 34,2 proc. ir 13,2 proc. vs. 68,5 proc., 28,1 proc. ir 3,4 proc. referentinėje grupėje ($p = 0,012$); po

Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko. G alelis buvo dažnesnis HA su atkryčiu grupėje (30,3 proc. vs. 17,5 proc., $p = 0,007$). HA be atkryčio grupėje *TNKS2* rs10509637 genotipų pasiskirstymas buvo AA, AG ir GG: 51,1 proc., 30,4 proc. ir 18,5 proc. vs. 68,5 proc., 28,1 proc. ir 3,4 proc. referentinėje grupėje ($p < 0,001$), o G alelis taip pat buvo dažnesnis (33,7 proc. vs. 17,5 proc., $p < 0,001$); skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją (3.2.9 lentelė).

Tačiau analizuojant HA ir atkryčio sąsajas su *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTC1* rs3027234, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatyta. Be to, tarp HA be atkryčio grupės ir *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 bei *CTC1* rs3027234 taip pat nebuvo nustatyta reikšmingų sąsajų.

3.2.9 lentelė. *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509637 genotipų ir alelių pasiskirstymo dažniai HA su atkryčiu arba be jo ir referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipai, aleliai	Referentinė grupė, n (proc.)	HA su atkryčiu grupė, n (proc.)	p	HA be atkryčio grupė, n (proc.)	p
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	119 (37,2)	19 (50,0)	0,290	62 (67,4)	< 0,001
	CT	162 (50,6)	16 (42,1)		25 (27,2)	
	TT	39 (12,2)	3 (7,9)		5 (5,4)	
	Iš viso	320 (100)	38 (100)		92 (100)	
	C	400 (62,5)	54 (71,1)	0,143	149 (81,0)	< 0,001
T	240 (37,5)	22 (28,9)	35 (19,0)			
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	219 (68,5)	20 (52,6)	0,012	47 (51,1)	< 0,001
	AG	90 (28,1)	13 (34,2)		28 (30,4)	
	GG	11 (3,4)	5 (13,2)		17 (18,5)	
	Iš viso	320 (100)	38 (100)		92 (100)	
	A	528 (82,5)	53 (69,7)	0,007	122 (66,3)	< 0,001
G	112 (17,5)	23 (30,3)	62 (33,7)			

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta pacientams, sergantiems HA su atkryčiu arba be jo, taip pat referentinei grupei. Nustatėme, kad *TNKS2* rs10509637 AA genotipas, palyginti su GG+AG, pagal patikimiausią recesyvinį genetinį modelį (atrinktą pagal mažiausią AIK vertę), yra susijęs su 4,2 karto padidėjusia HA su atkryčiu pasireiškimo galimybe (GS = 4,256; 95 proc. PI: 1,394–12,998; $p = 0,011$), tačiau pritaikius Bonferroni korekciją rezultatai statistiškai reikšmingi neišliko ($\alpha^* = 0,0071$). *TERF1* rs1545827 CT+TT genotipai, palyginti su CC, pagal patikimiausią dominantinį genetinį modelį, yra susijęs su 3,5 karto sumažėjusia HA be atkryčio pasireiškimo

galimybe (GS = 0,286; 95 proc. PI: 0,175–0,468; $p < 0,001$). *TNKS2* rs10509637 AA genotipas, palyginti su GG+AG, pagal patikimiausią recesyvinį genetinį modelį, yra susijęs su 6,4 karto padidėjusia HA be atkryčio pasireišimo galimybe (GS = 6,367; 95 proc. PI: 2,863–14,160; $p < 0,001$); šie skirtumai išliko taikant Bonferroni korekciją (3.2.10 lentelė).

Tačiau analizuojant HA ir atkryčio sąsajas su *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 ir *CTC1* rs3027234, statistškai reikšmingų rezultatų nenustatėme. Be to, reikšmingų sąsajų tarp HA be atkryčio ir *TNKS2* rs10509639, *TERF2* rs251796, *ZNF676* rs412658 bei *CTC1* rs3027234 nenustatyta.

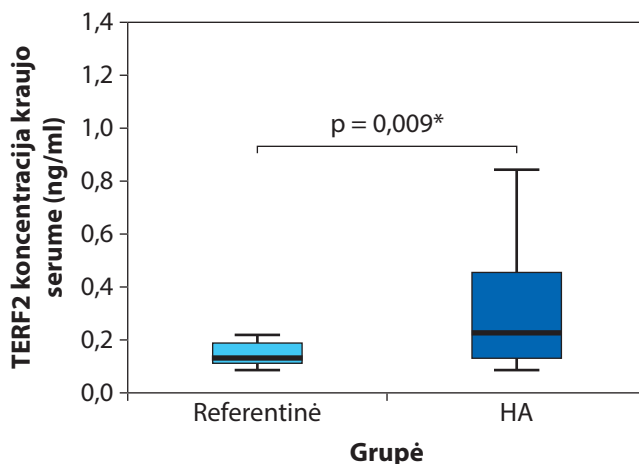
3.2.10 lentelė. Dvinarės logistinės regresijos analizė HA su atkryčiu arba be jo ir referentinės grupės tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
HA su atkryčiu				
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,582 (0,755–3,316)	0,225	239,5
	GG vs. AA	4,977 (1,573–15,751)	0,006	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,951 (0,990–3,848)	0,054	240,6
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	4,256 (1,394–12,998)	0,011	238,9
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,329 (0,651–2,711)	0,435	243,7
Adityvinis	G	1,968 (1,170–3,311)	0,011	238,2
HA be atkryčio				
<i>TERF1</i> rs1545827				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,296 (0,176–0,499)	< 0,001	414,9
	TT vs. CC	0,246 (0,092–0,656)	0,005	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,286 (0,175–0,468)	< 0,001	413,1
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,414 (0,158–1,083)	0,072	436,7
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,364 (0,219–0,605)	< 0,001	423,1
Adityvinis	T	0,375 (0,247–0,570)	< 0,001	415,2
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,450 (0,855–2,459)	0,168	418,9
	GG vs. AA	7,201 (3,168–16,371)	< 0,001	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	2,076 (1,295–3,328)	0,002	430,5
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	6,367 (2,863–14,160)	< 0,001	418,8
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,118 (0,674–1,855)	0,666	439,4
Adityvinis	G	2,173 (1,526–3,096)	< 0,001	421,3

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Analizuojant HA aktyvumo, invazyvumo, atkryčio bei dydžio sąsajas su tirtais VNV, statistiškai reikšmingų sąsajų nenustatyta.

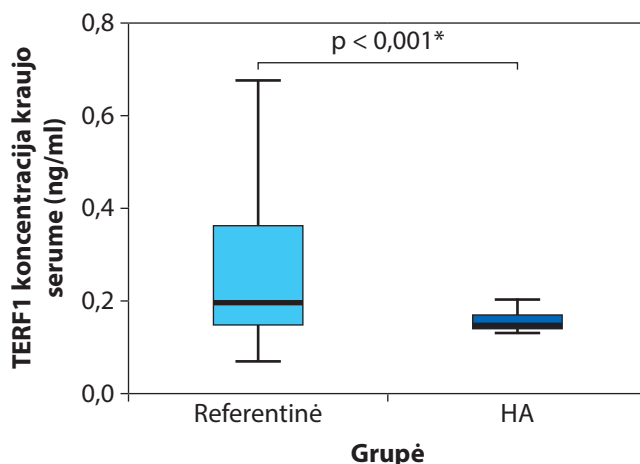
TERF2 koncentracija kraujo serume buvo matuojama pacientams, sergantiems HA (n = 40), ir referentinei grupei (n = 40). Nustatyta, kad HA pacientų TERF2 serumo lygis buvo padidėjęs, palyginti su referentine grupe (mediana (IQR): 0,222 (0,326) vs. 0,131 (0,072), p = 0,009). Rezultatai pateikti 3.2.1 paveiksle.



3.2.1 pav. TERF2 koncentracija kraujo serume HA ir referentinėje grupėse

*Buvo naudojamas Mann–Whitney U testas.

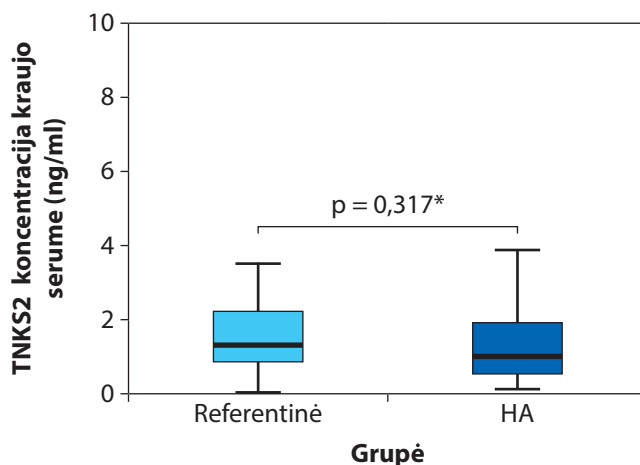
TERF1 koncentracija kraujo serume buvo matuojama pacientams, sergantiems HA (n = 40), ir referentinei grupei (n = 40). Nustatyta, kad HA pacientų TERF1 serumo lygis buvo sumažėjęs, palyginti su referentine grupe (mediana (IQR): 0,227 (0,027) vs. 0,269 (0,195), p < 0,001). Rezultatai pateikti 3.2.2 paveiksle.



3.2.2 pav. *TERF1 koncentracija kraujo serume HA ir referentinėje grupėse*

*Buvo naudojamas Manno–Vitnio U testas.

TNKS2 koncentracija kraujo serume buvo matuojama pacientams, sergantiems HA (n = 40), ir referentinei grupei (n = 40), tačiau statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta (mediana (IQR): 1,001 (1,359) vs. 1,293 (1,382), p = 0,317). Rezultatai pateikti 3.2.3 paveiksle.

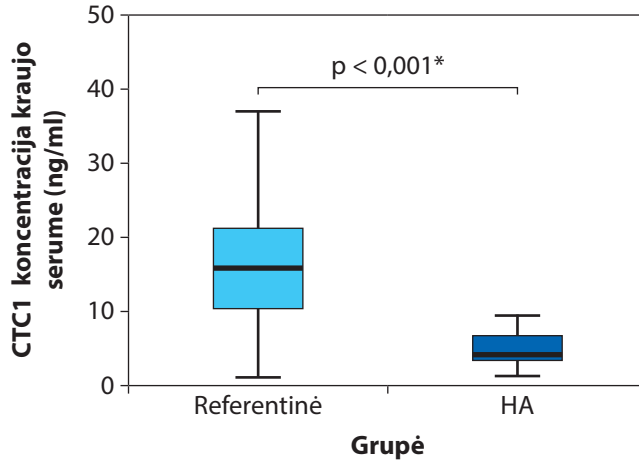


3.2.3 pav. *TNKS2 koncentracija kraujo serume HA ir referentinėje grupėse*

*Buvo naudojamas Manno–Vitnio U testas.

CTC1 koncentracija kraujo serume buvo matuojama pacientams, sergantiems HA (n = 40), ir referentinei grupei (n = 40). Nustatyta, kad HA pacientams CTC1 serumo lygis buvo sumažėjęs, palyginti su referentine

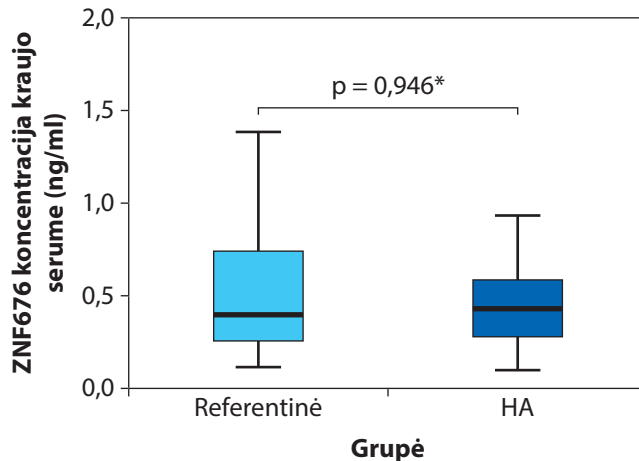
grupe (vidurkis (SN)): 6,155 (6,876) vs. 16,356 (8,409), $p < 0,001$). Rezultatai pateikti 3.2.4 paveiksle.



3.2.4 pav. CTC1 koncentracija kraujo serume HA ir referentinėje grupėse

*Buvo naudojamas Student T testas.

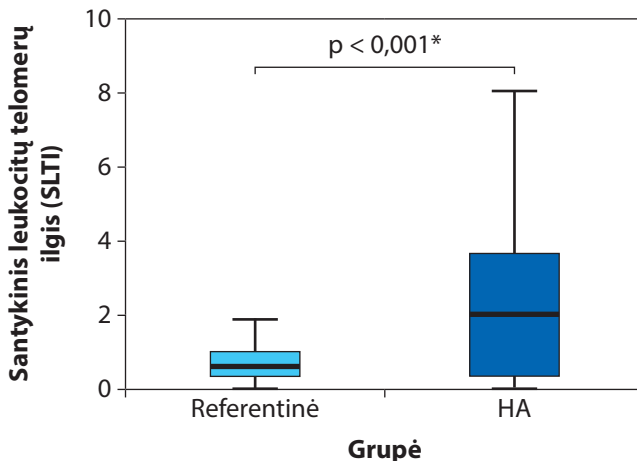
ZNF676 koncentracija kraujo serume buvo matuojama pacientams, sergantiems HA ($n = 40$), ir referentinei grupei ($n = 40$), tačiau statistiškai reikšmingo skirtumo nustačius (mediana (IQR): 0,426 (0,327) vs. 0,394 (0,455), $p = 0,946$). Rezultatai pateikti 3.2.5 paveiksle.



3.2.5 pav. ZNF676 koncentracija kraujo serume HA ir referentinėje grupėse

*Buvo naudojamas Mann–Whitney U testas.

SLTI buvo išmatuotas 100 HA pacientų ir 320 referentinės grupės tiriamųjų. Nustatytas statistiškai reikšmingas SLTI skirtumas tarp HA grupės ir referentinės grupės tiriamųjų (mediana (IQR): 1,987 (3,225) vs. 0,619 (0,632), $p < 0,001$). Rezultatai pateikti 3.2.6 paveiksle.



3.2.6 pav. SLTI tarp HA ir referentinės grupių tiriamųjų

*Buvo naudojamas Manno–Vitnio U testas.

Atsižvelgiant į referentinės grupės SLTI medianą, atlikome analizę tiriamiesiems, turintiems ilgas telomeras (kai $SLTI \geq 0,619$), ir tiriamiesiems, turintiems trumpos telomeras (kai $SLTI < 0,619$).

Analizuojant *TERF1* rs1545827 (CC, CT ir TT) nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp ilgas ir trumpos telomeras turinčių tiriamųjų: dažniai ilgas telomeras turinčiųjų grupėje buvo 46,8 proc., 45,0 proc. ir 8,2 proc., palyginti su 36,9 proc., 48,7 proc. ir 14,4 proc. trumpos telomeras turinčiųjų grupėje ($p = 0,043$). Be to, T alelis buvo retesnis ilgas telomeras turinčiųjų grupėje, palyginti su trumpos telomeras turinčiųjų grupe (30,1 proc. ir 38,8 proc., $p = 0,015$); tačiau šie skirtumai neišliko pritaikius Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0071$).

Analizuojant *CTCI* rs3027234 (CC, CT ir TT) taip pat nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių: dažniai ilgas telomeras turinčiųjų grupėje buvo 57,1 proc., 34,2 proc. ir 8,7 proc., palyginti su 67,9 proc., 29,9 proc. ir 2,1 proc. trumpos telomeras turinčiųjų grupėje ($p = 0,006$). T alelis buvo dažnesnis ilgas telomeras turinčiųjų grupėje, palyginti su trumpos telomeras turinčiųjų grupe (25,8 proc. ir 17,1 proc., $p = 0,003$), išliko pritaikius Bonferroni korekciją (3.2.11 lentelė).

3.2.11 lentelė. *TERF1 rs1545827 ir CTC1 rs3027234 genotipų ir alelių pasiskirstymo dažniai tarp tiriamųjų, turinčių ilgą arba trumpą telomerą (SLTI mediana = 0,619)*

Genas, VNV	Genotipas, alelis	Ilgos telomeros	Trumpos telomeros	p
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	108 (46,8)	69 (36,9)	0,043
	CT	104 (45,0)	91 (48,7)	
	TT	19 (8,2)	27 (14,4)	
	Iš viso	231 (100)	187 (100)	
	C	320 (69,3)	229 (61,2)	0,015
T	142 (30,1)	145 (38,8)		
<i>CTC1</i> rs3027234	CC	132 (57,1)	127 (67,9)	0,006
	CT	79 (34,2)	56 (29,9)	
	TT	20 (8,7)	4 (2,1)	
	Iš viso	231 (100)	187 (100)	
	C	343 (74,2)	310 (82,9)	0,003
T	119 (25,8)	64 (17,1)		

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta siekiant įvertinti telomerų ilgio sąsajas su pasirinktu VNV. Rezultatai atskleidė šiuos ryšius: *TERF1* rs1545827 T alelis, taikant patikimiausią adityvinį genetinį modelį, yra susijęs su 1,4 karto mažesne trumpų telomerų pasireiškimo galimybe (GS = 0,690; 95 proc. PI: 0,513–0,927; p = 0,014). *CTC1* rs3027234 TT genotipas, palyginti su CC, taikant patikimiausią recesyvinį genetinį modelį, yra susijęs su 4,8 karto didesne ilgų telomerų pasireiškimo galimybe (GS = 4,336; 95 proc. PI: 1,456–12,919; p = 0,008); po Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko ($\alpha^* = 0,0071$) (3.2.12 lentelė).

Tačiau analizuojant telomerų ilgio sąsajas su *TNKS2* rs10509639, rs10509637, *TERF2* rs251796 ir *ZNF676* rs412658, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatėme.

3.2.12 lentelė. *TERF1 rs1545827 ir CTC1 rs3027234 dvinarės logistinės regresijos analizė, vertinant telomerų ilgio sąsajas*

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>TERF1</i> rs1545827				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,730 (0,483–1,103)	0,135	572,5
	TT vs. CC	0,450 (0,232–0,870)	0,018	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,666 (0,449–0,987)	0,043	572,7
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	0,531 (0,285–0,989)	0,046	572,8
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,864 (0,587–1,272)	0,458	576,3
Adityvinis	T	0,690 (0,513–0,927)	0,014	570,7

3.2.12 lentelė. TERF1 rs1545827 ir CTC1 rs3027234 dvinarės logistinės regresijos analizė, vertinant telomerų ilgio sąsajas

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>CTC1 rs3027234</i>				
Kodominantinis	CT vs. CC	1,357 (0,892–2,066)	0,154	565,8
	TT vs. CC	4,811 (1,600–14,464)	0,005	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	1,587 (1,061–2,375)	0,024	571,7
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	4,336 (1,456–12,919)	0,008	567,8
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,216 (0,803–1,840)	0,355	576,0
Adityvinis	T	1,644 (1,174–2,302)	0,004	568,1

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo $\alpha^* = 0,0071$.

3.3. Trečiasis tyrimas

STAT4 vieno nukleotido variantų ir STAT4 baltymo bei haplotipų sąsajos su HA bei su HA aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu

Tyrime dalyvavo 496 tiriamieji, suskirstyti į referentinę grupę ($n = 357$) ir pacientų, sergančių HA, grupę ($n = 139$). Nors bendrą šio darbo imtį sudarė 507 tiriamieji, atskiruose tyrimuose analizuotų tiriamųjų skaičius skyrėsi. Į šią analizę buvo įtraukti tik tie mėginiai, kuriuose buvo prieinami genetinių variantų, STAT4 baltymo koncentracijos ir haplotipų analizės duomenys, todėl dalis mėginių nebuvo įtraukti dėl nepilnų duomenų ar techninių analizės apribojimų.

Referentinė grupė buvo pakoreguota pagal lytį ir amžių atsižvelgiant į HA grupę (atitinkamai $p = 0,550$ ir $p = 0,763$). Išsami visų tiriamųjų demografinė charakteristika pateikta 3.3.1 lentelėje.

3.3.1 lentelė. Demografinės trečiojo tyrimo charakteristikos

Charakteristikos		Grupė		p
		HA	Referentinė	
Lytis	Vyrai, n (proc.)	57 (41,0)	136 (38,1)	0,550*
	Moterys, n (proc.)	82 (59,0)	221 (61,9)	
Amžiaus vidurkis (SN)		54,4 (20,5)	53,9 (14,0)	0,763**

*Buvo naudojamas Pearsono chi kvadrato testas; **Buvo naudojamas Stjudento T testas; HA – hipofizės adenoma; SN – standartinis nuokrypis; p – reikšmingumo lygmuo ($\alpha = 0,05$).

Siekiant pakoreguoti daugybinių palyginimų poveikį, buvo pritaikyta Bonferroni korekcija ($\alpha^* = 0,05 / 4 = 0,0125$). Toliau aprašomi tik tie tyrimo rezultatai, kurie, pritaikius šią korekciją, išliko statistiškai reikšmingi.

Tiriamųjų grupėse buvo analizuojami šie VNV: *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266 genotipų ir alelių dažniai. Nustatyta, kad rs7574865 GG genotipas HA grupėje buvo statistiškai reikšmingai retesnis nei referentinėje grupėje (46,0 proc. vs. 58,5 proc., $p = 0,012$). Pritaikius Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,05/4 = 0,0125$) siekiant pakoreguoti daugybišnius palyginimus, statistiškai reikšmingų skirtumai analizuojant *STAT4* rs10181656, rs7601754 ir rs10168266 genotipų bei alelių pasiskirstymą neišliko (3.2.2 lentelė).

3.3.2 lentelė. Vieno nukleotido variantų (*STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266) genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupėse

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>STAT4</i> rs10181656	CC	65 (46,8)	208 (58,3)	0,067
	CG	62 (44,6)	123 (34,5)	
	GG	12 (8,6)	26 (7,3)	
	Iš viso	139 (100)	357 (100)	
	C	192 (69,1)	539 (75,5)	0,039
G	86 (30,9)	175 (25,5)		
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	64 (46,0) ¹	209 (58,5) ¹	0,042
	GT	62 (35,0)	121 (33,9)	
	TT	13 (2,5)	27 (7,6)	
	Iš viso	139 (100)	357 (100)	
	G	190 (68,3)	539 (75,5)	0,022
T	88 (31,7)	175 (25,5)		
<i>STAT4</i> rs7601754	AA	117 (84,2)	270 (75,6)	0,118
	AG	20 (14,4)	80 (22,4)	
	GG	2 (1,4)	7 (2,0)	
	Iš viso	139 (100)	357 (100)	
	A	254 (91,4)	620 (86,8)	0,048
G	24 (8,6)	94 (13,2)		
<i>STAT4</i> rs10168266	CC	81 (58,3)	238 (66,7)	0,182
	CT	50 (36,0)	106 (29,7)	
	TT	8 (5,8)	13 (3,6)	
	Iš viso	139 (100)	357 (100)	
	C	212 (76,3)	582 (81,5)	0,063
T	66 (23,7)	132 (18,5)		

¹ $p = 0,012$ (GG vs. GT+TT); p reikšmė – reikšmingumo lygmuo. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Dvinarės logistinės regresijos analizė parodė, kad *STAT4* rs7574865 GT+GG genotipai, palyginti su TT, yra susijęs su maždaug 1,7 karto didesne HA pasireiškimo galimybe pagal dominantinį genetinį modelį (GS = 1,655; PI: 1,115–2,455; p = 0,012) (3.3.3 lentelė).

3.3.3 lentelė. *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 dvinarės logistinės regresijos analizė pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>STAT4</i> rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG	1,613 (1,613–2,438)	0,023	587,053
	CC vs. GG	1,477 (0,706–3,091)	0,301	
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,589 (1,072–2,357)	0,021	585,106
Recesyvinis	CC vs. GG+CG	1,203 (0,589–2,456)	0,612	560,184
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,532 (1,027–2,284)	0,036	586,085
Adityvinis	G	1,365 (1,009–1,846)	0,044	586,409
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT	1,673 (1,105–2,534)	0,015	586,111
	GG vs. TT	1,572 (0,767–3,225)	0,217	
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,655 (1,115–2,455)	0,012	584,139
Recesyvinis	GG vs. TT+GT	1,261 (0,631–2,521)	0,512	590,016
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,570 (1,053–2,342)	0,027	585,575
Adityvinis	T	1,403 (1,040–1,892)	0,026	585,560
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,577 (0,338–0,986)	0,044	587,939
	AA vs. GG	0,659 (0,135–3,222)	0,607	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,584 (0,348–0,977)	0,041	585,964
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,730 (0,150–3,557)	0,697	590,276
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,582 (0,341–0,994)	0,047	586,223
Adityvinis	G	0,632 (0,396–1,008)	0,054	586,423
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT	1,386 (0,910–2,110)	0,128	587,104
	CC vs. TT	1,808 (0,723–4,520)	0,205	
Dominantinis	CT+CC vs. TT	1,432 (0,957–2,142)	0,080	587,405
Recesyvinis	CC vs. TT+AT	1,616 (0,655–3,988)	0,298	589,396
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,863 (0,559–1,333)	0,177	588,632
Adityvinis	T	1,367 (0,979–1,909)	0,066	587,115

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Tiriamųjų grupės buvo suskirstytos pagal lytį, ir kiekvienoje grupėje analizuoti pasirinktų VNV genotipų bei alelių dažniai. Moterų grupėje statistškai reikšmingų skirtumų nenustatyta (3.3.4 lentelė), o vyrų grupėje *STAT4* rs10168266 CC genotipas ir C alelis HA grupėje nustatytas rečiau nei referentinėje grupėje (atitinkamai 50,9 proc. ir 72,1 proc., $p = 0,005$; 71,9 proc. ir 84,6 proc., $p = 0,004$) (3.3.6 lentelė).

3.3.4 lentelė. *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754, ir rs10168266 genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupės moterims

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupės moterys, n (proc.)	Referentinės grupės moterys, n (proc.)	p
<i>STAT4</i> rs10181656	CC	38 (46,3)	125 (56,6)	0,254
	CG	38 (46,3)	80 (36,2)	
	GG	6 (7,3)	16 (7,2)	
	Iš viso	82 (100)	221 (100)	
	C	114 (69,5)	330 (74,7)	0,203
	G	50 (30,5)	112 (25,3)	
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	38 (46,3)	124 (56,1)	0,265
	GT	38 (46,3)	80 (36,2)	
	TT	6 (7,3)	17 (7,7)	
	Iš viso	82 (100)	221 (100)	
	G	114 (69,5)	328 (74,2)	0,248
	T	50 (30,5)	114 (25,8)	
<i>STAT4</i> rs7601754	AA	69 (84,1)	165 (74,7)	0,163
	AG	13 (15,9)	53 (24,0)	
	GG	0 (0,0)	3 (1,4)	
	Iš viso	82 (100)	221 (100)	
	A	151 (92,1)	383 (86,7)	0,067
	G	13 (7,9)	59 (13,3)	
<i>STAT4</i> rs10168266	CC	52 (63,4)	140 (63,3)	0,949
	CT	26 (31,7)	72 (32,6)	
	TT	4 (4,9)	9 (4,1)	
	Iš viso	82 (100)	221 (100)	
	C	130 (79,3)	352 (79,6)	0,920
	T	34 (20,7)	90 (20,4)	

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta pacientams, sergantiems HA, ir referentinei grupei, siekiant iširti pasirinktų VNV sąsajas su HA pasireiškimu pagal lytį. Analizė neparodė jokių statistškai reikšmingų rezultatų analizuojant moterų grupę (3.3.5 lentelė), o vyrų grupėje gauti šie statistškai reikšmingi rezultatai: *STAT4* rs10168266 CC + CT genotipai, palyginti su TT genotipu, buvo susiję su 2,5 karto didesne HA pasireiškimu galimybe pagal

dominantinį genetinį modelį (GS = 2,490; PI: 1,313–4,724; p = 0,005) (3.3.7 lentelė).

3.3.5 lentelė. *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 dvinarės logistinės regresijos analizė HA ir referentinės grupės moterims

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>STAT4</i> rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG	1,562 (0,920–2,655)	0,099	355,110
	CC vs. GG	1,234 (0,451–3,374)	0,683	
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,508 (0,906–2,508)	0,114	353,324
Recesyvinis	CC vs. GG+CG	1,012 (0,382–2,680)	0,982	355,832
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,522 (0,911–2,544)	0,109	353,273
Adityvinis	G	1,291 (0,869–1,919)	0,206	354,248
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT	1,550 (0,912–2,634)	0,105	355,198
	GG vs. TT	1,152 (0,424–3,128)	0,782	
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,480 (0,890–2,562)	0,131	353,543
Recesyvinis	GG vs. TT+GT	0,947 (0,360–2,492)	0,913	355,820
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,522 (0,911–2,544)	0,109	353,273
Adityvinis	T	1,259 (0,849–1,865)	0,252	354,533
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,587 (0,301–1,145)	0,118	353,316
	AA vs. GG	–	–	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,555 (0,285–1,080)	0,083	352,600
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,597 (0,306–1,165)	0,131	353,397
Adityvinis	G	0,546 (0,287–1,037)	0,065	352,071
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT	0,972 (0,561–1,685)	0,920	357,730
	CC vs. TT	1,197 (0,353–4,053)	0,773	
Dominantinis	CT+CC vs. TT	0,997 (0,589–1,688)	0,992	355,832
Recesyvinis	CC vs. TT+AT	1,208 (0,362–4,035)	0,759	355,740
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,961 (0,558–1,655)	0,885	355,811
Adityvinis	T	1,023 (0,658–1,590)	0,920	355,822

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

3.3.6 lentelė. STAT4 rs10181656, rs7574865, rs7601754, ir rs10168266 genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupės vyrams

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupės vyrai, n (proc.)	Referentinės grupės vyrai, n (proc.)	p
STAT4 rs10181656	CC	27 (47,4)	83 (61,0)	0,215
	CG	24 (42,1)	43 (31,6)	
	GG	6 (10,5)	10 (7,4)	
	Iš viso	57 (100)	136 (100)	
	C	78 (68,4)	209 (76,8)	0,084
G	36 (31,6)	63 (23,2)		
STAT4 rs7574865	GG	26 (45,6)	85 (62,5)	0,091
	GT	24 (42,1)	41 (30,1)	
	TT	7 (12,3)	10 (7,4)	
	Iš viso	57 (100)	136 (100)	
	G	76 (66,7)	211 (77,6)	0,033
T	38 (33,3)	61 (22,4)		
STAT4 rs7601754	AA	48 (84,2)	105 (77,2)	0,450
	AG	7 (12,3)	27 (19,9)	
	GG	2 (3,5)	4 (2,9)	
	Iš viso	57 (100)	136 (100)	
	A	103 (90,4)	237 (87,1)	0,373
G	11 (9,6)	35 (12,9)		
STAT4 rs10168266	CC	29 (50,9) ¹	98 (72,1) ¹	0,016
	CT	24 (42,1)	34 (25,0)	
	TT	4 (7,0)	4 (2,9)	
	Iš viso	57 (100)	136 (100)	
	C	82 (71,9)	230 (84,6)	0,004
T	32 (28,1)	42 (15,4)		

¹p = 0,005 (CC vs. CT+TT). Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

3.3.7 lentelė. STAT4 rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 dvinarės logistinės regresijos analizė HA ir referentinės grupės vyrams

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
STAT4 rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG	1,716 (0,885–3,326)	0,110	235,192
	CC vs. GG	1,844 (0,613–5,548)	0,276	
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,740 (0,933–3,247)	0,082	233,208
Recesyvinius	CC vs. GG+CG	1,482 (0,512–4,292)	0,468	235,738
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,573 (0,831–2,977)	0,164	234,329
Adityvinis	G	1,481 (0,927–2,366)	0,100	233,573

3.3.7 lentelės tęsinys

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT	1,914 (0,981–3,734)	0,057	231,490
	GG vs. TT	2,288 (0,792–6,612)	0,126	
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,987 (1,062–3,717)	0,032	231,593
Recesyvinis	GG vs. TT+GT	1,764 (0,636–4,892)	0,275	235,100
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,685 (0,888–3,198)	0,110	233,724
Adityvinis	T	1,639 (1,032–2,603)	0,036	231,886
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,567 (0,231–1,393)	0,216	236,560
	AA vs. GG	1,094 (0,194–6,178)	0,919	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,635 (0,281–1,438)	0,276	235,000
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	1,200 (0,214–6,744)	0,836	236,206
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,565 (0,231–1,385)	0,212	234,570
Adityvinis	G	0,755 (0,386–1,476)	0,411	235,537
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT	2,385 (1,224–4,647)	0,011	230,229
	CC vs. TT	3,379 (0,795–14,356)	0,099	
Dominantinis	CT+CC vs. TT	2,490 (1,313–4,724)	0,005	228,441
Recesyvinis	CC vs. TT+AT	2,491 (0,601–10,325)	0,209	234,711
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	2,182 (1,135–4,194)	0,019	230,833
Adityvinis	T	2,122 (1,244–3,620)	0,006	228,556

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Siekiant įvertinti *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 ryšį su HA dydžiu, atlikta genotipų ir alelių analizė. Analizuojant *STAT4* rs7574865 nustatyta, kad GG genotipas statistiškai reikšmingai retesnis makro HA grupėje, palyginti su referentine grupe (43,8 proc. vs. 58,5 proc., $p = 0,012$) (3.3.8 lentelė).

3.3.8 lentelė. *STAT4 rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 variantų genotipų ir alelių pasiskirstymas mikro arba makro HA ir referentinėje grupėse*

Genas, VNV	Genotipas, alelis	Mikro HA grupė, n (proc.)	Makro HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>STAT4</i> rs10181656	CC	26 (52,0)	39 (43,8)	208 (58,3)	0,575* 0,049**
	CG	21 (42,0)	41 (46,1)	123 (34,5)	
	GG	3 (6,0)	9 (10,1)	26 (7,3)	
	Iš viso	50 (100)	89 (100)	357 (100)	
	C	73 (73,0)	119 (66,9)	539 (75,5)	0,589*
	G	27 (37,0)	59 (33,1)	175 (25,5)	0,019**
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	25 (50,0)	39 (43,8) ¹	209 (58,5) ¹	0,372* 0,042**
	GT	22 (44,0)	40 (44,9)	121 (33,9)	
	TT	3 (6,0)	10 (11,2)	27 (7,6)	
	Iš viso	50 (100)	89 (100)	357 (100)	
	G	72 (72,0)	118 (66,3)	539 (75,5)	0,450*
	T	28 (28,0)	60 (33,7)	175 (25,5)	0,013**
<i>STAT4</i> rs7601754	AA	40 (80,0)	77 (86,5)	270 (75,6)	0,413* 0,061**
	AG	8 (16,0)	12 (13,5)	80 (22,4)	
	GG	2 (4,0)	0 (0,0)	7 (2,0)	
	Iš viso	50 (100)	89 (100)	357 (100)	
	A	88 (88,0)	166 (93,3)	620 (86,8)	0,745*
	G	12 (12,0)	12 (6,7)	94 (13,2)	0,018**
<i>STAT4</i> rs10168266	CC	27 (54,0)	54 (60,7)	238 (66,7)	0,199* 0,334**
	CT	21 (42,0)	29 (32,6)	106 (29,7)	
	TT	2 (4,0)	6 (6,7)	13 (3,6)	
	Iš viso	50 (100)	89 (100)	357 (100)	
	C	75 (75,0)	137 (77,0)	582 (81,5)	0,122*
	T	25 (25,0)	41 (23,0)	132 (18,5)	0,170**

¹p (GG vs. GT+TT) = 0,012; *mikro HA vs. Referentinė grupė; **makro HA vs. Referentinė grupė. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Dvinarės logistinės regresijos analizės rezultatai, pritaikius Bonferroni korekciją, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatėme analizuojant mikro ar makro HA ir referentinę grupes (3.3.9 lentelė).

3.3.9 lentelē. STAT4 rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 dvinārēs logistiskās regresijas analizē mikro arba makro HA ir referentīnās grupēs tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
Mikro HA				
<i>STAT4</i> rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG	1,366 (0,737–2,531)	0,322	306,183
	CC vs. GG	0,923 (0,261–3,263)	0,901	
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,289 (0,712–2,332)	0,402	304,570
Recesyvinis	CC vs. GG+CG	0,813 (0,237–2,790)	0,742	305,154
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,378 (0,754–2,517)	0,297	304,199
Adityvinis	G	1,132 (0,714–1,795)	0,599	304,996
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT	1,520 (0,822–2,812)	0,182	305,342
	GG vs. TT	0,929 (0,263–3,284)	0,909	
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,412 (0,780–2,555)	0,254	303,971
Recesyvinis	GG vs. TT+GT	0,780 (0,228–2,673)	0,693	305,103
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,532 (0,841–2,792)	0,163	303,355
Adityvinis	T	1,185 (0,752–1,867)	0,464	304,743
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,675 (0,304–1,501)	0,335	305,567
	AA vs. GG	1,929 (0,387–9,611)	0,423	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,776 (0,372–1,616)	0,498	304,791
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	2,083 (0,421–10,320)	0,369	304,562
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,660 (0,298–1,462)	0,305	304,138
Adityvinis	G	0,903 (0,482–1,692)	0,751	305,166
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT	1,746 (0,945–3,228)	0,075	304,165
	CC vs. TT	1,356 (0,290–6,332)	0,698	
Dominantinis	CT+CC vs. TT	1,704 (0,937–3,098)	0,081	302,272
Recesyvinis	CC vs. TT+AT	1,103 (0,241–5,036)	0,900	305,253
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,715 (0,936–3,142)	0,081	302,306
Adityvinis	T	1,473 (0,899–2,413)	0,124	303,003
Makro HA				
<i>STAT4</i> rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG	1,778 (1,087–2,907)	0,022	443,813
	CC vs. GG	1,846 (0,804–4,241)	0,148	
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,790 (1,120–2,859)	0,015	441,821
Recesyvinis	CC vs. GG+CG	1,432 (0,646–3,176)	0,377	447,060
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,625 (1,015–2,601)	0,043	443,756
Adityvinis	G	1,499 (1,057–2,126)	0,023	442,756

3.3.9 lentelės tęsinys

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT	1,772 (1,080–2,905)	0,023	443,509
	GG vs. TT	1,985 (0,890–4,426)	0,094	
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,810 (1,133–2,893)	0,013	441,584
Recesyvinis	GG vs. TT+GT	1,547 (0,719–3,328)	0,264	446,626
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,592 (0,993–2,552)	0,053	444,112
Adityvinis	T	1,523 (1,078–2,150)	0,017	442,212
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,526 (0,273–1,015)	0,055	442,585
	AA vs. GG	–	–	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,484 (0,251–0,931)	0,030	442,465
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,540 (0,280–1,041)	0,066	444,058
Adityvinis	G	0,479 (0,256–0,896)	0,021	441,557
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT	1,206 (0,727–2,000)	0,468	447,784
	CC vs. TT	2,034 (0,740–5,593)	0,169	
Dominantinis	CT+CC vs. TT	1,296 (0,803–2,093)	0,288	446,689
Recesyvinis	CC vs. TT+AT	1,913 (0,706–5,182)	0,202	446,303
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,144 (0,696–1,883)	0,595	447,524
Adityvinis	T	1,309 (0,885–1,935)	0,178	446,037

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Pasirinktų VNV genotipų ir alelių dažniai buvo analizuojami HA grupėse su atkryčiu/be jo bei referentinėje grupėje. Nustatyta, kad *STAT4* rs7574865 G alelis buvo statistiškai reikšmingai retesnis HA grupėje be atkryčio nei referentinėje grupėje (66,8 proc. ir 75,5 proc., $p = 0,012$) (3.3.10 lentelė).

3.3.10 lentelė. *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 variantų genotipų ir alelių pasiskirstymas HA grupėje su atkryčiu arba be jo ir referentinėje grupėje

Genas, VNV	Genotipas, alelis	Referentinė grupė, n (proc.)	HA be atkryčio grupė, n (proc.)	HA su atkryčiu grupė, n (proc.)	p
<i>STAT4</i> rs10181656	CC	208 (58,3)	48 (44,9)	17 (53,8)	0,050* 0,780**
	CG	123 (34,5)	49 (45,8)	13 (40,6)	
	GG	26 (7,3)	10 (9,3)	2 (6,3)	
	Iš viso	357 (100)	107 (100)	32 (100)	
	C	539 (75,5)	145 (67,8)	47 (73,4)	0,024*
G	175 (25,5)	69 (32,2)	17 (26,6)	0,715**	
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	209 (58,5)	47 (43,9)	17 (53,8)	0,029* 0,740**
	GT	121 (33,9)	49 (45,8)	13 (40,6)	
	TT	27 (7,6)	11 (10,3)	2 (6,3)	
	Iš viso	357 (100)	107 (100)	32 (100)	
	G	539 (75,5)	143 (66,8)	47 (73,4)	0,012*
T	175 (25,5)	71 (33,2)	17 (26,6)	0,715**	
<i>STAT4</i> rs7601754	AA	270 (75,6)	89 (83,2)	28 (87,5)	0,244* 0,286**
	AG	80 (22,4)	16 (15,0)	4 (12,5)	
	GG	7 (2,0)	2 (1,9)	0 (0,0)	
	Iš viso	357 (100)	107 (100)	32 (100)	
	A	620 (86,8)	194 (90,7)	60 (93,8)	0,135*
G	94 (13,2)	20 (9,3)	4 (6,2)	0,110**	
<i>STAT4</i> rs10168266	CC	238 (66,7)	61 (57,0)	20 (62,5)	0,135* 0,855**
	CT	106 (29,7)	39 (36,4)	11 (34,4)	
	TT	13 (3,6)	7 (6,5)	1 (3,1)	
	Iš viso	357 (100)	107 (100)	32 (100)	
	C	582 (81,5)	161 (75,2)	51 (79,7)	0,044*
T	132 (18,5)	53 (24,8)	13 (20,3)	0,719**	

* HA be atkryčio vs. Referentinė grupė; **HA su atkryčiu vs. Referentinė grupė. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Dvinarės logistinės regresijos analizės rezultatai parodė, kad *STAT4* rs7574865 GT+GG genotipai, palyginti su TT, yra susiję su 1,8 karto didesne HA be atkryčio pasireiškimo galimybe pagal dominantinį genetinį modelį (GS = 1,803; PI: 1,166–2,788; p = 0,008) (3.3.11 lentelė).

3.3.11 lentelė. STAT4 rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 dvinarės logistinės regresijos analizė HA be atkryčio arba su atkryčiu ir referentinės grupės tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
HA su atkryčiu				
<i>STAT4</i> rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG CC vs. GG	1,293(0,607–2,753) 0,941 (0,206–4,307)	0,505 0,938	224,666
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,232 (0,596–2,544)	0,573	222,839
Recesyvinis	CC vs. GG+CG	0,849 (0,192–3,751)	0,829	223,106
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,302 (0,622–2,724)	0,484	222,672
Adityvinis	G	1,107 (0,630–1,945)	0,723	223,031
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT GG vs. TT	1,321 (0,620–2,813) 0,911 (0,199–4,160)	0,471 0,904	224,563
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,246 (0,603–2,574)	0,552	222,803
Recesyvinis	GG vs. TT+GT	0,815 (0,185–3,594)	0,787	223,077
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,334 (0,638–2793)	0,444	222,578
Adityvinis	T	1,106 (0,632–1,935)	0,725	223,032
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG AA vs. GG	0,482 (0,164–1,415) –	0,184 –	221,879
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,443 (0,151–1,299)	0,138	220,534
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	–	–	–
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,495 (0,169–1,452)	0,200	221,244
Adityvinis	G	0,444 (0,158–1,247)	0,123	220,187
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT CC vs. TT	1,235 (0,571–2,668) 0,915 (0,114–7,360)	0,591 0,934	224,848
Dominantinis	CT+CC vs. TT	1,200 (0,568–2,537)	0,633	222,930
Recesyvinis	CC vs. TT+AT	0,854 (0,108–6,744)	0,881	223,131
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,240 (0,578–2,663)	0,581	222,855
Adityvinis	T	1,123 (0,595–2,119)	0,721	223,029
HA be atkryčio				
<i>STAT4</i> rs10181656				
Kodominantinis	CG vs. GG CC vs. GG	1,726 (1,094–2,724) 1,667 (0,753–3,687)	0,019 0,207	499,163
Dominantinis	CG+CC vs. GG	1,716 (1,110–2,651)	0,015	497,170
Recesyvinis	CC vs. GG+CG	1,312 (0,612–2,817)	0,485	502,654
Viršdominantinis	CG vs. CC+GG	1,607 (1,037–2,492)	0,034	498,665
Adityvinis	G	1,444 (1,040–2,006)	0,028	498,392

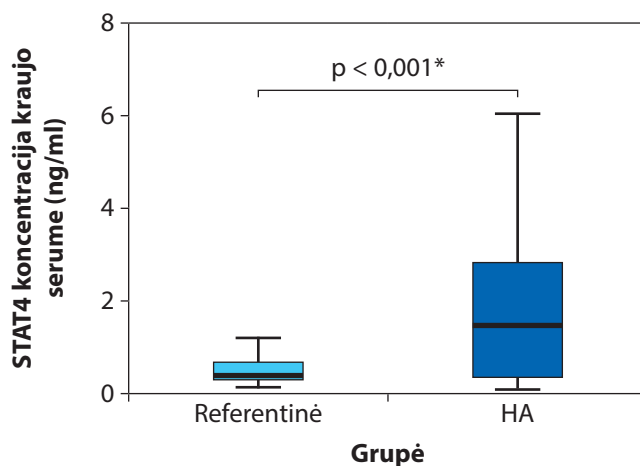
3.3.11 lentelės tęsinys

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>STAT4</i> rs7574865				
Kodominantinis	GT vs. TT	1,801 (1,138–2,848)	0,012	498,041
	GG vs. TT	1,812 (0,840–3,909)	0,130	
Dominantinis	GT+GG vs. TT	1,803 (1,166–2,788)	0,008	496,041
Recesyvinius	GG vs. TT+GT	1,400 (0,670–2,926)	0,370	502,354
Viršdominantinis	GT vs. GG+TT	1,648 (1,062–2,556)	0,026	498,197
Adityvinis	T	1,495 (1,081–2,069)	0,015	497,314
<i>STAT4</i> rs7601754				
Kodominantinis	AG vs. GG	0,607 (0,337–1,092)	0,096	502,143
	AA vs. GG	0,860 (0,177–4,249)	0,860	
Dominantinis	AG+AA vs. GG	0,628 (0,358–1,100)	0,104	500,311
Recesyvinius	AA vs. GG+AG	0,952 (0,195–4,654)	0,952	503,120
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	0,609 (0,339–1,095)	0,097	500,175
Adityvinis	G	0,689 (0,417–1,138)	0,146	500,854
<i>STAT4</i> rs10168266				
Kodominantinis	CT vs. TT	1,436 (0,904–2,280)	0,125	501,282
	CC vs. TT	2,101 (0,804–5,492)	0,130	
Dominantinis	CT+CC vs. TT	1,508 (0,970–2,345)	0,068	499,833
Recesyvinius	CC vs. TT+AT	1,852 (0,720–4,768)	0,201	501,595
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,358 (0,862–2,139)	0,187	501,407
Adityvinis	T	1,442 (1,004–2,071)	0,047	499,283

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Analizuojant HA aktyvumo ir invazyvumo sąsajas su *STAT4* VNV, statistiškai reikšmingų sąsajų nenustatyta.

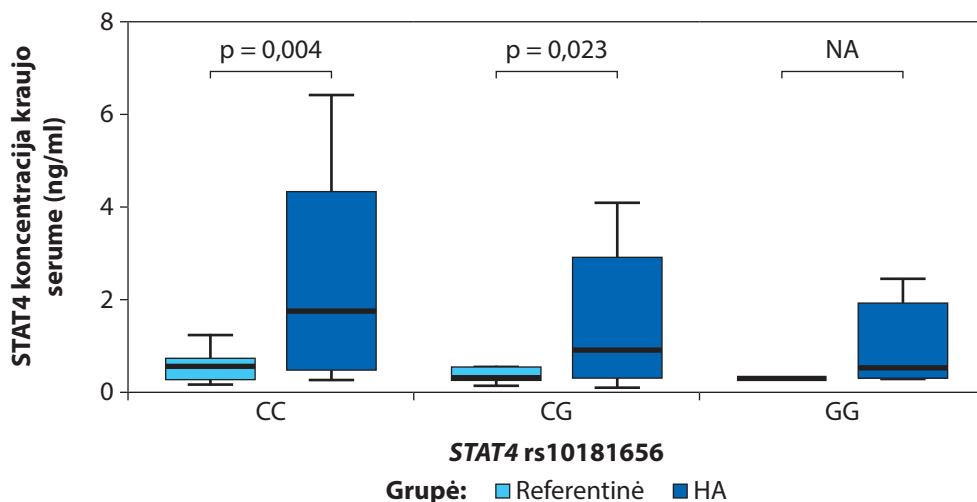
Buvo įvertinta *STAT4* koncentracija kaujo serume HA ir referentinėje grupėse. Analizė parodė, kad *STAT4* serumo lygis HA grupėje buvo padidėjęs, palyginti su referentine grupe (mediana (IQR): 1,434 (2,498) ng/ml, palyginti su 0,352 (0,382) ng/ml, $p < 0,001$) (3.3.1 pav.).



3.3.1 pav. *STAT4 koncentracija (ng/ml) kraujo serume HA ir referentinėje grupėse*

*Buvo naudojamas Manno–Vitnio U testas.

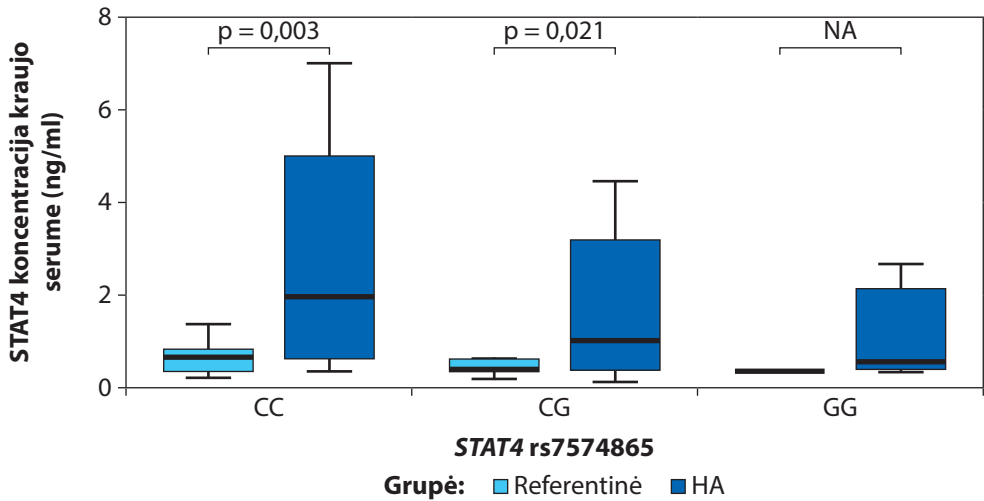
STAT4 koncentracija kraujo serume palyginta tarp genotipų, tiriant *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266. Analizė parodė, kad HA pacientams, turintiems *STAT4* rs10181656 CC genotipą, serumo koncentracija buvo didesnė, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (CC genotipas: mediana (IQR): 1,645 (3,873) ir 0,532 (0,435), $p = 0,004$) (3.3.2 pav.).



3.3.2 pav. *HA ir referentinės grupės STAT4 koncentracija kraujo serume (ng/ml), palyginti tarp STAT4 rs10181656 genotipų*

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

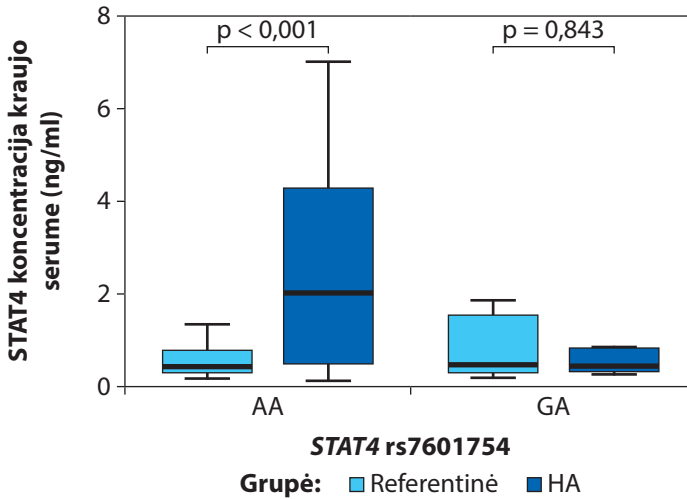
Panašūs rezultatai gauti analizuojant HA pacientų serumo lygius su *STAT4* rs7574865: pacientams, turintiems GG genotipą, nustatyta didesnė koncentracija kraujo serume, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (GG genotipas: mediana (IQR): 1,675 (0,435) ir 0,532 (0,435), $p = 0,003$ (3.3.3 pav.).



3.3.3 pav. HA ir referentinės grupės *STAT4* koncentracija kraujo serume (ng/ml), palyginti tarp *STAT4* rs7574865 genotipų

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

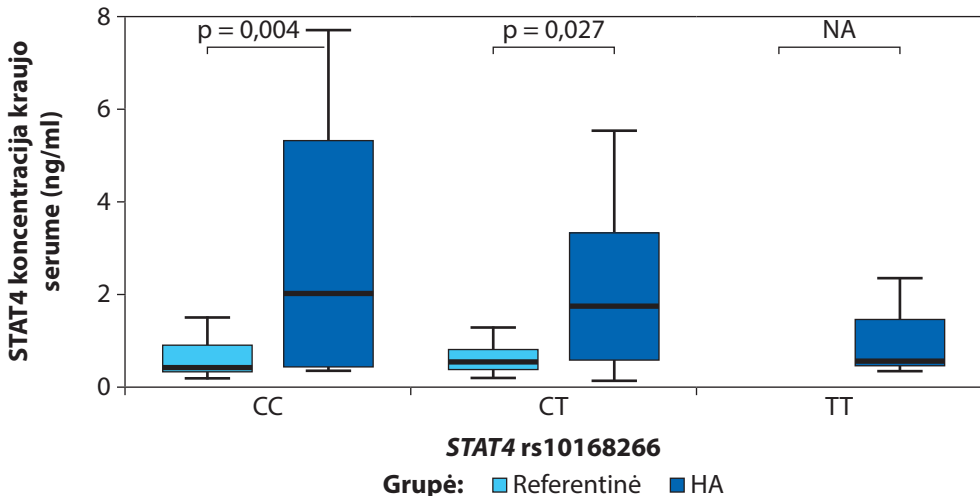
HA pacientams, turintiems *STAT4* rs7601754 AA genotipą, *STAT4* koncentracija kraujo serume buvo didesnė, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (mediana (IQR): 1,702 (3,301) ir 0,352 (0,362), $p < 0,001$) (3.3.4 pav.).



3.3.4 pav. HA ir referentinės grupės STAT4 koncentracija kraujo serume (ng/ml), palyginti tarp STAT4 rs7601754 genotipų

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

HA pacientams, turintiems STAT4 rs10168266 CC genotipą, buvo nustatyta didesnė STAT4 koncentracija kraujo serume, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (CC genotipas: mediana (IQR): 1,573 (3,981) ir 0,326 (0,459), $p = 0,004$ (3.3.5 pav.).



3.3.5 pav. HA ir referentinės grupės STAT4 koncentracija kraujo serume (ng/ml), palyginti tarp STAT4 rs10168266 genotipų

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Atlikome *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 haplotipų asociacijos analizę. Tarp tirtų VNV nustatytas porinės sankibos disbalansas (LD). Apskaičiuotas nuokrypis tarp prognozuojamo haplotipo dažnio ir stebimo dažnio (D') bei įvertintas koreliacijos koeficiento kvadratas (r^2) (3.3.12 lentelė).

3.3.12 lentelė. Sankibos disbalansas tarp *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 variantų pacientams, sergantiems HA

VNV-VNV	D'	r^2	P
rs10181656-rs7574865	0,979	0,949	< 0,001
rs10181656-rs7601754	0,918	0,041	< 0,001
rs10181656-rs10168266	0,796	0,443	< 0,001
rs7574865-rs7601754	0,920	0,041	< 0,001
rs7574865-rs10168266	0,827	0,473	< 0,001
rs7601754-rs10168266	0,863	0,025	< 0,001

VNV – vieno nukleotido variantas; D' – deviacija tarp laukiamo haplotipų dažnio ir stebimo dažnio; r^2 – haplotipų dažnio koreliacijos koeficiento kvadratas. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

Taip pat analizavome haplotipų dažnius, tačiau analizė statistiškai reikšmingų rezultatų neparodė (3.3.13 lentelė).

3.3.13 lentelė. *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 haplotipų ryšys HA

Haplotipas	<i>STAT4</i> rs10181656	<i>STAT4</i> rs7574865	<i>STAT4</i> rs7601754	<i>STAT4</i> rs10168266	Dažnis		GS (95 proc. PI)	P
					HA grupė	Referentinė grupė		
1	C	G	A	C	56,87	59,73	1	–
2	G	T	A	T	19,82	15,92	1,310 (0,900–1,890)	0,160
3	C	G	G	C	8,27	12,91	0,670 (0,410–1,080)	0,100
4	G	T	A	C	10,75	8,17	1,370 (0,850–2,220)	0,200
5	C	G	A	T	2,84	2,31	1,270 (0,500–3,230)	0,610

GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinumo intervalas. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0125$).

3.4. Ketvirasis tyrimas

***SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir *AIP* rs267606574 vieno nukleotido variantų ir baltymų sąsajos su HA pasireiškimu ir naviko proliferaciniu aktyvumu, vertinamu pagal Ki-67 proliferacijos indeksą**

Tyrimė dalyvavo 400 tiriamųjų, suskirstytų į referentinę grupę (n = 272) ir pacientų, sergančių HA, grupę (n = 128). Nors bendrą šio darbo imtį sudarė 507 tiriamieji, atskiruose tyrimuose analizuotų tiriamųjų skaičius skyrėsi. Į šią analizę buvo įtraukti tik tie mėginiai, kuriems buvo prieinami genetiniai duomenys ir patikimai įvertintas Ki-67 proliferacijos indeksas, todėl dalis mėginių nebuvo įtraukti dėl trūkstamų histologinių duomenų ar techninių analizės apribojimų.

Referentinė grupė buvo pakoreguota pagal lytį ir amžių, kad atitiktų HA grupės demografinius rodiklius (p reikšmės atitinkamai 0,077 ir 0,821). Visų tyrimo dalyvių demografinė informacija pateikta 3.4.1 lentelėje, kurioje pateikiama išsami abiejų grupių charakteristikų apžvalga.

3.4.1 lentelė. Demografinės ketvirtojo tyrimo charakteristikos

Charakteristikos		Grupė		p
		HA	Referentinė	
Lytis	Vyrai, n (proc.)	52 (40,6)	86 (31,6)	0,077*
	Moterys, n (proc.)	76 (59,4)	186 (68,4)	
Amžiaus mediana (IQR)		54,4 (20,5)	54,5 (20)	0,821**
Atkrytis: HA su atkryčiu/HA be atkryčio		88/39	–	–
Invazyvumas: Invazyvi HA/Neinvazyvi HA		81/46	–	–
Dydis: Mikro HA/Makro HA		49/78	–	–
Ki-67: < 1 proc. 1 proc. > 1 proc.		61/66	–	–

*Buvo naudojamas Pearsono chi kvadrato testas; **Buvo naudojamas Stjudento T testas; HA – hipofizės adenoma; IQR – interkvartilinis plotis; p – reikšmingumo lygmuo ($\alpha = 0,05$).

Tiriamųjų grupėse buvo analizuojami šių VNV *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir *AIP* rs267606574 genotipų ir alelių dažniai. Tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp pacientų, sergančių HA, ir referentinės grupės genotipų ir alelių pasiskirstymo nenustatyta (3.4.2 lentelė).

3.4.2 lentelė. Vieno nukleotido variantų genotipų ir alelių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupėje

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupė, n (proc.)	Referentinė grupė, n (proc.)	p
<i>SSTR2</i> rs2236750	AA	43 (33,6)	118 (43,4)	0,125
	AG	73 (57,0)	126 (46,3)	
	GG	12 (9,4)	28 (10,3)	
	Iš viso	128 (100)	272 (100)	
	A	159 (62,1)	362 (66,5)	0,220
G	97 (37,9)	182 (33,5)		
<i>SSTR5</i> rs34037914	CC	114 (89,1)	238 (87,5)	0,322
	CT	12 (9,4)	33 (12,1)	
	TT	2 (1,6)	1 (0,4)	
	Iš viso	128 (100)	272 (100)	
	C	240 (93,8)	509 (93,6)	0,921
T	16 (6,2)	35 (6,4)		
<i>AIP</i> rs267606574	TAC	128 (100)	272 (100)	1,000
	Iš viso	128 (100)	272 (100)	
	T	128 (33,3)	272 (33,3)	1,000
	A	128 (33,3)	272 (33,3)	
	C	128 (33,3)	272 (33,3)	

Hardy-Weinbergo pusiausvyros dėsnio (HWE) rezultatai parodė, kad referentinės grupės *SSTR2* rs2236750 ir *SSTR5* rs34037914 genotipų pasiskirstymas nenukrypo nuo HWE ($p > 0,05$). Tačiau nustatėme, kad *AIP* rs267606574 turi tik vieną genotipą bei neatitinka HWE (3.4.3 lentelė). Atsižvelgdami į šiuos rezultatus, šį VNV iš tolesnės analizės pašalinome.

3.4.3 lentelė. Hardy-Weinbergo pusiausvyros analizė referentinėje grupėje

Genas ir VNV	Alelių pasiskirstymas		Genotipų pasiskirstymas	p
<i>SSTR2</i> rs2236750	0,67 A	0,33 G	28/126/118	0,505
<i>SSTR5</i> rs34037914	0,94 C	0,06 T	1/33/238	0,899
<i>AIP</i> rs267606574	–	–	0/0/272	–

VNV – vieno nukleotido variantas; p – reikšmingumo lygmuo ($\alpha = 0,05$).

Dvinarės logistinės regresijos analizė parodė, kad *SSTR2* rs2236750 AG genotipas, palyginti su AA, ir AG, bei AG palyginti su AA+GG, yra susijęs su maždaug 1,6 karto didesne HA pasireiškimo galimybe pagal kodominantų ir overdominantinį genetinius modelius (GS = 1,602; PI: 1,015–2,527; $p = 0,043$; GS = 1,550; PI: 1,013–2,373; $p = 0,044$, atitinkamai); tačiau pritaikius Bonferroni korekciją šios sąsajos neišliko statistiškai reikšmingos ($\alpha^* = 0,05/3 = 0,0167$) (3.4.4 lentelė).

3.4.4 lentelė. *SSTR2 rs2236750 ir SSTR5 rs34037914 dvinarės logistinės regresijos analizė pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės tiriamiesiems*

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>SSTR2 rs2236750</i>				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,602 (1,015–2,527)	0,043	498,138
	GG vs. AA	1,170 (0,543–2,522)	0,688	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,524 (0,980–2,371)	0,062	496,848
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,890 (0,435–1,822)	0,749	500,300
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,550 (1,013–2,373)	0,044	496,298
Adityvinis	G	1,241 (0,892–1,725)	0,200	498,760
<i>SSTR5 rs34037914</i>				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,781 (0,387–1,576)	0,490	500,343
	TT vs. CC	4,348 (0,384–49,187)	0,235	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,887 (0,456–1,725)	0,724	500,277
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	4,447 (0,393–50,299)	0,228	498,834
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,772 (0,383–1,557)	0,470	499,865
Adityvinis	T	0,999 (0,550–1,814)	0,997	500,404

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

Analizuojant tiriamųjų genotipų ir alelių dažnius, atskirai įvertinus moterų ir vyrų grupes, statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta – nei moterų (3.4.5 lentelė), nei vyrų grupėse (3.4.7 lentelė).

3.4.5 lentelė. *SSTR2 rs2236750 ir SSTR5 rs34037914 genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupės moterims*

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupės moterys, n (proc.)	Referentinės grupės moterys, n (proc.)	p
<i>SSTR2 rs2236750</i>	AA	24 (31,6)	82 (44,1)	0,171
	AG	44 (57,9)	87 (46,8)	
	GG	8 (10,5)	17 (9,1)	
	Iš viso	76 (100)	186 (100)	
	A	92 (60,5)	251 (67,5)	0,129
G	60 (39,5)	121 (32,5)		
<i>SSTR5 rs34037914</i>	CC	64 (84,2)	163 (87,6)	0,082
	CT	10 (13,2)	23 (12,4)	
	TT	2 (2,6)	0 (0)	
	Iš viso	76 (100)	186 (100)	
	C	138 (90,8)	349 (93,8)	0,219
T	14 (9,2)	23 (6,2)		

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

Dvinarės logistinės regresijos analizė, atlikta atskirai moterų ir vyrų grupėse, statistiškai reikšmingų ryšių tarp pasirinktų VNV ir HA neatskleidė (3.4.6 ir 3.4.8 lentelės).

3.4.6 lentelė. *SSTR2 rs2236750 ir SSTR5 rs34037914 dvinarės logistinės regresijos analizė pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės moterims*

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>SSTR2 rs2236750</i>				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,722 (0,962–3,083)	0,067	315,898
	GG vs. AA	1,600 (0,615–4,164)	0,335	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,702 (0,968–2,993)	0,065	313,923
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	1,165 (0,480–2,828)	0,735	317,324
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,560 (0,910–2,675)	0,106	314,796
Adityvinis	G	1,402 (0,923–2,131)	0,114	314,927
<i>SSTR5 rs34037914</i>				
Kodominantinis	CT vs. CC	1,117 (0,502–2,486)	0,786	314,452
	TT vs. CC	–	–	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	1,345 (0,630–2,869)	0,444	316,864
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	–	–	–
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	1,088 (0,490–2,420)	0,835	317,394
Adityvinis	T	1,526 (0,771–3,023)	0,225	316,008

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

3.4.7 lentelė. *SSTR2 rs2236750 ir SSTR5 rs34037914 genotipų ir alelių dažnių pasiskirstymas HA ir referentinėje grupės vyrams*

Genas, VNV	Genotipas, alelis	HA grupės vyrai, n (proc.)	Referentinės grupės vyrai, n (proc.)	p
<i>SSTR2 rs2236750</i>	AA	19 (36,5)	36 (41,9)	0,423
	AG	29 (55,8)	39 (45,3)	
	GG	4 (7,7)	11 (12,8)	
	Iš viso	52 (100)	86 (100)	
	A	67 (64,4)	111 (64,5)	0,984
G	37 (35,6)	61 (35,5)		
<i>SSTR5 rs34037914</i>	CC	50 (96,2)	75 (87,2)	0,207
	CT	2 (3,8)	10 (11,6)	
	TT	0 (0)	1 (1,2)	
	Iš viso	52 (100)	86 (100)	
	C	102 (98,1)	160 (93)	0,063
T	2 (1,9)	12 (7)		

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

3.4.8 lentelė. *SSTR2 rs2236750 ir SSTR5 rs34037914 dvinarės logistinės regresijos analizė pacientams, sergantiems HA, ir referentinės grupės vyrams*

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
<i>SSTR2 rs2236750</i>				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,449 (0,690–3,044)	0,327	184,776
	GG vs. AA	0,736 (0,202–2,685)	0,643	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,305 (0,635–2,682)	0,468	183,976
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,591 (0,176–1,990)	0,396	183,743
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,544 (0,770–3,096)	0,221	182,996
Adityvinis	G	1,039 (0,605–1,786)	0,889	184,486
<i>SSTR5 rs34037914</i>				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,295 (0,062–1,408)	0,126	182,751
	TT vs. CC	–	–	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,271 (0,058–1,278)	0,099	181,054
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	–	–	–
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,298 (0,062–1,422)	0,129	181,656
Adityvinis	T	0,279 (0,062–1,267)	0,098	180,844

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

SSTR2 rs2236750 ir SSTR5 rs34037914 vieno nukleotido variantai buvo analizuojami siekiant įvertinti jų ryšį su HA atkryčiu. Analizuojant *SSTR2 rs2236750*, nustatyta, kad AA genotipas statistiškai reikšmingai retesnis HA su atkryčiu grupėje, palyginti su referentine grupe (25,6 proc. vs. 43,3 proc., $p = 0,035$), o AG genotipas statistiškai reikšmingai dažnesnis HA su atkryčiu grupėje, palyginti su referentine grupe (64,1 proc. vs. 46,3 proc., $p = 0,038$); pritaikius Bonferroni korekciją šios sąsajos neišliko statistiškai reikšmingos ($\alpha^* = 0,0167$) (3.4.9 lentelė).

3.4.9 lentelė. *SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914 genotipų ir alelių pasiskirstymas HA grupėje su atkryčiu arba be jo ir referentinėje grupėje*

Genas, VNV	Genotipas, alelis	Referentinė grupė, n (proc.)	HA su atkryčiu grupė, n (proc.)	p	HA be atkryčio grupė, n (proc.)	p
<i>SSTR2</i> rs2236750	AA	118 (43,4) ¹	10 (25,6) ¹	0,089	33 (37,1)	0,459
	AG	126 (46,3) ²	25 (64,1) ²		48 (53,9)	
	GG	28 (10,3)	4 (10,3)		8 (9,0)	
	Iš viso	272 (100)	39 (100)		89 (100)	
<i>SSTR2</i> rs2236750	A	362 (66,5)	45 (57,7)	0,124	114 (64,0)	0,541
	G	182 (33,5)	33 (42,3)		64 (36,0)	
<i>SSTR5</i> rs34037914	CC	238 (87,5)	35 (89,7)	0,876	79 (88,8)	0,179
	CT	33 (12,1)	4 (10,3)		8 (9,0)	
	TT	1 (0,4)	0 (0,0)		2 (2,2)	
	Iš viso	272 (100)	39 (100)		89 (100)	
	C	509 (93,6)	74 (94,9)		0,656	
T	35 (6,4)	4 (5,1)	12 (6,7)			

¹p (AA vs. AG+GG) = 0,035; ²p (AA vs. AG+GG) = 0,038. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo (α^* = 0,0167).

Dvinarės logistinės regresijos analizė atlikta pacientams, sergantiems HA su atkryčiu arba be jo, taip pat referentinei grupei. Rezultatai atskleidė šias sąsajas: *SSTR2* rs2236750 AA+AG genotipai, palyginti su AA, pagal patikimiausią dominantinį genetinį modelį (atrinktą pagal mažiausią AIK vertę), yra susiję su 2,2 karto didesne HA su atkryčio pasireiškimo galimybe (GS = 2,222; 95 proc. PI: 1,042–4,741; p = 0,039); po Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko (α^* = 0,0167). Tačiau analizuojant HA su atkryčiu ir *SSTR5* rs34037914 sąsajas, statistškai reikšmingų rezultatų negauta. Be to, statistškai reikšmingų rezultatų tarp HA be atkryčio ir *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 nenustatyta (3.4.10 lentelė).

3.4.10 lentelė. *SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914 dvinarės logistinės regresijos analizė HA be atkryčio arba su atkryčiu ir referentinės grupės tiriamiesiems*

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
HA su atkryčiu				
<i>SSTR2 rs2236750</i>				
Kodominantinis	AG vs. AA GG vs. AA	2,341 (1,078–5,083) 1,686 (0,492–5,770)	0,031 0,406	233,831
Dominantinis	AG+GG vs. AA	2,222 (1,042–4,741)	0,039	232,174
Recesyvusis	AA vs. GG+AG	0,996 (0,330–3,010)	0,994	236,837
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	2,069 (1,031–4,151)	0,041	232,481
Adityvinis	G	1,508 (0,908–2,505)	0,113	234,339
<i>SSTR5 rs34037914</i>				
Kodominantinis	CT vs. CC TT vs. CC	0,824 (0,275–2,468) –	0,126 –	238,444
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,800 (0,268–2,392)	0,690	236,670
Recesyvusis	TT vs. CC+CT	–	–	236,569
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,828 (0,276–2,478)	0,735	236,718
Adityvinis	T	0,784 (0,269–2,282)	0,655	236,626
HA be atkryčio				
<i>SSTR2 rs2236750</i>				
Kodominantinis	AG vs. AA GG vs. AA	1,362 (0,818–32,267) 1,022 (0,426–2,452)	0,234 0,962	405,679
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,300 (0,795–2,128)	0,296	405,132
Recesyvusis	AA vs. GG+AG	0,861 (0,377–1,964)	0,721	405,106
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,357 (0,839–2,193)	0,213	404,681
Adityvinis	G	1,127 (0,779–1,628)	0,526	404,836
<i>SSTR5 rs34037914</i>				
Kodominantinis	CT vs. CC TT vs. CC	0,730 (0,324–1,647) 6,025 (0,539–67,348)	0,449 0,145	404,262
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,886 (0,419–1,875)	0,752	405,135
Recesyvusis	TT vs. CC+CT	6,230 (0,558–69,542)	0,137	404,864
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,715 (0,317–1,612)	0,419	406,547
Adityvinis	T	1,048 (0,543–2,021)	0,889	405,217

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus; Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

Buvo analizuojami vieno nukleotido variantai *SSTR2 rs2236750* ir *SSTR5 rs34037914*, siekiant įvertinti jų sąsajas su HA aktyvumu. Tačiau statistškai reikšmingų rezultatų tarp aktyvios HA ir referentinės grupės, taip pat tarp neaktyvios HA ir referentinės grupės nenustatyta (3.4.11 lentelė).

3.4.11 lentelė. *SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914 genotipų ir alelių pasiskirstymas aktyvios arba neaktyvios HA grupėje ir referentinėje grupėje*

Genas, VNV	Genotipas, alelis	Referentinė grupė, n (proc.)	Aktyvios HA grupė, n (proc.)	p	Neaktyvios HA grupė, n (proc.)	p
<i>SSTR2</i> rs2236750	AA	118 (43,4)	18 (30,0)	0,133	25 (36,8)	0,490
	AG	126 (46,3)	36 (60,0)		37 (54,4)	
	GG	28 (10,3)	6 (10,0)		6 (8,8)	
	Iš viso	272 (100)	60 (100)		68 (100)	
	A	362 (66,5)	72 (60,0)	0,173	87 (64,0)	0,571
	G	182 (33,5)	48 (40,0)		49 (36,0)	
<i>SSTR5</i> rs34037914	CC	238 (87,5)	52 (86,7)	0,083	62 (91,2)	0,653
	CT	33 (12,1)	6 (10,0)		6 (8,8)	
	TT	1 (0,4)	2 (3,3)		0 (0,0)	
	Iš viso	272 (100)	60 (100)		68 (100)	
	C	509 (93,6)	110 (91,7)	0,454	130 (95,6)	0,376
	T	35 (6,4)	10 (8,3)		6 (4,4)	

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

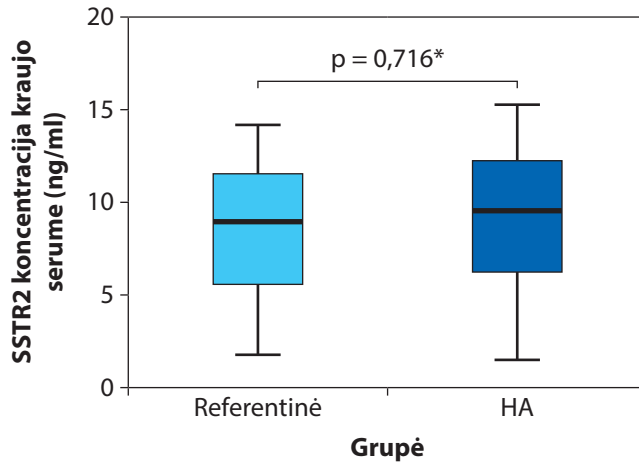
Dvinarės logistinės regresijos analizė buvo atlikta siekiant įvertinti HA aktyvumo sąsajas su pasirinktais VNV. Rezultatai parodė, kad *SSTR2* rs2236750 AG genotipas, palyginti su AA, pagal kodominantinį genetinį modelį buvo susijęs su beveik 1,9 karto didesne aktyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 1,873; 95 proc. PI: 1,009–3,478; p = 0,047); tačiau pritaikius Bonferroni korekciją šis ryšys neišliko statistiškai reikšmingas ($\alpha^* = 0,0167$). Tuo tarpu analizuojant aktyvios HA ir *SSTR5* rs34037914 ryšį, statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatyta. Be to, reikšmingų sąsajų tarp neaktyvios HA ir *SSTR2* rs2236750 ar *SSTR5* rs34037914 taip pat nebuvo gauta (3.4.12 lentelė).

3.4.12 lentelė. SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914 dvinarės logistinės regresijos analizė aktyvios arba neaktyvios HA ir referentinės grupės tiriamiesiems

Modelis	Genotipas / alelis	GS (95 proc. PI)	p	AIK
Aktyvi HA				
<i>SSTR2</i> rs2236750				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,873 (1,009–3,478)	0,047	313,620
	GG vs. AA	1,405 (0,511–3,863)	0,510	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,788 (0,979–3,264)	0,059	311,982
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,968 (0,382–2,453)	0,946	315,727
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,738 (0,984–3,070)	0,057	312,037
Adityvinis	G	1,360 (0,888–2,084)	0,157	313,742
<i>SSTR5</i> rs34037914				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,832 (0,332–2,088)	0,696	314,107
	TT vs. CC	9,154 (0,815–102,854)	0,073	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	1,077 (0,471–2,461)	0,861	315,701
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	9,345 (0,833–104,791)	0,070	312,265
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,805 (0,321–2,016)	0,643	315,508
Adityvinis	T	1,297 (0,640–2,628)	0,470	315,234
Neaktyvi HA				
<i>SSTR2</i> rs2236750				
Kodominantinis	AG vs. AA	1,386 (0,787–2,441)	0,258	342,848
	GG vs. AA	1,011 (0,379–2,699)	0,982	
Dominantinis	AG+GG vs. AA	1,318 (0,762–2,280)	0,324	339,286
Recesyvinis	AA vs. GG+AG	0,843 (0,334–2,126)	0,718	342,139
Viršdominantinis	AG vs. AA+GG	1,383 (0,811–2,358)	0,233	340,848
Adityvinis	G	1,130 (0,752–1,699)	0,557	341,931
<i>SSTR5</i> rs34037914				
Kodominantinis	CT vs. CC	0,698 (0,280–1,740)	0,440	343,191
	TT vs. CC	–	–	
Dominantinis	CT+TT vs. CC	0,677 (0,272–1,686)	0,402	341,521
Recesyvinis	TT vs. CC+CT	–	–	–
Viršdominantinis	CT vs. CC+TT	0,701 (0,281–1,748)	0,446	341,653
Adityvinis	T	0,668 (0,274–1,631)	0,376	341,421

HA – hipofizės adenoma; GS – galimybių santykis; PI – pasikliautinis intervalas; AIK – Akaike informacijos kriterijus. Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

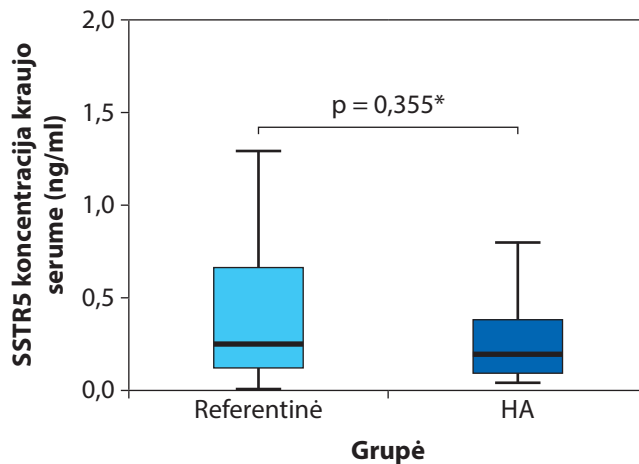
HA pacientų ir referentinės grupės tiriamųjų SSTR2 koncentracija kraujo serume buvo įvertinta, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatyta (vidurkis (standartinis nuokrypis): 9,401 (4,280) ng/ml, palyginti su 9,078 (3,627) pg/ml, $p = 0,716$) (3.4.1 pav.).



3.4.1 pav. SSTR2 koncentracija kraujo serume (pg/ml) HA ir referentinėse grupėse

*Buvo taikytas Stjudento T testas.

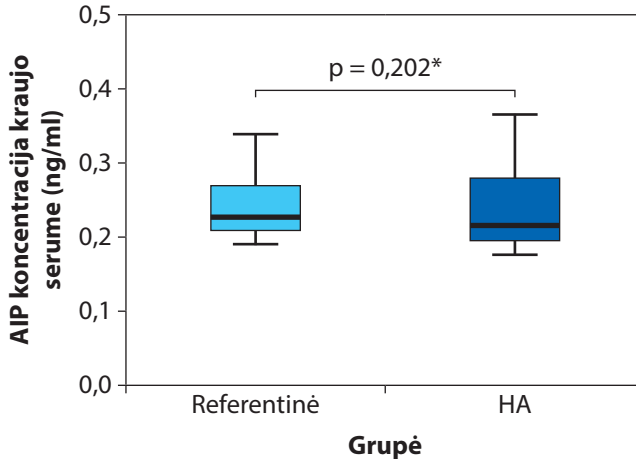
HA pacientų ir referentinės grupės tiriamųjų SSTR5 koncentracija kraujo serume buvo įvertinta, tačiau statistškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatyta (mediana (IQR): 0,194 (0,297) ng/ml vs. 0,251 (0,538) ng/ml; $p = 0,355$) (3.4.2 pav.).



3.4.2 pav. SSTR5 koncentracija kraujo serume (pg/ml) HA ir referentinėse grupėse

*Buvo taikytas Manno–Vitnio U testas.

HA pacientų ir referentinės grupės tiriamųjų AIP koncentracija kraujo serume buvo įvertinta, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatyta (mediana (IQR): 0,232 (0,089) ng/ml vs. 0,241 (0,059) ng/ml; $p = 0,202$) (3.4.3 pav.).



3.4.3 pav. AIP koncentracija kraujo serume (ng/ml) HA ir referentinėse grupėse

*Buvo taikytas Manno–Vitnio U testas.

SSTR2 koncentracija kraujo serume statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp HA ir referentinės grupės moterų (vidurkis (SN): 9159,36 (4819,88) pg/ml vs. 9501,08 (3581,27) pg/ml; $p = 0,778$) bei vyrų (vidurkis (SN): 9643,05 (3797,57) pg/ml vs. 8004,66 (3660,49) pg/ml; $p = 0,122$) (3.4.13 lentelė).

3.4.13 lentelė. SSTR2 koncentracijos kraujo serume palyginimas HA pacientams ir referentinės grupės dalyviams pagal lytį

Lytis	Koncentracija kraujo serume (pg/ml)		p
	HA grupė vidurkis (SN)	Referentinė grupė vidurkis (SN)	
SSTR2			
Vyrai	9643,05 (3797,57)	8004,66 (3660,49)	0,122
Moterys	9159,36 (4819,88)	9501,08 (3581,27)	0,778

SSTR5 koncentracija kraujo serume statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp HA ir referentinės grupės moterų (mediana (IQR): 197,56 (396,82) pg/ml vs. 255,09 (746,07) pg/ml; $p = 0,675$) bei vyrų (mediana (IQR): 190,75 (209,98) pg/ml vs. 247,74 (201,46) pg/ml; $p = 0,490$) (3.4.14 lentelė).

3.4.14 lentelė. *SSTR5 koncentracijos kraujo serume palyginimas HA pacientams ir referentinės grupės dalyviams pagal lytį*

Lytis	Koncentracija kraujo serume (pg/ml)		P
	HA grupė vidurkis (SN)	Referentinė grupė vidurkis (SN)	
SSTR5			
Vyrai	190,75 (209,98)	247,74 (201,46)	0,490
Moterys	197,56 (396,82)	255,09 (746,07)	0,675

AIP koncentracija kraujo serume statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp HA ir referentinės grupės moterų (mediana (IQR): 0,250 (0,121) ng/ml vs. 0,246 (0,056) ng/ml; $p = 0,943$) bei vyrų (vidurkis (SN): 0,242 (0,055) ng/ml vs. 0,303 (0,130) ng/ml; $p = 0,149$) (3.4.15 lentelė).

3.4.15 lentelė. *AIP koncentracijos kraujo serume palyginimas HA pacientams ir referentinės grupės tiriamiesiems pagal lytį*

Lytis	Koncentracija kraujo serume (ng/ml)		P
	HA grupė vidurkis (SN)	Referentinė grupė vidurkis (SN)	
AIP			
Vyrai	0,242 (0,055)	0,303 (0,130)	0,149
Moterys	0,250 (0,121)	0,246 (0,056)	0,943

Buvo ištirti 79 HA audinių mėginiai, iš kurių Ki-67 PI įvertintas 41 moteriai (51,9 proc.) ir 38 vyrams (48,1 proc.). Rezultatai parodė, kad Ki-67 PI reikšmingai nesiskyrė tarp moterų ir vyrų ($p = 0,301$). Imunohistocheminis Ki-67 tyrimas atskleidė, kad Ki-67 PI < 1 proc. nustatytas 67,1 proc. HA pacientų, Ki-67 PI = 1 proc. – 13,9 proc., o Ki-67 PI > 1 proc. – 19,0 proc. pacientų. Tolimesnė analizė parodė, kad statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta atsižvelgiant į naviko invazyvumą ($p = 0,717$) (3.4.16 lentelė), atkrytį ($p = 0,843$) (3.4.17 lentelė), aktyvumą ($p = 0,378$) (3.4.18 lentelė) ar dydį ($p = 0,492$) (3.4.19 lentelė).

Analizuojant Ki-67 PI kartu su pasirinktais VNV (SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914, AIP rs267606574) statistiškai reikšmingų rezultatų nenustatėme (3.4.20 lentelė).

3.4.16 lentelė. *Ki-67 žymėjimo indeksas atsižvelgiant į HA invazyvumą*

Invazyvumas	Ki-67 PI			P
	< 1 proc.	1 proc.	> 1 proc.	
Neinvazyvi HA, n = 22 (27,8 proc.)	16 (72,7 proc.)	2 (9,1 proc.)	4 (18,2 proc.)	0,717
Invazyvi HA, n = 57 (72,2 proc.)	37 (64,9 proc.)	9 (15,8 proc.)	11 (19,3 proc.)	

3.4.17 lentelė. Ki-67 žymėjimo indeksas atsižvelgiant į HA atkryčio pasireiškimą

Atkrytis	Ki-67 PI			p
	< 1 proc.	1 proc.	> 1 proc.	
HA be atkryčio, n = 56 (70,9 proc.)	38 (67,9 proc.)	7 (12,5 proc.)	11 (19,6 proc.)	0,843
HA su atkryčiu, n = 23 (29,1 proc.)	15 (62,2 proc.)	4 (17,4 proc.)	4 (17,4 proc.)	

3.4.18 lentelė. Ki-67 žymėjimo indeksas atsižvelgiant į HA aktyvumą

Aktyvumas	Ki-67 PI			p
	< 1 proc.	1 proc.	> 1 proc.	
Aktyvi HA, n = 44 (55,7 proc.)	31 (70,5 proc.)	4 (9,1 proc.)	9 (20,5 proc.)	0,378
Neaktyvi HA, n = 35 (44,3 proc.)	122 (62,9 proc.)	7 (20,0 proc.)	6 (17,1 proc.)	

3.4.19 lentelė. Ki-67 žymėjimo indeksas atsižvelgiant į HA dydį

Dydis	Ki-67 PI			p
	< 1 proc.	1 proc.	> 1 proc.	
Micro PA, n = 31 (39,2 proc.)	23 (74,2 proc.)	4 (12,9 proc.)	4 (19,9 proc.)	0,492
Macro PA, n = 48 (60,8 proc.)	30 (62,2 proc.)	7 (14,6 proc.)	11 (22,9 proc.)	

3.4.20 lentelė. Ki-67 žymėjimo indeksu sąsajos su pasirinktais VNV (SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914, AIP rs267606574)

Genas, VNV	Genotipas, alelis	Ki-67 PI			p
		< 1 proc.	1 proc.	> 1 proc.	
SSTR2 rs2236750	AA	20 (37,7)	5 (45,5)	4 (26,7)	0,636
	AG	27 (50,9)	4 (36,4)	10 (66,7)	
	GG	6 (11,3)	2 (18,2)	1 (6,7)	
	Iš viso	53 (100)	11 (100)	15 (100)	
	A	67 (63,2)	14 (62,6)	18 (60,0)	0,945
	G	39 (36,8)	8 (36,4)	12 (40,0)	
SSTR5 rs34037914	CC	47 (88,7)	9 (81,8)	15 (100)	0,087
	CT	6 (11,3)	1 (9,1)	0 (0,0)	
	TT	0 (0,0)	1 (9,1)	0 (0,0)	
	Iš viso	53 (100)	11 (100)	15 (100)	
	C	100 (93,6)	19 (86,4)	30 (100)	0,275
	T	6 (6,4)	3 (13,6)	0 (0)	

Bonferroni koreguotas reikšmingumo lygmuo ($\alpha^* = 0,0167$).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

***TERC*, *TEPI*, *TERT* genų VNV ir SLTI sąsajos su hipofizės adenoma bei su hipofizės adenomos aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu**

Pirmajame tyrime buvo analizuojami *TEPI* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098 ir rs401681 bei SLTI. Kiek žinoma, iki šiol nebuvo atlikta tyrimų, nagrinėjusių šių genų variantų sąsajas su HA pasireiškimu, invazyvumu, aktyvumu ar atkryčiu. Genetiniai veiksniai, modifikuojantys telomerų ilgį, telomerazės aktyvaciją bei telomerinių baltymų struktūrą, gali sąlygoti funkcinis ląstelės pakitimus, kurie yra susiję su vėžio vystymusi ir naviko augimu. Viso genomo asociacijų tyrimas (GWAS) parodė, kad VNV telomerų palaikymo procesuose dalyvaujančiuose genuose siejami su padidėjusia įvairių navikų rizika [73]. Mūsų duomenimis, nuoseklus ir po daugkartinių palyginimų korekcijos išliekantis ryšys nustatytas *TERC* rs35073794; taikyta Bonferroni korekcija ($\alpha^* = 0,05/6 = 0,0083$), tuo tarpu kitų tirtų VNV sąsajos po korekcijos neišliko statistiškai reikšmingos.

Literatūroje pateikiama duomenų apie galimą pasirinktų genų variantų ryšį su kitų lokalizacijų navikais [74–80].

Nikolay V. Litviakov ir bendraautoriai nustatė, kad *TEPI* rs1760904 siejamas su skirtingais chromosomų anomalijų tipais [81]. Neseniai *TEPI* (rs1760897) buvo susietas su padidėjusia šlapimo pūslės vėžio rizika [82]. Chenhong Gu ir jo bendraautorių atlikta analizė parodė, kad *TEPI* rs1760904 genotipų dažnis reikšmingai skyrėsi tarp kontrolinės ir prostatos vėžio grupių ($p = 0,012$). Be to, nustatyta, kad AG ir AG/AA genotipų turėjimas buvo susijęs su statistiškai reikšmingai mažesne prostatos vėžio rizika, lyginant su GG genotipu (atitinkamai $p = 0,003$ ir $p = 0,005$). Be to, buvo nustatyta reikšminga sąsaja tarp *TEPI* rs1713418 varianto ir amžiaus – AG/GG genotipai jaunesniems tiriamiesiems buvo susiję su 32 proc. padidėjusia prostatos vėžio rizika, o vyresniems – 29 proc. sumažėjusia rizika [73]. Mūsų duomenys rodo, kad *TEPI* rs1713418 gali būti siejamas su navikogeneze. Analizuojant *TEPI* rs1713418, nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp aktyvios HA grupės ir referentinės grupės (AA, AG ir GG: 34,3 proc., 59,7 proc. ir 6,0 proc. vs. 37,0 proc., 46,7 proc. ir 16,3 proc., $p = 0,046$). Tačiau taikant Bonferroni korekciją šis skirtumas statistiškai reikšmingas neišliko. Recessyvinio modelio analizėje GG genotipas, palyginti su AA+AG, siejamas su 3 kartus didesne aktyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 3,068; 95 proc. PI: 1,076–8,748; $p = 0,036$). Vis dėlto po Bonferroni korekcijos statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas.

Analizuojant genotipų ir alelių pasiskirstymą tarp invazyvios HA ir referentinės grupės, statistiškai reikšmingi rezultatai nenustatyti. Tačiau *TEPI* rs1713418 GG genotipas, palyginti su AA+AG, recesyvinio modelio analizėje siejamas su 2 kartus didesne invazyvios HA pasireiškimo galimybe (GS = 2,435; 95 proc. PI: 1,014–5,849; p = 0,047). GG genotipas taip pat siejamas su HA atkryčiu – pagal recesyvinį modelį GG genotipas, palyginti su AA+AG, siejamas su 3 kartus padidėjusia HA be atkryčio pasireiškimo galimybe (GS = 2,792; 95 proc. PI: 1,167–6,682; p = 0,021); tačiau po Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko.

TERT genas laikomas svarbiu apoptozės reguliacijos veiksniu, o jo ekspresijos lygis veikia vėžio ląstelių linijų jautrumą priešvėžiniams vaistams. GWAS identifikavo *TERT* rs401681 kaip vieną iš reikšmingiausių vėžio riziką lemiančių VNV [82]. Lin-Jie Ma ir bendraautorai aprašė ryšį tarp *TERT* promotorinės mutacijos ir telomerų ilgio, nustatydami teigiamą ir statistiškai reikšmingą koreliaciją su telomerų trumpėjimu (p = 0,032) [88]. Tačiau mūsų tyrime nenustatyta skirtumų tarp VNV ir SLTI pacientams sergantiems HA, palyginti su referentine grupe (mediana (IQR): 0,645 (1,112) vs. 0,603 (0,635), p = 0,901).

Ilgesnės telomeros gali būti siejamos su lėtesniu ląstelių senėjimu, didesniu jų proliferaciniu pajėgumu bei spartesniu navikų progresavimu [83]. Veryan Codd ir bendra autorių atlikta analizė parodė, kad pacientams kiekvienas retesnis *TERC* rs12696304 alelis buvo susijęs su trumpesniu vidutiniu telomerų ilgiu [83]. Beatrice S. Melin ir bendraautorai nustatė ryšį tarp rs12696304 ir SLTI; šie duomenys buvo patvirtinti 60 metų amžiaus pacientų grupėje (GS = 0,25 (0,12–0,54)) [84].

Vertinant navikų atsiradimo riziką, Peng Huang ir bendraautorai nustatė, kad rs35073794 genetinis variantas, analizuotas pagal adityvinį modelį, buvo statistiškai reikšmingai susijęs su mažesne hepatoceliulinės karcinomos išsivystymo tikimybe (GS = 0,82; 95 proc. PI: 0,68–1,00; p = 0,049) [75]. Dapeng Wu ir kt. nustatė, kad *TERC* rs35073794 yra susijęs su padidėjusia inkstų ląstelių karcinomos (ILK) rizika pagal kodominantinį modelį (GS = 2,61 (1,01–6,76), p = 0,045). Tas pats variantas taip pat buvo teigiamai susijęs su vyresniu nei 55 metų amžiumi (GS = 3,27 (1,08–9,93), p = 0,031) [76]. Tyrėjai nustatė, kad rs35073794 gali būti naudojamas kaip prognostinis žymuo klinikiniuose ILK tyrimuose [76].

Mūsų tyrimo duomenys parodė, kad *TERC* rs35073794 yra glaudžiai susijęs su HA pasireiškimu. *TERC* rs35073794 AG genotipas didina HA išsivystymo galimybę. Tuo pat metu jis buvo susijęs su sumažėjusia aktyvios HA, neinvazyvios HA bei HA be atkryčio išsivystymo galimybe. Be to, šis variantas turėjo priešingą poveikį makroadenomoms – didino makro HA pasireiškimo galimybę. Tarp HA potipių nustatyti skirtumai leidžia manyti

apie fenotipų heterogeniškumą ir galimus patogenezės skirtumus; svarbu pabrėžti, kad mūsų analizėje visos pagrindinės rs35073794 sąsajos išliko reikšmingos taikant Bonferroni korekciją.

Tyrėjai taip pat nustatė, kad *TERT* rs2736098 genotipo variantai (CT/TT) buvo statistiškai reikšmingai susiję su padidėjusia vėžio rizika, o tolesnė analizė parodė ryšį su padidėjusia plaučių vėžio rizika bei hepatoceliulinės karcinomos rizika [77]. Logistinės regresijos analizė atskleidė, kad asmenys, turintys A alelį arba AA genotipą, turėjo statistiškai reikšmingai didesnę plaučių vėžio riziką, palyginti su G aleliu ar GG genotipu (A ir G: GS = 1,21 (1,02–1,43), $p = 0,028$; AA ir GG: GS = 1,48 (1,05–2,09), $p = 0,025$), o šis ryšys buvo stipresnis tarp adenokarcinomos atvejų (AA ir GG: GS = 1,67 (1,12–2,50), $p = 0,013$; A ir G: GS = 1,28 (1,05–1,57), $p = 0,016$) [78]. Mahmood Hashemi ir kt. nustatė, kad *TERT* rs2736098 didino krūties vėžio riziką (GS = 1,80 (1,12–2,88), $p = 0,017$, CT vs. TT; GS = 1,80 (1,06–3,06), $p = 0,033$, CC vs. TT; GS = 1,87 (1,19–2,94), $p = 0,006$, CT+CC vs. TT) [79]. Taip pat nustatyta reikšminga rs401681 ir vėžio rizikos sąsaja [80].

Mūsų tyrime *TERT* rs2736098 TT genotipas buvo dažnesnis invazyvių HA (16,0 proc., palyginti su 7,6 proc.; $p = 0,017$), makro HA (16,5 proc., palyginti su 7,6 proc.; $p = 0,013$) ir HA be atkryčio (15,2 proc., palyginti su 7,6 proc.; $p = 0,026$) grupėse. Be to, T alelio dažnis buvo didesnis mikro HA grupėje (31,6 proc., palyginti su 23,8 proc.; $p = 0,039$). Tačiau šie skirtumai neišliko statistiškai reikšmingi pritaikius Bonferroni korekciją.

Su telomeromis susiję genai atlieka esminį vaidmenį kancerogenezeje ir prostatos vėžio progresavime. Tačiau dar nėra iki galo išsiaiškinta, ar genetiniai pakitimai telomerų funkcijas reguliuojančiuose genuose yra susiję su HA progresavimu [73]. Mes palyginome serumo *TEP1* lygius tarp grupių ir genotipų visiems VNV. HA pacientų, turinčių bent vieną *TEP1* rs1713418 G alelį, serumo *TEP1* koncentracija buvo mažesnė nei referentinės grupės asmenų ($p = 0,035$); tačiau po Bonferroni korekcijos reikšmingumas neišliko. Tyrėjų duomenimis, didesnė *TEP1* raiška koreliuoja su telomerazės aktyvumu vėžio ląstelėse [86]. Be to, nustatyta, kad selektyvus *TEP1* išsekvojimas panaikina miR-380-5p transfekutuose ląstelėse stebėtus biologinius pokyčius; remiantis gautais rezultatais galima daryti prielaidą, kad šis baltymas gali būti vienas iš galimų miRNR reguliacijos taikinių [87].

Joanna Boresowicz ir kt. tyrė telomerų ilgį, *TERT* geno pakitimus, *TERT* raišką bei klinikopatologines ypatybes HA pacientams. Gauti rezultatai rodo, kad telomerazės pakitimai nėra reikšmingai susiję su hipofizės navikų patogenezė [85]. Tai paaiškina ir mūsų tyrimo duomenis apie telomerų ilgį bei telomerazės komplekso genų įtaką. Mūsų analizėje SLTI tarp HA ir referentinės grupės nesiskyrė; taip pat SLTI nesisiejo su tirtų VNV genotipais (taikant Bonferroni korekciją).

Apibendrinant galima teigti, kad tyrimų rezultatai atskleidžia naviko procesą reguliuojančių žymenų bei telomerazės komplekso (*TEP1* rs1760904, rs1713418, *TERC* rs12696304, rs35073794, *TERT* rs2736098, rs401681) sąsajas, kurios padeda paaiškinti veiksnius, lemiančius HA vystymąsi. Po daugybinių palyginimų korekcijos statistinis reikšmingumas buvo nustatytas tik *TERC* rs35073794 atveju; kitų variantų atvejais statistinis reikšmingumas nebuvo pasiektas. Šių tyrimų tęstinumas yra svarbus, o rezultatų interpretacijai būtina palaukti panašių tyrimų kitose populiacijose. Nominaliai statistiškai reikšmingi duomenys šiame darbe laikytini prielaidomis tolesniems tyrimams. *TERC* rs35073794 gali moduluoti *TERC* raišką (pvz., audinių ar ląstelių populiacijų specifiniu būdu), kas nebūtinai atsispindi bendrame leukocitų SLTI, bet gali turėti įtakos hipofizės naviko proliferacijai. Šių išvadų patvirtinimui reikalingi papildomi tyrimai nepriklausomose kohortose, siekiant įvertinti šios sąsajos klinikinę reikšmę.

***TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, *TERF2* genų ir *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, *TERF2* baltymų bei santykinio leukocitų telomerų ilgio sąsajos su hipofizės adenoma**

Antrasis tyrimas apėmė *TNKS2* rs10509639 ir rs10509637, *CTC1* rs3027234, *ZNF676* rs412658, *TERF1* rs10107605 ir rs1545827, *TERF2* rs251796, baltymų bei santykinio leukocitų telomerų ilgio analizę. Kiek žinoma, iki šiol nebuvo atlikta tyrimų, nagrinėjusių šių genų VNV, baltymų bei SLTI sąsajas su HA.

Chromosomų integralumo palaikymas glaudžiai priklauso nuo telomerų dinamikos. Telomerų ilgio pokyčiai gali turėti įtakos vėžio vystymuisi [89].

Žinoma, kad leukocitų telomerų ilgis yra paveldimas ir siejamas su ilgaamžiškumu. Vis dėlto, įvairiose populiacijose gauti nevienodi duomenys apie telomerų ilgio paveldimumą ir telomerų biologijos poveikį gyvenimo trukmei [90].

Tyrimo tikslas buvo įvertinti, ar genetiniai telomerų palaikymo procesuose dalyvaujančių genų variantai yra susiję su telomerų ilgiu ir daro įtaką HA pasireiškimui. Nustatėme genetines sąsajas ir molekulinis žymenis, susijusius su HA, lyties ypatumais bei atkryčiu. Ypač išsiskyrė *TNKS2* rs10509637 GG genotipas, kuris buvo susijęs su 6,5 karto didesne HA išsivystymo galimybe (GS = 6,537; 95 proc. PI: 3,015–14,172; $p < 0,001$). Tuo tarpu *TERF1* rs1545827 CT+TT genotipai buvo susiję su 2,9 karto mažesne HA pasireiškimu galimybe (GS = 0,358; 95 proc. PI: 0,235–0,546; $p < 0,001$), rodydami galimą apsauginį poveikį. Šie rezultatai sutampa su Verena Váradí ir kt. tyrimo duomenimis, kuriuose nustatyta, kad rs10509637 G alelį turinčioms moterims didėja krūties vėžio rizika (GS = 1,33; 95 proc. PI 1,08–1,62) [91]. Mūsų duomenys pabrėžia genetinių veiksnių svarbą ligos

atsiradimui ir gali suteikti naujų įžvalgų apie HA patogenezę. Vis dėlto būtina pažymėti, kad nors nustatėme statistiškai reikšmingas sąsajas tarp *TERF1* rs1545827 ir mažesnės HA pasireiškimo galimybės, šių rezultatų kitose onkogenozės studijose kol kas nepateikta.

Papildomai, *TERF1* rs10107605 parodė reikšmingus HA ir referentinės grupės skirtumus (C alelis retesnis HA grupėje lyginant su referentine grupe, 4,6 proc. vs. 12,5 proc. $p < 0,001$), kas dera su *TERF1* kaip telomerų dinamikos regulatoriaus vaidmeniu ir gali atspindėti ryšį (galimą sąsają dėl LD) su rs1545827.

Atlikus atskirą analizę pagal lytį, nustatyta, kad kai kurios genetinės sąsajos su HA gali skirtis tarp vyrų ir moterų. *TERF1* rs1545827 pasižymėjo stipresniu apsauginiu poveikiu moterims (GS = 0,318; 95 proc. PI: 0,186–0,542; $p < 0,001$), o vyrų grupėje reikšmingumas neišliko po daugybinių palyginimų korekcijos. Tuo tarpu *TNKS2* rs10509637 buvo susijęs su padidėjusia HA pasireiškimo galimybe moterims (GS = 4,579; 95 proc. PI: 1,871–11,165; $p < 0,001$) ir vyrams (GS = 10,646; 95 proc. PI: 2,204–51,433; $p = 0,003$). Šie duomenys leidžia svarstyti apie galimą lyties modifikuojantį poveikį genetinėms sąsajoms.

Kadangi HA atkryčio genetiniai veiksniai gali turėti klinikinę reikšmę, pagerinant remisijos rodiklius [92], buvo atlikta atkryčio analizė. Nustatyta, kad *TNKS2* rs10509637 AA genotipas yra susijęs su 4,2 karto didesne HA atkryčio pasireiškimo galimybe (GS = 4,256; 95 proc. PI: 1,394–12,998; $p = 0,011$), tačiau šis ryšys neišliko pritaikius Bonferroni korekciją. Be logistinės regresijos, *TNKS2* rs10509637 genotipų pasiskirstymas reikšmingai skyrėsi ir aprašomojoje analizėje: HA su atkryčiu (AA, AG ir GG: 52,6 proc., 34,2 proc. ir 13,2 proc.) ir HA be atkryčio (51,1 proc., 30,4 proc. ir 18,5 proc.) lyginant su referentine grupe (68,5 proc., 28,1 proc., 3,4 proc.); G alelis dažnesnis HA su atkryčiu (30,3 proc. vs. 17,5 proc., $p = 0,007$) ir HA be atkryčio (33,7 proc. vs. 17,5 proc., $p < 0,001$). Pastarieji skirtumai išliko po Bonferroni korekcijos. Įdomu, kad Salhab ir kt. tyrime nustatyta *TNKS2* ekspresijos mažėjimo tendencija progresuojant krūties vėžiui [93], tai rodo šio geno kompleksią vaidmenį skirtingose patologijose.

Mūsų tyrime taip pat nustatyti galimi biomarkeriai – TERF1, TERF2 ir CTC1. Nustatėme, kad TERF2 koncentracija kraujo serume buvo padidėjusi (mediana (IQR): 0,222 (0,326) vs. 0,131 (0,072), $p = 0,009$), o TERF1 ir CTC1 – sumažėjusi (atitinkamai: 0,227 (0,027) vs. 0,269 (0,195), $p < 0,001$; ir 6,155 (6,876) vs. 16,356 (8,409), $p < 0,001$). *TNKS2* ir *ZNF676* serume reikšmingų skirtumų nenustatyta (atitinkamai $p = 0,317$ ir $p = 0,946$), kas akcentuoja neatitikimą tarp *TNKS2* genetinių rezultatų ir baltymo sisteminio lygio.

Vis dėlto, ankstesni tyrimai pateikia priešingų rezultatų: Vikas K. Bhari ir kt. nustatė, kad aukšta TERF1 ir TERF2 ekspresija siejama su blogesne krūties vėžio prognoze [94], o Yousef A. T. Marcos ir bendraautoriai aprašė *TERF1* raškos pakitimus vėžio vystymosi metu [95].

Mūsų tyrime *ZNF676* geno variantų ir baltymo koncentracijos serume ryšys su HA nebuvo nustatytas. Tačiau Leonardo J. de Araújo ir kt. patvirtino *ZNF676* perteklinę raišką (vidutinis padidėjimas 5,13 karto invazinių ir 2,04 karto neinvazinių kortikotropinomu atvejais), o *ZNF676* perteklinė raiška invazyvios HA grupės pacientams turėjo didesnę vidutinį priešoperacinį AKTH lygį ($102,3 \pm 52,2$ pg/ml, normalus diapazonas 50–310 $\mu\text{g}/24$ val.), palyginti su neinvazyvios grupės pacientais ($51,7 \pm 15,9$ pg/ml, normalus diapazonas < 46 pg/ml). Tuo tarpu pacientų, sergančių neinvazyviomis kortikotropinomis, šlapime kortizolio koncentracija buvo didesnė ($639,6 \pm 358,0$ $\mu\text{g}/24$ val.) nei pacientų, sergančių invazyviomis kortikotropinomis ($406,0 \pm 34,8$ $\mu\text{g}/24$ val.) [26].

Nustatyti TERF1, TERF2 ir CTC1 koncentracijų skirtumai skirtinguose medicininuose kontekstuose pabrėžia sudėtingą šių su telomeromis susijusių baltymų vaidmenį įvairiose ligose. Būsimuose tyrimuose tikslinga toliau tirti baltymų sąsajas su HA patogenezė, taip pat įvertinti jų galimą pritaikymą vėžio diagnostikoje ir prognozėje.

Be to, mūsų tyrimas atskleidė statistiškai reikšmingą SLTI skirtumą tarp HA pacientų ir referentinės grupės ($p < 0,001$). Šis rezultatas sutampa su C. Heaphy ir kt. atlikto tyrimo rezultatais, kuriuose taip pat buvo nustatyta, kad HA sergantiems pacientams būdingos trumpesnės telomeros [96]. Pažymėtina, kad mūsų SLTI įverčiai HA grupėje buvo aukštesni nei referentinėje (medianos 1,987 vs. 0,619; $p < 0,001$), o tai pagal taikytą qPCR ($\Delta\Delta\text{Ct}$) metodiką reiškia ilgesnių telomerų pasireiškimo galimybę HA grupėje. C. Heaphy ir kt. [96] analizavo naviko audinius, todėl neatitiktis su leukocitų SLTI gali atspindėti audinių specifiką, amžiaus/uždegimo veiksnius ar gydymo poveikį.

Analizuojant genetines sąsajas su telomerų trumpėjimu, pastebėta, kad *TERF1* rs1545827 T alelis yra susijęs su 1,4 karto mažesne trumpų telomerų pasireiškimo galimybe (GS = 0,690; 95 proc. PI: 0,513–0,927; $p = 0,014$), tačiau po Bonferroni korekcijos ryšys neišliko. Be to, *CTC1* rs3027234 TT genotipas yra susijęs su 4,8 karto didesne ilgų telomerų pasireiškimo galimybe (GS = 4,336; 95 proc. PI: 1,456–12,919; $p = 0,008$); tačiau po Bonferroni korekcijos ryšys taip pat neišliko. Priešingai, M. Mangino ir bendraautorių duomenimis rs3027234 T alelis yra susijęs su trumpesniu telomerų ilgiu [23]. Galimą neatitikimą gali lemti fenotipo apibrėžimo skirtumai (ilgų/trumpų telomerų kategorijos vs. tęstinis ilgis), populiacijos ypatumai ar ryšys (LD)

su kitais variantais, taip pat daugkartinių palyginimų įtaka. Vertinant biologinį mechanizmą, tai dera su žinomais telomerų reguliacijos principais: *TERF1* veikia kaip neigiamo grįžtamojo ryšio komponentas, ribojantis telomerų pailgėjimą [97], o *CTC1* kartu su *STN1/TEN1* (CST kompleksas) dalyvauja 3' galo apsaugoje ir replikacijos užbaigime [19, 44]; telomerų disfunkcija plačiai siejama su navikogeneze [20, 46]. Atsižvelgiant į korekciją dėl daugkartinių palyginimų, šie rezultatai turėtų būti vertinami atsargiai ir turėtų būti patvirtinti nepriklausomose imtyse.

***STAT4* vieno nukleotido variantų ir *STAT4* baltymo bei haplotipų sąsajas su hipofizės adenoma bei su hipofizės adenomos aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ir dydžiu**

Trečiasis tyrimas apėmė *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754 ir rs10168266. Šių lokusų pasirinkimas grindžiamas *STAT4* dalyvavimu uždegiminiuose procesuose ir galimu ryšiu su navikų mikroaplinka, toliau pateikiami su tuo susiję literatūros duomenys. Nors literatūroje nurodoma, kad *STAT4* aktyvumo pokyčiai gali būti susiję su lėtinio uždegimo vystymusi, kuris sudaro sąlygas naviko augimui ir progresavimui [98, 99], mūsų žiniomis, iki šiol neaprašytos šio geno VNV sąsajos su HA.

STAT4 genas, esantis 2q33 chromosomoje, koduoja transkripcijos faktorių, būtiną uždegimo vystymuisi įvairiose imuninės sistemos sukeltose ligose [100]. Kadangi VNV yra labiausiai paplitę genetiniai variantai žmogaus genome, jie yra pagrindiniai genetinių tyrimų taikiniai. Šių variantų supratimas yra labai svarbus personalizuotai medicinai [101]. *STAT4* VNV buvo plačiai tirti imuninės sistemos reguliavimo sutrikimų, įskaitant reumatoidinį artritą, polimiozitą/dermatomiozitą, žarnyno Behceto ligą, sisteminę raudonąją vilkligę ir kt. [102–105]. Todėl šiame darbe tyrėme, ar yra ryšys tarp minėtų *STAT4* VNV ir *STAT4* koncentracijos kraujo serume sąsajų su HA pasireiškimu. Analitinei klaidai riboti taikėme Bonferroni korekciją ($\alpha^* = 0,0125$), o aptarime nagrinėjami tik tie rezultatai, kuriems po korekcijos buvo pasiektas statistinis reikšmingumas.

Caie Wang ir kt. pranešė, kad *STAT4* rs7574865 GG genotipas yra hepatocelulinės karcinomos (HCC) rizikos veiksnys, kai HCC sergančių pacientų, turinčių GG genotipą, serume ir naviką supančiuose audiniuose yra padidėjęs *STAT4* kiekis [105]. Xiangqian Zhao ir kt. atliktos metaanalizės duomenys rodo, kad Azijos populiacijose rs7574865 T alelis siejamas su mažesne HBV sukeltos HCC rizika [106], o G alelis buvo susijęs su padidėjusia HBV sukeltos kepenų vėžio rizika [107]. Yunfan Ma ir kolegos nustatė, kad rs7574865 T alelis gali apsaugoti nuo plaučių vėžio, o tai rodo panašų poveikį vėžio atsiradimui [108]. Mūsų tyrimas atskleidė, kad *STAT4* rs7574865 GT+GG genotipas yra susijęs su 1,7 karto didesne HA pasireiškimu galimybe pagal

dominantinį genetinį modelį (GS = 1,655; PI: 1,115–2,455; p = 0,012). Makro HA grupėje rs7574865 GG genotipas buvo retesnis, palyginti su referentine grupe (43,8 proc. vs. 58,5 proc., p = 0,012). HA atkryčio atveju, rs7574865 G alelis buvo retesnis HA be atkryčio grupėje nei referentinėje grupėje (66,8 proc. ir 75,5 proc., p = 0,012), o GT+GG genotipai buvo susiję su 1,8 karto padidėjusiu HA be atkryčio pasireiškimu galimybe (GS = 1,803; PI: 1,166–2,788; p = 0,008).

Be to, pacientams, turintiems GG genotipą, nustatyta didesnė STAT4 koncentracija kraujo serume, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (GG genotipas: mediana (IQR): 1,675 (0,435) ir 0,532 (0,435), p = 0,003;), kas leidžia manyti apie galimą šio VNV ryšį su STAT4 ekspresijos pokyčiais ir HA patogenezę.

Dauguma *STAT4* rs10181656, rs7601754 ir rs10168266 tyrimų yra susiję su autoimuninėmis ligomis, o ne su navikų atsiradimu.

rs10181656 susijęs su psoriazinio artritu (PsA) [109]. Kitame tyrime nustatyta, kad PsA sergantiems pacientams dažniau pasireiškė rs10181656 GG genotipas ir G alelis, o tai rodo jo įtaką PsA vystymuisi [110]. Hye-Soon Lee ir kt. nustatė, kad mažiau paplitę rs10181656 aleliai gali prisidėti prie ankstesnio 1 tipo diabeto vystymosi, inicijuodami citokinų signalizaciją [111]. Nors nėra tyrimų, siejančių rs10181656 su HA, mūsų tyrimas atskleidė, kad *STAT4* rs10181656 CC genotipas yra susiję su padidėjusiu STAT4 kiekiu serume pacientams, sergantiems HA (CC genotipas: mediana (IQR): 1,645 (3,873) ir 0,532 (0,435), p = 0,004), o tai rodo, kad šis VNV gali turėti įtakos *STAT4* ekspresijai ir prisidėti prie HA patogenezės.

rs7601754 daugiausia analizuojamas sergant endometrioze [112] ir sisteminė raudonąja vilklige [113, 114]. H. Yuan ir kt. metaanalizėje nustatė, kad *STAT4* rs7601754 T alelis gali būti sisteminės raudonosios vilkligės rizikos veiksnys [113]. Be to, rs7601754 greičiausiai yra nepriklausomas SRV rizikos variantas, o rizikos alelio kiekis Europos ir Azijos kohortose yra reikšmingas [114]. Nors nėra tyrimų, kuriuose būtų analizuojamas rs7601754 su HA, mūsų tyrimas parodė, kad HA pacientams, turintiems rs7601754 AA genotipą, serumo lygis buvo didesnis, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (mediana (IQR): 1,702 (3,301) ir 0,352 (0,362), p < 0,001). Tai rodo, kad rs7601754 AA genotipas gali turėti įtakos *STAT4* raiškai, prisidedamas prie HA atsiradimo.

Pirminės tulžies cirozės (PBC) pacientų grupėje, palyginti su referentine grupe, rs10168266 retojo alelių dažnis buvo reikšmingai padidėjęs [115]. Metaanalizė parodė, kad *STAT4* geno rs7574865, rs7601754 ir rs10168266 buvo reikšmingai susiję su PBC rizika [116]. *STAT4* rs10168266 taip pat buvo susijęs su sumažėjusia krūties vėžio rizika moterims [117]. Mūsų atliktame tyrime, analizuojant duomenis pagal lytį, moterų grupėje statistiškai

reikšmingų sąsajų nenustatyta, tačiau vyrams *STAT4* rs10168266 CC+CT genotipai buvo susiję su 2,5 karto didesne HA pasireiškimo galimybe (GS= 2,490; PI: 1,313–4,724; p = 0,005). Be to, *STAT4* rs10168266 CC genotipas yra susijęs su padidėjusiu *STAT4* kiekiu serume HA pacientams (mediana (IQR): 1,573 (3,981) ir 0,326 (0,459), p = 0,004), o tai rodo, kad šis VNV gali atlikti svarbų vaidmenį didinant *STAT4* ekspresiją ir prisidedant prie HA vystymosi.

Nors tik nedaugelis tyrimų sieja *STAT4* VNV su navikų atsiradimu, tyrėjai įrodė, kad *STAT4* raiška yra susijusi su vėžiu. Yan Li ir kt. nustatė, kad kiaušidžių vėžiu sergančių pacienčių, kurioms nustatyta didelė *STAT4* raiška, prognozė buvo blogesnė, palyginti su tomis, kurioms nustatyta maža *STAT4* raiška, ir pastebėjo reikšmingą *STAT4* padidėjimą vėžiniuose audiniuose, palyginti su sveikais [118]. Panašiai A. Li ir kt. nustatė, kad *STAT4* raiška buvo reikšmingai didesnė ūminės mieloidinės leukemijos (ŪML) kaulų čiulpų audinių mėginiuose, palyginti su normaliais kaulų čiulpų audinių mėginiais, o tai rodo *STAT4* padidėjimą ŪML atveju. Tai rodo, kad padidėjusi *STAT4* raiška gali turėti įtakos ŪML patogenezei [119]. M. Li ir kolegos atrado, kad in vitro eksperimentai parodė reikšmingą *STAT4* raiškos padidėjimą šlapimo pūslės vėžio ląstelių linijose, palyginti su sveika žmogaus šlapimo pūslės epitelio ląstelių linija [120]. Mūsų gauti duomenys atitinka šias išvagas, nes HA grupėje nustatyta didesnė *STAT4* koncentracija kraujo serume.

Atsižvelgiant į tai, kad mūsų tyrimas atskleidė reikšmingą ryšį tarp didesnės *STAT4* koncentracijos kraujo serume HA pacientams, palyginti su referentinės grupės tiriamaisiais (mediana (IQR): 1,434 (2,498) ng/ml vs. 0,352 (0,382) ng/ml, p < 0,001), rezultatai rodo, kad *STAT4* gali skatinti navikų atsiradimą ir galėtų būti naudojamas kaip nepriklausomas biožymuo HA pacientų prognozei vertinti. Be to, Y. Huang ir kt. nustatė, kad ilgalaikė IL-12 stimuliacija sumažina *STAT4* baltymo kiekį NK ląstelėse, tai rodo, kad IL-12 specifiškai sumažina *STAT4* ekspresiją, o tai gali moduluoti *STAT4* signalizaciją NK ląstelėse [121]. Be to, pacientams, sergantiems prolaktinoma ir nesekretuojančia HA, nustatytas sumažėjęs natūralių žudikų 2 grupės, D nario (NKG2D) ekspresuojančių NK ląstelių procentas ir vidutinis fluorescencijos intensyvumas, palyginti su sveikais tiriamaisiais [122]. Šie duomenys sudaro biologinį pagrindą hipotezei, kad IL-12/*STAT4*/Th1 ir NK ašys gali būti susijusios su HA mikroaplinkos formavimu ir imuninės sistemos poveikio navikui mažėjimu. Tačiau reikia atlikti papildomus tyrimus, siekiant išsiaiškinti *STAT4*, kaip naujo HA biologinio žymens, vaidmenį.

Mūsų tyrime nustatytas padidėjęs *STAT4* serumo lygis pacientams, sergantiems HA, palyginti su referentine grupe, o tai rodo galimą *STAT4* vaidmenį HA patogenezėje. Šie rezultatai atitinka ankstesnius tyrimus,

rodančius, kad specifiniai VNV *STAT4* gene gali turėti įtakos *STAT4* raiškai. Pavyzdžiui, rs7574865 T alelis buvo susijęs su padidėjusiu *STAT4* baltymo lygiu, o tai gali padidinti autoimuninių ligų riziką [123]. Priešingai, C. Wang ir kt. nustatė reikšmingą rs7574865 GG genotipo sąsają su padidėjusia *STAT4* koncentracija kepenų ląstelėse [105]. Be to, tyrimai parodė, kad rs10181656 G alelis ir rs10168266 T alelis yra susiję su sumažėjusia *STAT4* koncentracija kraujos serume su amžiumi susijusios amžinės geltonosios dėmės degeneracijos atveju [124], o rs7601754 variantas buvo susijęs su mažesne *STAT4* koncentracija ir padidėjusia išsėtinės sklerozės rizika [125]. Šie duomenys rodo, kad introniniai *STAT4* VNV gali moduluoti genų raišką, galbūt per tokius mechanizmus kaip pakitęs mRNR splaisingas arba jų buvimas kartu su kitomis funkciškai reikšmingomis genetinėmis variacijomis [126]. Mūsų haplotipų analizė patvirtino porinę sąsają (LD) tarp tirtų lokusų, tačiau reikšmingų haplotipų sąsają nenustatyta. Reikia atlikti papildomus tyrimus, siekiant išsiaiškinti tikslus mechanizmus, kuriais pasirinkti VNV veikia *STAT4* raišką HA, ir patikslinti *STAT4*, kaip naujo HA žymens, vaidmenį.

Apibendrinant, mūsų tyrimų rezultatai rodo, kad specifiniai *STAT4* VNV, ypač rs7574865, yra susiję su HA pasireiškimu. Padidėjęs *STAT4* kiekis HA sergantiems pacientams rodo, kad *STAT4* gali atlikti vaidmenį navikų atsiradime ir potencialiai būti HA prognozės biožymeniu. Vyrų pogrupyje nustatyta reikšminga rs10168266 (CC+CT) ir HA sąsaja (GS = 2,490; p = 0,005) leidžia svarstyti lyties specifinius mechanizmus. Tačiau norint išsiaiškinti tikslus mechanizmus, lemiančius šiuos ryšius, reikia atlikti tolesnius tyrimus.

Nepaisant vertingų įžvalgų, gautų iš šio tyrimo, reikėtų pripažinti keletą tyrimo trūkumų. Pirma, tyrimas buvo skirtas tik specifiniams *STAT4* geno VNV, galbūt neatsižvelgiant į kitus svarbius genetinius variantus, kurie galėtų prisidėti prie HA patogenezės. Būsimoose tyrimuose turėtų būti siekiama įtraukti didesnes, įvairesnes populiacijas ir ištirti papildomus genetinius veiksnius, kad būtų galima patvirtinti ir išplėsti šiuos rezultatus.

***SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir *AIP* rs267606574 vieno nukleotido variantų ir baltymų koncentracijos kraujo serume sąsajos su hipofizės adenomos pasireiškimu ir naviko proliferaciniu aktyvumu, vertinamu pagal Ki-67 proliferacijos indeksą**

Ketvirtajame tyrime analizavome Ki-67 proliferacijos indekso (PI), *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir *AIP* rs267606574, taip pat *SSTR2*, *SSTR5* ir *AIP* koncentracijos kiekį kraujo serume, siejant juos su HA.

Ki-67 PI laikomas esminiu žymeniu, skirstant PitNET į skirtingas prognostines grupes, nors jo galutinė prognostinė vertė PitNET atveju vis dar

tiriama [127, 128]. Ki-67, kaip prognostinio žymens, vaidmuo buvo plačiai iširtas. Nustatyta, kad siekiant pagerinti prognozės tikslumą, jį galima integruoti su morfologiniais ir radiologiniais naviko išplitimo požymiais. Ki-67 indeksai HA atveju svyruoja nuo 1 proc. iki 2 proc., o vertės, viršijančios 3 proc., yra retos [129, 130]. Carolina Petry tyrime nustatyta, kad Ki-67 svyravo nuo 0 iki 30 proc. [131], panašiai kaip Fateme Salehi ir kt. (mažiau nei 1 proc. iki 23 proc.) [127] ir Inês L. Padrão (nuo 0 iki 36,9 proc.) [132] aprašytos vertės. Be to, kituose tyrimuose nurodytos 36 proc. (Padrão ir kt.) [132], 29 proc. (C. Petry ir kt.) [131] ir 12 proc. (Alejandra Magagna-Poveda ir kt.) [133] Ki-67 vertės.

Mūsų tyrime išanalizavome 79 HA audinių mėginius. Imunohistocheminiu Ki-67 tyrimu nustatyta, kad 67,1 proc. pacientų, sergančių HA, PI buvo < 1 proc., 13,9 proc. – 1 proc., o 19,0 proc. pacientų – Ki-67 PI > 1 proc. Tačiau atlikus tolesnę analizę statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatėme tarp naviko invazyvumo, atkryčio, aktyvumo ar dydžio. Be to, statistiškai reikšmingų korelacijų tarp Ki-67 PI ir genetinių variacijų (*SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir *AIP* rs267606574) nenustatėme. Panašiai, naviko dydis [134] ir hormonų hipersekrecijos buvimas ar nebuvimas nesiskyrė vertinant Ki-67 PI Laura Sánchez-Tejada ir kolegų tyrime [135].

Kalbant apie genetinę analizę, SSTR yra su G baltymu susieti receptoriai, kuriuos koduoja penki skirtingi genai (*SSTR1–5*), visi penki genai yra ekspresuojami sveikose suaugusio žmogaus hipofizės ląstelėse [136]. Leonardo V. Neto ir kolegos aprašė, kad HA atveju SSTR ekspresija labai kinta naviko potipiuose ir tarp jų [137]. Luiz E. Wildemberg ir kt. parodė, kad kliniškai nefunkcionuojančiose HA *SSTR2* mRNR transkriptai buvo ekspresuojami daugumoje navikų, o *SSTR5* mRNR transkriptai buvo ekspresuojami tik dalyje navikų [138]. Kitos dvi tyrėjų grupės nustatė, kad somatotropinomose ir sveikose hipofizėse *SSTR2* ir *SSTR5* mRNR transkriptai ir baltymai buvo ekspresuojami visuose mėginiuose [138, 139]. Luis V. Syro ir kolegos sekveno *SSTR2* ir *SSTR5* genus, neradę patologinių germinacinės linijos variantų *SSTR2*, tačiau paciento kraujo DNR buvo nustatyta heterozigotinė c.143C > A transversija (rs4988483), dėl kurios *SSTR5* atsirado p.L48M pakeitimas [140].

Raitis Peculis ir kt. atliktame tyrime, kuriame buvo įtraukti 143 pacientai ir 354 referentinės grupės asmenys, buvo tiriamas VNV vaidmuo septyniuose genuose (*SSTR2*, *SSTR5*, *DRD2*, *MEN1*, *AIP*, *GNAS* ir *PRKARIA*), daugiausia dėmesio skiriant ryšiui su hipofizės navikų atsiradimu, fenotipu ir klinikiniais simptomais. Tyrimo metu nustatyta, kad rs7131056 *DRD2* gene prisideda prie greitesnio adenomos augimo arba mažesnio simptomų kiekio, todėl HA gali išaugti didesnės, kol jos aptinkamos. Tačiau *SSTR2* atveju reikšmingo ryšio nerasta, o *SSTR5* buvo siejamas su HA vystymusi [141].

Hanna Pisarek ir kt. aprašė *SSTR2B* > *SSTR2A* > *SSTR5* raiškos modelį 22 NFPA grupėje, o kitame tyrime Pisarek ir kt. aprašė IHC dažymo modelį *SSTR2B* = *SSTR3* = *SSTR5* > *SSTR1* = *SSTR2A* prolaktinomose. Trijose tirtose prolaktiną išskiriančiose adenomose *SSTR2* raiška buvo stipresnė nei *SSTR5* [142].

Teigiama, kad skirtingas somatostatino analogų veiksmingumas pooperaciniame somatotropinomų ir NFHA gydyme gali būti iš dalies susijęs su skirtinga *SSTR1–5* raiška hipofizės navikų tipuose ir tarp jų. Kiekybinės RT-PGR tyrime buvo palygintas absoliutus visų penkių *SSTR* izoformų mRNR kopijų skaičius 23 somatotropinomose ir 19 NFHA [143]. Somatostatino receptoriaus 5 potipio mRNR buvo didžiausia somatotropinomose, po jos sekė *SSTR2* > *SSTR3* >> *SSTR1* >>> *SSTR4*. Priešingai, *SSTR3* mRNR buvo didžiausia NFHA, po jos sekė *SSTR2*, o *SSTR1*, *SSTR4* ir *SSTR5* transkriptai buvo aptinkami tik pasirinktuose navikuose [143]. Kitame tyrime nustatyta, kad TSH išskiriančios adenomos ekspresuoja *SSTR1*, 2A, 3 ir 5 mRNR, ypač *SSTR2A*. Be *SSTR2* mRNR raiškos, *SSTR5* mRNR raiška taip pat gali turėti įtakos naviko dydžiui, kurį sukelia somatostatino analogai prieš TSH išskiriančias adenomas [144]. Didelis *SSTR2* ir mažas *SSTR5* imunoreaktyvumas taip pat nustatytas sergant Kušingo liga [145]. Tateno ir kt. nustatė didelę *SSTR2* mRNR raišką NFHA [146].

Tyrimo rezultatai parodė, kad *SSTR2* rs2236750 AG genotipą turintiems asmenims, taikant kodominantinį ir overdominantinį genetinius modelius, buvo nustatyta maždaug 1,6 karto didesnė HA pasireiškimo galimybė (atitinkamai $p = 0,043$ ir $p = 0,044$). Rezultatai vertintini atsargiai, nes po daugybinių palyginimų korekcijos statistinis reikšmingumas neišliko. Be to, pastebėti reikšmingi skirtumai *SSTR5* rs34037914 genotipo atveju, rodantys statistiškai reikšmingus skirtumus tarp genotipų pasiskirstymo, lyginant mikro HA su referentine grupe ($p = 0,022$). Be to, TT genotipas buvo susijęs su 12 kartų didesne mikro HA atsiradimo galimybe ($p = 0,044$). Tačiau šios sąsajos neišliko po Bonferroni korekcijos, o tai pabrėžia tolesnių tyrimų su didesnėmis kohortomis poreikį, siekiant geriau suprasti *SSTR2* sąsajas su HA. Pažymėtina, kad nors daugelis tyrimų buvo skirti imunohistochemijai, Peculis ir kt. tyrimas nerado reikšmingų ryšių tarp *SSTR2*, *SSTR5* VNV ir HA [141].

Apie 20 proc. šeiminių izoliuotos hipofizės adenomos (FIHA) atvejų kyla dėl germinacinės mutacijos *AIP* gene, esančiame 11q13. *AIP* mutacijos daugiausia sukelia somatotrofines ir laktotrofines adenomas, dažnai pasireiškiančias vaikystėje ar jauname amžiuje. *AIP*, iš pradžių identifikuotas kaip ko-šaperonas, veikia kaip naviką slopinantis genas. Nors padidėjusi laukinio tipo *AIP* raiška mažina ląstelių proliferaciją, jo nutildymas ją stimuliuoja. *AIP* sąveikauja su įvairiais baltymais, įskaitant arilo angliavandenilių receptorių, tačiau pagrindinė sąveika hipofizės navikų genezės procese lieka neaiški

[147]. Paciento normalaus audinio DNR sekoje nustata beprasmė mutacija (angl. *nonsense*) 40 nukleotido pozicijoje *AIP* geno koduojančiame regione. Tiksliau, citozinas buvo pakeistas timidinu (c.40 C > T), todėl Gln kodonas virto stop kodonu (Q14X). Pažymėtina, jog visuose pacientų navikuose nustatytas *AIP* geno laukinio tipo alelio praradimas [42]. Pacientai, turintys *AIP* mutacijas, buvo gerokai jaunesnio amžiaus, palyginti su tais, kurių *AIP* mutacijų nebuvo [148]. Nuo pirmojo *AIP* mutacijų identifikavimo FIHA gene 2006 m. dokumentuota daugiau nei 75 *AIP* geno mutacijos [149, 150].

Nustatyta, kad *AIP* mutacija pasitaiko 26 proc. šeiminių adenomų atveju [34, 35, 151, 152]. Iš 163 pacientų 19 (11,7 proc.) turėjo germinacines *AIP* mutacijas, o dar 9 pacientams nustatyti neaiškios reikšmės pokyčiai arba VNV. *AIP* mutacijos aptiktos 20,5 proc. vaikų, 13,3 proc. sporadinės somatotropinomos pacientų, 11,5 proc. prolaktinomos pacientų ir 1 iš 16 pacientų, sergančių neaktyviomis HA [153]. *AIP* mutacija pasitaiko daug rečiau sporadinių HA atveju [150, 154]. Sporadiniai GH/PRL sekretuojantys navikai nenustatyti. *AIP* mutacijos pasireiškė atitinkamai 5,4 proc., 4,4 proc., 3,3 proc. ir 2,4 proc. PRL, GH ir AKTH sekretuojančių navikų ir NFA, o maždaug du trečdaliai jų buvo germinacinės mutacijos. Buvo pastebėti įvairūs *AIP* geno mutacijų tipai, rodantys atsitiktinį atsiradimą sporadiniuose hipofizės navikuose ir pabrėžiantys *AIP* vaidmenį naviko vystymesi [155]. *AIP* genas taip pat buvo identifikuotas FIHA pacientams iš dviejų šeimų šiaurės Suomijoje [148]. Jį sudaro 6 egzonai ir jis koduoja 330 aminorūgščių baltymą, turintį peptidilprolilciz-transizomerazės tipo (PPIazės tipo) domeną (31–121 aminorūgštys), tetratricopeptido pasikartojimo (TPR) domeną su 3 TPR motyvais (aminorūgštys 179–298) ir c-galo α -7 spiralę (C α -7h) [156].

Tyrime, kuriame dalyvavo 110 Vokietijoje gyvenančių baltaodžių pacientų, sergančių HA (55 funkcionuojančios ir 55 nefunkcionuojančios), *AIP* mutacijos nustatytos 2,7 proc. pacientų. Dviem pacientams nustatyta heterozigotinė mutacija *R16H* (c.47G > A), o vienam pacientui – heterozigotinis G > C pakitimas 3'UTR srityje, 60 bp žemiau terminacijos kodono. Visiems trimis pacientams buvo nustatyta nefunkcionuojanti adenoma. Be to, trimis pacientams, sergantiems nefunkcionuojančia adenoma, dviem pacientams, sergantiems prolaktinoma, ir vienam pacientui, sergančiam akromegalija, nustatytas tylus variantas *D172D* (c.516C > T) [157]. Alain Barlier ir kt. išanalizavo 107 pacientus (prolaktinomas (n = 49), nefunkcionuojančius navikus (n = 29), somatotropinomas (n = 26), AKTH išskiriančius navikus (n = 2) ir TSH išskiriančius navikus (n = 1)) ir nerado jokių *AIP* germinacinės mutacijos. 41 naviko mėginių, paimtų iš kitų tiriamųjų, grupėje viename mėginyje buvo rasta nauja *AIP* mutacija (R22X), kurioje atitinkamas alelis buvo ištrintas. Tolesnio paciento patikrinimo metu buvo aptikta germinacinės

AIP mutacija R22X, rodanti, kad *AIP* mutacijos, atrodo, nevidina pagrindinio vaidmens sporadinėje hipofizės navikų atsiradimo patogenezėje Europos populiacijoje [158]. Savo tyrime neradome jokių ryšių tarp *AIP* rs267606574 ir HA.

Integruotas keturių tyrimų rezultatų apibendrinimas

Šiame darbe atlikti keturi tarpusavyje susiję tyrimai leido kompleksiskai įvertinti genetinių variantų, baltymų koncentracijų ir telomerų biologijos rodiklių sąsajas su HA pasireiškimu bei jos klinikinėmis charakteristikomis. Skirtinguose tyrimuose analizuoti molekuliniai žymenys atspindi kelis svarbius HA patogenezės aspektus – telomerų palaikymo mechanizmus, imuninės signalizacijos procesus ir neuroendokrininę reguliaciją. Šių rezultatų integruotas vertinimas leidžia geriau suprasti galimą skirtingų biologinių sistemų vaidmenį HA vystymesi ir jos biologiniame elgesyje.

Apibendrinant šiame darbe gautus rezultatus galima teigti, kad HA pasireiškimas gali būti susijęs su kelių skirtingų biologinių sistemų genetiniais ir molekuliniais veiksniais. Telomerų biologijos tyrimai parodė, kad tam tikri telomerų palaikymo sistemos genetiniai variantai (*TERC*, *TERF1*, *TNKS2*) bei telomerų su baltymais susijusių komponentų koncentracijos gali būti susiję su HA pasireiškimu ir kai kuriomis naviko klinikinėmis charakteristikomis, pavyzdžiui, naviko dydžiu. Taip pat nustatyta, kad HA pacientams SLTI buvo ilgesnis nei referentinėje grupėje, kas gali atspindėti pakitusį telomerų palaikymo mechanizmų aktyvumą naviko biologijoje. Imuninės signalizacijos kelio analizė parodė, kad *STAT4* genetiniai variantai ir padidėjusi *STAT4* baltymo koncentracija kraujo serume taip pat gali būti susiję su HA pasireiškimu, kas leidžia manyti apie galimą uždegiminių ar imuninių procesų vaidmenį ligos patogenezėje. Tuo tarpu somatostatino receptorių sistemos genetinių variantų ir baltymų koncentracijų analizė reikšmingų sąsajų su HA pasireiškimu ar klinikinėmis charakteristikomis neparodė.

Taigi šio darbo rezultatai rodo, kad HA atsiradimas gali būti susijęs su kelių molekulinėse mechanizmų – telomerų palaikymo, imuninės signalizacijos ir neuroendokrininės reguliacijos – sąveika. Skirtingos biologinės sistemos gali veikti ne izoliuotai, bet kompleksiskai, dalyvaudamos genomo stabilumo palaikymo, ląstelių proliferacijos ir naviko mikroaplinkos reguliacijos procesuose. Nors šiame tyrime šie molekuliniai žymenys buvo vertinami atskirai, gauti rezultatai leidžia manyti, kad jų kompleksinis vertinimas galėtų būti informatyvesnis nei pavienių biomarkerių analizė ir padėti geriau suprasti HA biologinį elgesį.

Šių genetinių variacijų supratimas gali atverti kelią individualizuotos medicinos metodams. Nors šiame tyrime statistškai reikšmingų sąsajų tarp *SSTR2*, *SSTR5* ir *AIP* VNV bei HA klinikinėse charakteristikų nenustatyta,

somatostatino receptorių sistema išlieka svarbi vertinant individualų atsaką į somatostatino analogų terapiją. Šių genetinių variantų nustatymas ateityje galėtų padėti geriau suprasti galimus gydymo atsako skirtumus tarp pacientų. Tačiau norint patvirtinti šiuos rezultatus ir įvertinti jų klinikinį pritaikomumą, būtini tolesni tyrimai su didesnėmis pacientų kohortomis. Ateityje skirtingų genetinių ir molekulinų žymenų integravimas į kompleksinius molekulinis ar prognostinius modelius galėtų padėti tiksliau įvertinti HA eigą, geriau suprasti ligos biologinius mechanizmus ir sudaryti prielaidas individualizuotai pacientų stebėsenai bei gydymo strategijų parinkimui.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad *TERC* rs35073794 yra susijęs su HA pasireiškimu – AG genotipas buvo statistiškai reikšmingai dažnesnis HA grupėje ir siejosi su didesne ligos pasireiškimo galimybe. Taip pat AG genotipas buvo susijęs su didesne makroadenomų ir mažesne mikroadenomų pasireiškimo galimybe, tačiau reikšmingų sąsajų su HA aktyvumu, invazyvumu ar atkryčiu nenustatyta. Analizuojant *TEP1* ir *TERT* VNV statistiškai reikšmingų sąsajų su HA pasireiškimu ar klinikinėmis charakteristikomis nenustatyta.
2. Nustatyta, kad *TERF1* rs1545827 T alelis ir CT+TT genotipai buvo susiję su mažesne, o *TNKS2* rs10509637 G alelis ir GG genotipas – su didesne HA pasireiškimo galimybe. Kraujo serumo tyrimai parodė, kad HA grupėje *TERF2* koncentracija buvo statistiškai reikšmingai didesnė, o *TERF1* ir *CTC1* koncentracijos – statistiškai reikšmingai mažesnės nei referentinėje grupėje. Taip pat nustatyta, kad santykinis leukocitų telomerų ilgis HA grupėje buvo ilgesnis nei referentinėje grupėje. Statistiškai reikšmingų sąsajų tarp *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1* ir *TERF2* VNV ir HA aktyvumo, invazyvumo, atkryčio ar dydžio nenustatyta.
3. Nustatyta, kad *STAT4* rs7574865 GT+GG genotipai buvo susiję su didesne HA pasireiškimo galimybe, o vyrų pogrupyje papildomai nustatyta reikšminga sąsaja su *STAT4* rs10168266 CC+CT genotipais. Taip pat nustatyta, kad *STAT4* baltymo koncentracija kraujo serume HA grupėje buvo statistiškai reikšmingai didesnė nei referentinėje grupėje. Statistiškai reikšmingų *STAT4* haplotipų sąsajų su hipofizės adenomos aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ar dydžiu nenustatyta.
4. Po Bonferroni korekcijos statistiškai reikšmingų sąsajų tarp *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914 ir HA pasireiškimo nenustatyta. Taip pat nenustatyta reikšmingų sąsajų tarp šių variantų ir naviko proliferacinio aktyvumo, vertinamo pagal Ki-67 proliferacijos indeksą. *SSTR2*, *SSTR5* ir AIP baltymų koncentracijos kraujo serume tarp HA ir referentinės grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Daugumai tirtų navikų Ki-67 proliferacijos indeksas buvo < 1 proc., ir statistiškai reikšmingų sąsajų su HA aktyvumu, invazyvumu, atkryčiu ar dydžiu nenustatyta.

SUMMARY

INTRODUCTION

Pituitary adenomas (PAs) – among the most common primary brain tumors – account for approximately 14.1% of all such neoplasms [1]. Although PAs are typically considered non-malignant lesions [2], a subset exhibits invasive growth, leading to hypopituitarism or visual field defects. Surgical resection is the principal treatment modality [3]; nevertheless, recurrence occurs in up to one-third of cases across both functioning and nonfunctioning adenomas, making accurate estimation of recurrence risk critically important for long-term surveillance and planning of adjuvant therapy [1].

Most PAs arise from the anterior pituitary, generally grow slowly, and are benign. In clinical practice, they are classified by size – microadenomas versus macroadenomas – and by functionality (nonfunctioning *vs.* functioning) or by anatomic extent [4, 5]. Functioning PAs increase secretion of specific adenohipophyseal hormones [6]. Compared with functioning tumors, nonfunctioning PAs are often diagnosed later and may be clinically more aggressive due to mass effect [7, 8]. Invasiveness is a key attribute of PAs, associated with involvement of adjacent structures, complications, and poorer prognosis [9]. PA pathogenesis is multifactorial, involving gene mutations, chromosomal abnormalities, DNA methylation, microRNA regulation, and transcription-factor modulation; dysregulated expression of cell-cycle genes, activation of oncoproteins, or loss of suppressive mechanisms can perturb growth-factor signaling [7, 10, 11]. Proliferation markers are prognostically relevant; the Ki-67 labeling index is widely regarded as a meaningful prognostic indicator in PAs [12–14].

Telomeres are nucleoprotein complexes at eukaryotic chromosome ends whose length shortens with age; progressive attrition is linked to somatic-cell senescence, apoptosis, and oncogenic transformation [15]. Shorter telomere length is associated with increased morbidity and poorer survival outcomes [16]. Telomere integrity is maintained by the shelterin complex, which forms T-loop structures and shields chromosome ends from being misrecognized as double-strand DNA breaks [17, 18]. The CST (CTC1–STN1–TEN1) telomere replication complex also contributes to telomere regulation by inhibiting telomerase, binding single-stranded DNA, and promoting lagging-strand synthesis [19]. Among telomere-length regulators, telomeric repeat-binding factors 1 and 2 (TERF1/TERF2) function as telomerase inhibitors: overexpression is associated with telomere shortening, whereas reduced expression is associated with lengthening [20, 21]. Overexpression of tankyrase-2

(TNKS2) in tumor cells may be linked to telomere elongation, suggesting a potential oncogenic role [22]. The CST component CTC1 participates in leukocyte telomere-length regulation and preservation of genome stability [23]. Small-molecule inhibitors targeting shelterin and CST have recently been explored for their therapeutic potential in telomere-related pathologies [24].

Telomerase is central to telomere maintenance. This ribonucleoprotein holoenzyme comprises the catalytic subunit telomerase reverse transcriptase (TERT), the telomerase RNA component (TERC), and the telomerase-associated protein 1 (TEP1). Using TERC as a template, TERT extends the 3' ends of telomeres. This process is modulated by secondary DNA structures at telomeres and telomere-associated proteins, while TEP1 contributes to assembly and stabilization of the telomerase RNP complex [15,20].

Within telomere homeostasis, attention has also turned to zinc finger protein 676 (ZNF676), a transcriptional regulator whose mechanisms of action on telomere length are not yet fully defined. Theoretically, ZNF676 may bind DNA directly to regulate expression and post-translational modification of telomere-maintenance genes, or it may promote folding of single-stranded telomeric DNA into G-quadruplexes that suppress telomerase-mediated elongation at the 3' end [23–26].

Another relevant axis involves signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4) and its role within the tumor microenvironment. Activated by Janus kinases (JAKs), STAT4 regulates immune responses and inflammation – processes regarded as important contributors to cancer risk [27–29].

Finally, somatostatin receptors 1–5 (SSTR1–SSTR5) – particularly SSTR2 and SSTR5 – and the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) have notable clinical relevance in PAs. SSTRs modulate cellular signaling by inhibiting adenylyl cyclase, stimulating inward-rectifier K⁺ channels, reducing Ca²⁺ conductance, and enhancing tyrosine-phosphatase activity [30,31]. In neuroendocrine tumors, SSTR5 expression can be epigenetically regulated by the antisense transcript SSTR5–AS1 and by DNA methylation [32], while membrane SSTR2 expression is often substantially higher in tumor cells than in normal counterparts, making it an attractive therapeutic target [33]. *AIP* is a tumor-suppressor gene with germline and sporadic variants reported in pituitary neuroendocrine tumors (PitNETs); although some *AIP* variants are rare and of uncertain functional significance, careful interpretation is essential because rare variants are also detected in healthy reference populations [34–38].

Against this backdrop, the present work systematically evaluates telomere-biology markers (TERT, TERC, TEP1, TERF1/TERF2, TNKS2,

CTC1, ZNF676), STAT4, and SSTR/AIP, and examines their relationships with the clinical course of PAs. This integrated approach may refine risk stratification (including recurrence risk) and inform individualized surveillance and adjuvant interventions.

STUDY AIM AND OBJECTIVES

The aim of the study:

To evaluate the associations between genetic variants of telomere biology, JAK–STAT, and somatostatin signaling pathways, their protein expression, and relative leukocyte telomere length with the occurrence of pituitary adenoma and tumor biological behavior (activity, invasiveness, recurrence, and size).

Objectives of the study:

1. To determine the associations of *TERC*, *TEP1*, and *TERT* single-nucleotide polymorphisms and relative leukocyte telomere length with the occurrence of PA, as well as with PA activity, invasiveness, recurrence and size.
2. To determine the associations of *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, and *TERF2* single-nucleotide polymorphisms, corresponding protein levels, and relative leukocyte telomere length with the occurrence of PA, as well as with PA activity, invasiveness, recurrence and size.
3. To determine the associations of *STAT4* single-nucleotide polymorphisms, STAT4 protein levels, and *STAT4* haplotypes with PA, as well as with PA activity, invasiveness, recurrence and size.
4. To determine the associations of *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, and *AIP* rs267606574 single-nucleotide polymorphisms, corresponding protein levels and Ki-67 PI with the occurrence of PA, as well as PA proliferation activity.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted from 2021 to 2025 and comprised 507 participants: 139 patients with PA and 368 healthy individuals as the reference group. The cohorts were matched by age and sex. The PA cohort was recruited at the Department of Neurology, Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos (Kauno klinikos). Diagnoses were established from clinical evaluation and magnetic resonance imaging (MRI), with histological confirmation performed at the Department of Pathology, Kauno klinikos.

Study design and subjects

The whole project was divided into four individual studies (Study I–Study IV).

Study I:

Molecular Markers of Telomerase Complex Association with Pituitary Adenoma (Gedvilaite et al., 2022 [63]) – analysis of *TEP1*, *TERC*, *TERT* gene polymorphisms and their associations with PA, together with serum TEP1/TERC/TERT levels and relative leukocyte telomere length (RLTL) comparison between PA patients and reference subjects.

- PA group: n = 126.
- Reference group: n = 368.

Study II:

The Influence of Telomere-Related Gene Variants, Serum Levels, and Relative Leukocyte Telomere Length in Pituitary Adenoma Occurrence and Recurrence (Gedvilaite et al., 2024 [64]) – assessment of *TERF1*, *TERF2*, *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676* variants, corresponding serum protein levels (TERF1/TERF2/TNKS2/CTC1/ZNF676), and RLTL in relation to PA occurrence and recurrence.

- PA group: n = 130.
- Reference group: n = 320.

Study III:

Signal Transducer and Activator of Transcription 4 (STAT4) Association with Pituitary Adenoma (Gedvilaite-Vaicechauskiene et al., 2024 [65]) – investigation of *STAT4* SNPs, haplotypes, and serum STAT4 levels in relation to PA.

- PA group: n = 139.
- Reference group: n = 357.

Study IV:

Pituitary Adenoma: *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, and *AIP* rs267606574 Genetic Variants, Serum Levels, and Ki-67 Labeling Index Associations (Gedvilaite-Vaicechauskiene et al., 2024 [66]) – evaluation of *SSTR2*, *SSTR5*, *AIP* genetic variants, their serum protein levels, and Ki-67 labeling index in PA.

- PA group: n = 128.
- Reference group: n = 272.

Study methods

In the present study, we evaluated relative leukocyte telomere length, the Ki-67 proliferation index (PI), single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the genes: *TEP1* (rs1713418, rs1760904), *TERC* (rs12696304, rs35073794), *TERT* (rs2736098, rs401681), *TNKS2* (rs10509639, rs10509637), *CTC1* (rs3027234), *ZNF676* (rs412658), *TERF1* (rs10107605, rs1545827), *TERF2* (rs251796), *STAT4* (rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266), *SSTR2* (rs2236750), *SSTR5* (rs34037914), and *AIP* (rs267606574), as well as serum concentrations of the proteins TEP1, TNKS2, CTC1, ZNF676, TERF1, TERF2, STAT4, SSTR2, SSTR5, and AIP, and their associations with PA.

Genomic DNA extraction and RT-PCR

Peripheral venous blood was collected into vacuum tubes containing the anticoagulant EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) to prevent microclot formation. Genomic DNA was isolated from leukocytes using the salting-out method. The procedure comprised:

- Centrifugation: isolation of peripheral blood leukocytes.
- Cell resuspension: leukocytes resuspended in buffer.
- Cell lysis: membrane disruption with detergents.
- Protein hydrolysis: proteolysis with proteinase K.
- Deproteinization: removal of proteins using chloroform.
- DNA precipitation: DNA precipitated with ethanol.

To protect DNA from degradation, nucleases were inactivated in the initial steps by appropriate buffers. All steps were performed at low temperature (~4 °C). Purified DNA was stored at -70 °C.

The salting-out method yields DNA of suitable concentration and quality using the sequence of steps listed above: centrifugation, resuspension, lysis, protein hydrolysis, deproteinization, and ethanol precipitation.

Genotyping was performed using StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Singapore).

The qPCR cycling protocol comprised three repeating stages driving exponential DNA amplification:

- Denaturation: 95 °C, 15 s – disruption of hydrogen bonds and strand separation.
- Primer annealing (hybridization): 60 °C, 60 s – primers bind to complementary DNA sequences.
- Extension: 72 °C – Taq DNA polymerase synthesizes the complementary strand.

Determination of relative leukocyte telomere length

Relative leukocyte telomere length (RLTL) was assessed in peripheral blood leukocytes using the quantitative real-time PCR method described by Richard M. Cawthon [67], which determines the T/S ratio – the abundance of telomeric DNA (T) relative to a single-copy reference gene (S; albumin). Each sample was analyzed in two technical replicates for both telomere and single-copy reactions.

As for genotyping, qPCR was performed on a StepOnePlus™ real-time PCR instrument. The reference (calibrator) sample consisted of a pooled DNA mix from two randomly selected participants. Positive control: DNA extracted from the 1301 human cell line with very long telomeres (Sigma-Aldrich, USA). Negative control: sterile water (NTC).

Primers used:

- Telg: 5'-ACA CTA AGG TTT GGG TTT GGG TTT GGG TTT GGG TTA GTG T-3'
- Telc: 5'-TGT TAG GTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA TCC CTA ACA-3'
- AlbD: 5'-GCC CGG CCC GCC GCG CCC GTC CCG CCG GAA AAG CAT GGT CGC CTG TT-3'
- Albu: 5'-CGG CGG CGG G GCG GCG CGG GCT GGG CGG AAA TGCTGC ACA GAA TCC TTG-3'

Ki-67 assessment

The Ki-67 proliferation index (LI) was determined through immunohistochemical staining with a monoclonal anti-Ki-67 antibody (clone SP6; Spring Bioscience Corporation). It was expressed as the percentage of tumor cells showing positive staining within the nuclei.

Tissue was fixed in 10% neutral buffered formalin for 24–48 h and embedded in paraffin; section thickness 3–4 μm. Staining was performed at the LUHS Department of Pathology on the Ventana BenchMark XT platform (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) following the manufacturer's protocol: sections were dewaxed with Ventana reagents; antigen retrieval with Cell Conditioning buffer (pH 8.4) for 60 min at 100 °C; incubation with the primary antibody for 32 min at 37 °C; visualization with the Ventana iVIEW DAB Detection Kit. Counterstaining was done with Gill hematoxylin, bluing with lithium carbonate buffer, and slides were coverslipped. Tonsil/lymph node tissue served as the positive control; negative controls omitted the primary antibody.

The LI was calculated in hot-spot areas at ×400 magnification, counting ≥ 500–1000 tumor cells across ≥ 3 field sand expressing the result as a per-

centage. Artifactual regions (necrosis, hemorrhage) were excluded. Evaluation was performed by an experienced pathologist blinded to clinical data; in equivocal cases, a repeat assessment was undertaken.

Statistical analysis

Data were analyzed using IBM SPSS Statistics for Windows, version 29.0 (IBM Corp., USA). Distribution normality was assessed with the Shapiro–Wilk test and, when needed, the Kolmogorov–Smirnov test with Lilliefors correction. Normally distributed variables are reported as mean \pm SD; non-normally distributed variables as median (IQR).

Genotype distributions in the reference group were tested for Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) using the exact test. Chi-square or Fisher’s exact tests (when expected counts < 5) were used to compare genotype/allele frequencies between groups.

Associations between SNPs and pituitary adenoma (PA) occurrence were evaluated by binary logistic regression, presenting odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (CIs). The following inheritance models were examined:

- Codominant (heterozygotes vs. common-allele homozygotes; rare-allele homozygotes vs. common-allele homozygotes)
- Dominant (heterozygotes + rare-allele homozygotes vs. common-allele homozygotes)
- Recessive (rare-allele homozygotes vs. heterozygotes + common-allele homozygotes)
- Overdominant (heterozygotes vs. both homozygote groups)
- Additive (per-rare-allele effect)

For each SNP, the optimal model was selected by the Akaike Information Criterion (AIC) (lower AIC indicates better fit). Regression models were adjusted for age and sex.

Group comparisons of relative leukocyte telomere length (RLTL) used the Mann–Whitney U test when normality assumptions were not met. A two-sided significance level of $\alpha = 0.05$ was applied.

Unadjusted p values ($\alpha = 0.05$) are reported first in each subsection, followed by correction for multiple testing using Bonferroni adjustment, because a fixed, a priori number of SNPs (m) was analyzed in each study:

- Study I ($m = 6$ SNPs): $\alpha^* = 0.05 / 6 = 0.0083$;
- Study II ($m = 7$ SNPs): $\alpha^* = 0.05 / 7 = 0.0071$;
- Study III ($m = 4$ SNPs): $\alpha^* = 0.05 / 4 = 0.0125$;
- Study IV ($m = 3$ SNP): $\alpha^* = 0.05 / 3 = 0.0167$.

RESULTS

Genotype and allele distribution of *TERC* rs35073794 revealed statistically significant differences between PA and the reference group, GG, AG and AA (0.8%, 84.9% and 14.3% vs. 42.4%, 57.6% and 0.0%, $p < 0.001$) (Table 1).

Table 1. Genotype and allele frequencies of *TERC* rs35073794 within PA and reference groups

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group, n (%)	Control group, n (%)	p-value
<i>TERC</i> rs35073794	GG	1 (0.8)	156 (42.4)	< 0.001
	AG	107 (84.9)	212 (57.6)	
	AA	18 (14.3)	0 (0.0)	
	Total	126 (100)	368 (100)	
	Allele			
	G	109 (43.3)	524 (71.2)	< 0.001
	A	143 (56.7)	212 (28.8)	

The presence of the *TERC* rs35073794 AG genotype in the codominant model, the AG+AA genotype combination in the dominant model, the AG genotype in the overdominant model, and the A allele in the additive model were all associated with significantly increased odds of PA development. The estimated increases were approximately 79-fold (OR = 78.736; 95% CI: 10.872–570.221; $p < 0.001$), 92-fold (OR = 91.981; 95% CI: 12.717–665.277; $p < 0.001$), 4-fold (OR = 4.144; 95% CI: 2.439–7.040; $p < 0.001$), and 114-fold (OR = 114.329; 95% CI: 15.941–819.982; $p < 0.001$), respectively (Table 2).

Table 2. Binary logistic regression analysis within patients with PA and reference group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	78.736 (10.872–570.221)	< 0.001	423.120
	AA vs. GG	–	–	
Dominant	AG+AA vs. GG	91.981 (12.717–665.277)	< 0.001	458.571
Recessive	AA vs. GG+AG	–	–	–
Overdominant	AG vs. AA+GG	4.144 (2.439–7.040)	< 0.001	529.245
Additive	A	114.329 (15.941–819.982)	< 0.001	421.856

Associations between *TERC* gene polymorphisms and pituitary adenoma features, including activity, invasiveness, and recurrence, were evaluated. The results showed that the rs35073794 variant was related to both active and inactive forms of PA. The GG genotype was considerably less common in patients with active PA as well as in those with inactive PA when compared with the control group (1.5% vs. 42.4%, $p < 0.001$; 9.1% vs. 42.4%, $p < 0.001$). In contrast, the AG genotype appeared significantly more frequently in both patient groups than among controls (79.1% vs. 57.6%, $p = 0.001$; 90.9% vs. 57.6%, $p < 0.001$) (Table 3).

Table 3. *TERC* rs35073794 frequencies of genotypes and alleles within active or inactive pituitary adenoma and reference groups

Gene, SNP	Genotype, allele	Control group, n (%)	Active PA group, n (%)	p-value	Inactive PA group, n (%)	p-value
<i>TERC</i> rs35073794	GG	156 (42.4) ^{1,3}	1 (1.5) ¹	< 0.001	5 (9.1) ³	< 0.001
	AG	212 (57.6) ^{2,4}	53 (79.1) ²		50 (90.9) ⁴	
	AA	0 (0.0)	13 (19.4)		5 (9.1)	
	Total	368 (100)	67 (100)		55 (100)	
	Allele					
	G	524 (71.2)	55 (41.0)	< 0.001	60 (50.0)	< 0.001
	A	212 (28.8)	79 (59.0)		60 (50.0)	

¹ $p < 0.001$ (GG vs. AA+AG); ² $p = 0.001$ (AG vs. GG+AA); ³ $p < 0.001$ (GG vs. AA+AG); ⁴ $p < 0.001$ (AG vs. GG+AA).

Evaluation of *TERC* rs35073794 across several inheritance models showed significant protective associations with active PA. The AG genotype (codominant model), AG+AA genotypes (dominant model), AG genotype (overdominant model), and the A allele (additive model) were associated with substantially lower odds of active PA, corresponding to approximately 38-, 47-, 3-, and 91-fold reductions, respectively (all $p \leq 0.001$). Moreover, within the overdominant model, individuals carrying the AG genotype had a seven-fold lower probability of developing inactive PA compared with those with AA or GG genotypes (OR = 0.136; 95% CI: 0.053–0.349; $p < 0.001$) (Table 4).

Table 4. Binary logistic regression analysis within active or inactive PA and control group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
Active PA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	0.026 (0.004–0.187)	< 0.001	281.319
	AA vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.998	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.021 (0.003–0.150)	< 0.001	318.836
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000– -)	0.998	324.825
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.359 (0.192–0.670)	0.001	363.936
Additive	A	0.011(0.002–0.082)	< 0.001	280.958
Inactive PA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.995	259.418
	AA vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.998	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.995	273.592
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000– -)	0.999	308.111
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.136 (0.053–0.349)	< 0.001	301.980
Additive	A	0.000 (0.000– -)	0.995	257.418

The distribution of *TERC* rs35073794 genotypes differed significantly between PA subgroups and controls. The AG genotype was markedly more common in individuals with invasive PA as well as in those with non-invasive PA compared with the control group (86.4% vs. 57.6%, $p < 0.001$; 81.8% vs. 57.6%, $p = 0.002$, respectively) (Table 5).

Table 5. *TERC* rs35073794 frequencies of genotypes and alleles within invasive or non-invasive pituitary adenoma and control groups

Gene, SNP	Genotype, allele	Control group, n (%)	Invasive PA group, n (%)	p-value	Non-invasive PA group, n (%)	p-value
<i>TERC</i> rs35073794	GG	156 (42.4)	0 (0.0)	< 0.001	1 (2.3)	< 0.001
	AG	212 (57.6) ^{1,2}	70 (86.4) ¹		36 (81.8) ²	
	AA	0 (0.0)	11 (13.6)		7 (15.9)	
	Total Allele	368 (100)	81 (100)		44 (100)	
	G	524 (71.2)	70 (43.2)	< 0.001	38 (43.2)	< 0.001
A	212 (28.8)	92 (56.8)		50 (56.8)		

¹ $p < 0.001$ (AG vs. AA+GG); ² $p = 0.002$ (AG vs. AA+GG).

Under the overdominant model, carriers of the *TERC* rs35073794 AG genotype, compared with individuals with AA or GG genotypes, had approximately a 5-fold lower odds of developing invasive PA (OR = 0.214; 95% CI: 0.109–0.417; $p < 0.001$).

In addition, several genetic models demonstrated a protective association with non-invasive PA. Specifically, the AG genotype in the codominant model, the AG+AA genotypes in the dominant model, the AG genotype in the overdominant model, and the A allele in the additive model were associated with approximately 26-, 31-, 3-, and 63-fold reductions in the odds of non-invasive PA, respectively (OR = 0.038; 95% CI: 0.005–0.278; $p = 0.001$; OR = 0.032; 95% CI: 0.004–0.232; $p = 0.001$; OR = 0.302; 95% CI: 0.137–0.668; $p = 0.003$; OR = 0.016; 95% CI: 0.002–0.116; $p < 0.001$) (Table 6).

Table 6. Binary logistic regression analysis within invasive or non-invasive PA and control group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
Invasive PA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	0.000 (0.000–)	0.995	320.054
	AA vs. GG	0.000 (0.000–)	0.997	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.000 (0.000–)	0.995	347.488
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000–)	0.998	386.885
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.214 (0.109–0.417)	< 0.001	401.155
Additive	A	0.000 (0.000–)	0.995	318.054
Non-invasive PA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	0.038 (0.005–0.278)	0.001	221.561
	AA vs. GG	0.000 (0.000–)	0.999	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.032 (0.004–0.232)	0.001	245.495
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000–)	0.999	249.592
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.302 (0.137–0.668)	0.003	271.385
Additive	A	0.016 (0.002–0.116)	< 0.001	221.340

Analysis demonstrated that the *TERC* rs35073794 variant was related to PA regardless of relapse status. The AG genotype occurred significantly more often in patients with recurrent PA compared with controls, and a similar pattern was observed in patients without relapse when compared with the control group (90.0% vs. 57.6%, $p < 0.001$; 82.6% vs. 57.6%, $p < 0.001$) (Table 7).

Table 7. *TERC* rs35073794 frequencies of genotypes and alleles within pituitary adenoma with relapse or without relapse and control groups

Gene, SNP	Genotype, allele	Control group, n (%)	PA group with relapse, n (%)	p-value	PA group without relapse, n (%)	p-value
<i>TERC</i> rs35073794	GG	156 (42.4)	0 (0.0)	< 0.001	1 (1.1)	< 0.001
	AG	212 (57.6) ^{1,2}	27 (90.0) ¹		76 (82.6) ²	
	AA	0 (0.0)	3 (10.0)		15 (16.3)	
	Total	368 (100)	30 (100)		92 (100)	
	Allele					
	G	524 (71.2)	27 (45.0)	< 0.001	78 (42.4)	< 0.001
A	212 (28.8)	33 (55.0)		106 (57.6)		

¹p<0.001 (AG vs. AA+GG); ²p < 0.001 (AG vs. AA+GG).

Evaluation of genetic models revealed that the *TERC* rs35073794 AG genotype, when compared with AA and GG genotypes under the overdominant model, was associated with a sevenfold reduction in the odds of PA relapse (OR = 0.151; 95% CI: 0.045–0.507; p = 0.002).

For the *TEP1* rs1713418 polymorphism, the GG genotype was linked to an approximately threefold increased risk of PA without relapse compared with AA and AG genotypes, according to the recessive model (OR = 2.792; 95% CI: 1.167–6.682; p = 0.021).

Additionally, the *TERC* rs35073794 polymorphism was significantly associated with lower odds of PA without relapse across multiple inheritance models. The AG genotype (codominant model), AG+AA genotypes (dominant model), AG genotype (overdominant model), and the A allele (additive model) were linked to roughly 56-, 67-, 3-, and 100-fold decreases in the likelihood of PA (Table 8).

Table 8. Binary logistic regression analysis within PA with or without relapse and control group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>PA with relapse</i>				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	0.000 (0.000–)	0.995	202.582
	AA vs. GG	0.000 (0.000–)	0.999	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.000 (0.000–)	0.995	183.381
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000–)	0.999	198.996
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.151 (0.045–0.507)	0.002	202.347
Additive	A	0.000 (0.000–)	0.995	170.582

Table 8. Continued

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>PA without relapse</i>				
<i>TERC rs35073794</i>				
Codominant	AG vs. GG	0.018 (0.002–0.130)	< 0.001	348.507
	AA vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.998	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.015 (0.002–0.108)	< 0.001	384.459
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000– -)	0.998	411.991
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.286 (0.161–0.510)	< 0.001	440.861
Additive	A	0.010 (0.001–0.074)	< 0.001	347.599

Analysis demonstrated that the *TERC* rs35073794 variant was related to both macroadenomas and microadenomas. The AG genotype occurred significantly more often in the macro PA group than in controls and was likewise more prevalent in the micro PA group compared with the control group (84.8% vs. 57.6%, $p < 0.001$; 82.9% vs. 57.6%, $p = 0.002$) (Table 9).

Table 9. *TEP1*, *TERC*, and *TERT* genes single nucleotide polymorphisms frequencies of genotypes and alleles within macro or micro pituitary adenoma and control groups

Gene, SNP	Genotype, allele	Control group, n (%)	Macro PA, n (%)	p-value	Micro PA, n (%)	p-value
<i>TERC</i> rs35073794	GG	156 (42.4)	1 (1.3)	< 0.001	0 (0.0)	< 0.001
	AG	212 (57.6) ^{1,2}	67 (84.8) ¹		34 (82.9) ²	
	AA	0 (0.0)	11 (13.9)		7 (17.1)	
	Total	368 (100)	79 (100)		44 (100)	
	Allele					
	G	524 (71.2)	69 (43.7)	< 0.001	34 (41.5)	< 0.001
	A	212 (28.8)	89 (56.3)		48 (58.5)	

¹ $p < 0.001$ (AG vs. AA+GG); ² $p = 0.002$ (AG vs. AA+GG).

Evaluation of genetic models indicated that the *TERC* rs35073794 AG genotype, when compared with AA and GG genotypes combined, was associated with significantly lower odds of micro PA, corresponding to an approximately fourfold reduction under the overdominant model (OR = 0.280; 95% CI: 0.121–0.648; $p = 0.003$). However, the same polymorphism showed the opposite pattern for macro PA. In this case, the AG genotype (codominant model), AG+AA genotypes (dominant model), AG genotype (overdominant model), and the A allele (additive model) were associated with markedly higher odds of macro PA, with increases of approximately 49-, 57-, 4-, and 82-fold, respectively (Table 10).

Table 10. Binary logistic regression analysis within micro or macro PA and control group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
Micro PA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.995	201.638
	AA vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.998	
Dominant	AG+AA vs. GG	0.000 (0.000– -)	0.995	226.190
Recessive	AA vs. GG+AG	0.000 (0.000– -)	0.999	235.006
Overdominant	AG vs. AA+GG	0.280 (0.121–0.648)	0.003	257.403
Additive	A	0.000 (0.000– -)	0.995	199.638
Macro PA				
<i>TERC</i> rs35073794				
Codominant	AG vs. GG	49.302 (6.771–358.990)	< 0.001	323.701
	AA vs. GG	–	–	
Dominant	AG+AA vs. GG	57.393 (7.899–417.078)	< 0.001	351.798
Recessive	AA vs. GG+AG	–	–	–
Overdominant	AG vs. AA+GG	4.108 (2.149–7.856)	< 0.001	396.054
Additive	A	83.234 (11.522–601.271)	< 0.001	322.740

A significant difference in *TERF1* rs1545827 genotype distribution was identified between PA patients and the reference group ($p < 0.001$). In the PA cohort, the CC, CT, and TT genotypes were present in 62.3%, 31.5%, and 6.2% of individuals, respectively, whereas in the reference group their frequencies were 37.2%, 50.6%, and 12.2%. The T allele was correspondingly less prevalent in PA patients (21.9%) compared with the reference population (37.5%) ($p < 0.001$).

In addition, significant differences were observed for the *TNKS2* rs10509637 polymorphism. The frequencies of AA, AG, and GG genotypes in the PA group were 51.6%, 31.5%, and 16.8%, respectively, while the reference group showed frequencies of 68.5%, 28.1%, and 3.4% ($p < 0.001$). The G allele occurred more frequently in the PA group (32.7%) than among controls (17.5%) ($p < 0.001$). A summary of these findings is provided in Table 11.

Table 11. Genotype and allele frequencies of single nucleotide polymorphisms *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509637 within PA and reference groups

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group, n (%)	Reference group, n (%)	p-value
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	81 (62.3)	119 (37.2)	< 0.001
	CT	41 (31.5)	162 (50.6)	
	TT	8 (6.2)	39 (12.2)	
	Total Allele	130 (100)	320 (100)	
	C	203 (78.1)	400 (62.5)	< 0.001
	T	57 (21.9)	240 (37.5)	
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	67 (51.6)	219 (68.5)	< 0.001
	AG	41 (31.5)	90 (28.1)	
	GG	22 (16.8)	11 (3.4)	
	Total Allele	130 (100)	320 (100)	
	A	175 (67.3)	528 (82.5)	< 0.001
	G	85 (32.7)	112 (17.5)	

According to the most appropriate genetic model, selected based on the lowest AIC value, individuals carrying the *TERF1* rs1545827 CT+TT genotypes had approximately a 2.9-fold lower likelihood of developing PA compared with those with the CC genotype (OR = 0.358; 95% CI: 0.235–0.546; $p < 0.001$).

In contrast, for the *TNKS2* rs10509637 polymorphism, the GG genotype was associated with a significantly increased risk of PA. Under the recessive genetic model, carriers of the GG genotype showed about a 6.5-fold higher odds of PA occurrence compared with individuals with the AA genotype (OR = 6.537; 95% CI: 3.015–14.172; $p < 0.001$) (Table 12).

Table 12. Binary logistic regression analysis within patients with pituitary adenoma and reference group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>TERF1</i> rs1545827				
Codominant	CT vs. CC	0.372 (0.239–0.580)	< 0.001	521.1
	TT vs. CC	0.301 (0.134–0.678)	0.004	
Dominant	CT+TT vs. CC	0.358 (0.235–0.546)	< 0.001	519.4
Recessive	TT vs. CC+CT	0.472 (0.214–1,041)	0.063	519.1
Overdominant	CT vs. CC+TT	0.449 (0.292–0.691)	< 0.001	529.2
Additive	T	0.453 (0.320–0.642)	< 0.001	521.1

Table 12. Continued

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Codominant	AG vs. AA	1.489 (0.940–2.358)	0.090	520.2
	GG vs. AA	6.537 (3.015–14.172)	< 0.001	
Dominant	AG+GG vs. AA	2.039 (1.344–3.094)	< 0.001	531.9
Recessive	AA vs. GG+AG	5.722 (2.686–12.189)	< 0.001	521.1
Overdominant	AG vs. AA+GG	1.177 (0.756–1.833)	0.470	542.5
Additive	G	2.081 (1.516–2.857)	< 0.001	522.3

To explore potential sex-specific genetic differences, genotype and allele distributions of the analyzed SNPs were evaluated separately for males and females.

Within the female population, a significant difference in *TERF1* rs1545827 genotype distribution was detected between PA patients and the reference group ($p < 0.001$). The CC, CT, and TT genotypes were present in 65.0%, 26.3%, and 8.7% of PA cases, compared with 37.1%, 48.9%, and 14.0% among controls. Consistently, the T allele was less common in PA patients (21.9%) than in the reference group (38.5%) ($p < 0.001$).

Likewise, the *TNKS2* rs10509637 polymorphism exhibited significant differences between groups. The frequencies of AA, AG, and GG genotypes were 52.5%, 31.3%, and 16.2% in PA and 68.8%, 27.1%, and 4.1% in the reference group ($p < 0.001$). The G allele was correspondingly more prevalent among PA patients (31.9%) than among controls (17.6%) ($p < 0.001$). These results are summarized in Table 13.

Table 13. Genotype and allele frequencies of *TERF1* rs1545827, *TNKS2* rs10509637 within PA and reference groups females

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group females, n (%)	Reference group females, n (%)	p-value
<i>TERF1</i> rs1545827	CC	52 (65.0)	82 (37.1)	< 0.001
	CT	21 (26.3)	108 (48.9)	
	TT	7 (8.7)	31 (14.0)	
	Total	80 (100)	221 (100)	
	Allele			< 0.001
	C	125 (78.1)	272 (61.5)	
	T	35 (21.9)	170 (38.5)	
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	42 (52.5)	152 (68.8)	< 0.001
	AG	25 (31.3)	60 (27.1)	
	GG	13 (16.2)	9 (4.1)	
	Total	80 (100)	221 (100)	
	Allele			< 0.001
	A	109 (68.1)	364 (82.4)	
	G	51 (31.9)	78 (17.6)	

Evaluation of the most suitable genetic model, determined by the lowest AIC value, revealed a protective association of the *TERF1* rs1545827 variant in females. Specifically, carriers of the CT or TT genotypes exhibited a significantly lower risk of PA compared with CC genotype carriers, corresponding to an approximately 3.1-fold reduction in odds (OR = 0.318; 95% CI: 0.186–0.542; $p < 0.001$).

In contrast, the *TNKS2* rs10509637 polymorphism showed a significant risk association in the female group. Under the recessive inheritance model, females with the AA genotype had an approximately 4.6-fold increased probability of developing PA compared with those with AG or GG genotypes (OR = 4.579; 95% CI: 1.871–11.165; $p < 0.001$) (Table 14).

Table 14. Binary logistic regression analysis within females with pituitary adenoma and reference group females

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>TERF1</i> rs1545827				
Codominant	CT vs. CC	0.307 (0.171–0.549)	< 0.001	333.9
	TT vs. CC	0.356 (0.146–0.868)	0.023	
Dominant	CT+TT vs. CC	0.318 (0.186–0.542)	< 0.001	332.0
Recessive	TT vs. CC+CT	0.588 (0.248–1.394)	0.228	349.0
Overdominant	CT vs. CC+TT	0.372 (0.212–0.654)	< 0.001	337.8
Additive	T	0.455 (0.298–0.697)	< 0.001	335.9
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Codominant	AG vs. AA	1.508 (0.846–2.689)	0.164	359.5
	GG vs. AA	5.228 (2.092–3.065)	< 0.001	
Dominant	AG+GG vs. AA	1.993 (1.181–3.362)	0.010	343.9
Recessive	AA vs. GG+AG	4.579 (1.871–11.165)	< 0.001	339.4
Overdominant	AG vs. AA+GG	1.220 (0.698–2.131)	0.485	350.1
Additive	G	1.973 (1.334–2.920)	< 0.001	339.0

A significant difference in the distribution of *TNKS2* rs10509637 genotypes was detected between male PA patients and male controls ($p = 0.001$). Among males with PA, the AA, AG, and GG genotypes were present in 50.0%, 32.0%, and 18.0% of cases, respectively, whereas the corresponding frequencies in the reference male group were 67.7%, 30.3%, and 2.0%. Moreover, the G allele was significantly more common in males with PA compared with control males (34.0% vs. 7.2%, $p = 0.001$) (Table 15).

Table 15. Genotype and allele frequencies of *TNKS2* rs10509637 within PA and reference group males

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group males, n (%)	Reference group males, n (%)	p-value
<i>TNKS2</i> rs10509637	AA	25 (50.0)	67 (67.7)	0.001
	AG	16 (32.0)	30 (30.3)	
	GG	9 (18.0)	2 (2.0)	
	Total	50 (100)	99 (100)	
	Allele			0.001
	A	66 (66.0)	164 (82.8)	
	G	34 (34.0)	34 (17.2)	

Evaluation of the recessive inheritance model with the lowest AIC value demonstrated that male carriers of the *TNKS2* rs10509637 AA genotype had a markedly higher probability of developing PA compared with individuals carrying the AG or GG genotypes, representing an approximately 10.6-fold increase in odds (OR = 10.646; 95% CI: 2.204–51.433; $p = 0.003$) (Table 16).

Table 16. Binary logistic regression analysis within males with pituitary adenoma and reference group males

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>TNKS2</i> rs10509637				
Codominant	AG vs. AA	1.489 (0.668–3.059)	0.358	181.5
	GG vs. AA	2.060 (2.436–59.707)	0.002	
Dominant	AG+GG vs. AA	2.094 (1.044–4.200)	0.037	187.8
Recessive	AA vs. GG+AG	10.646 (2.204–51.433)	0.003	180.3
Overdominant	AG vs. AA+GG	1.082 (0.520–2.252)	0.832	192.1
Additive	G	2.298 (1.330–3.972)	0.003	182.9

Serum levels of TERF2, TERF1, and CTC1, as well as relative leukocyte telomere length (RLTL), were evaluated in patients with pituitary adenoma and in the reference population.

The results showed that TERF2 serum concentrations were significantly higher in PA patients than in the reference group (median [IQR]: 0.222 [0.326] vs. 0.131 [0.072], $p = 0.009$). In contrast, TERF1 levels were significantly lower in PA patients compared with controls (median [IQR]: 0.227 [0.027] vs. 0.269 [0.195], $p < 0.001$).

A similar decrease was observed for CTC1, where PA patients exhibited markedly lower serum levels than the reference group (mean [SD]: 6.155 [6.876] vs. 16.356 [8.409], $p < 0.001$).

Assessment of RLTL revealed a statistically significant difference between the PA group ($n = 100$) and the reference group ($n = 320$), with higher median

RLTL values observed in PA patients (median [IQR]: 1.987 [3.225] vs. 0.619 [0.632], $p < 0.001$).

Furthermore, analysis of *STAT4* polymorphisms (rs10181656, rs7574865, rs7601754, and rs10168266) showed that the rs7574865 GG genotype occurred less frequently in the PA group than in the reference group (46.0% vs. 58.5%, $p = 0.012$) (Table 17).

Table 17. Genotype and allele frequencies of single nucleotide polymorphisms (*STAT4* rs10181656) within PA and reference groups

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group, n (%)	Reference group, n (%)	p-value
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	64 (46.0) ¹	209 (58.5) ¹	0.042
	GT	62 (35.0)	121 (33.9)	
	TT	13 (2.5)	27 (7.6)	
	Total	139 (100)	357 (100)	
	Allele			
	G	190 (68.3)	539 (75.5)	0.022
	T	88 (31.7)	175 (25.5)	

¹ $p = 0.012$ (GG vs. GT+TT); p-value – significance level. Bonferroni corrected the significance level when $p < 0.0125$ (0.05/4).

Binary logistic regression analysis indicated a significant association between the *STAT4* rs7574865 polymorphism and PA. Carriers of the GT or GG genotypes exhibited about a 1.7-fold greater probability of PA compared with TT genotype carriers, according to the dominant genetic model (OR = 1.655; 95% CI: 1.115–2.455; $p = 0.012$) (Table 18).

Table 18. Binary logistic regression analysis of *STAT4* rs7574865 within patients with pituitary adenoma and reference group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>STAT4</i> rs7574865				
Co-dominant	GT vs. TT	1.673 (1.105–2.534)	0.015	586.111
	GG vs. TT	1.572 (0.767–3.225)	0.217	
Dominant	GT+GG vs. TT	1.655 (1.115–2.455)	0.012	584.139
Recessive	GG vs. TT+GT	1.261 (0.631–2.521)	0.512	590.016
Overdominant	GT vs. GG+TT	1.570 (1.053–2.342)	0.027	585.575
Additive	T	1.403 (1.040–1.892)	0.026	585.560

Analysis showed that both the CC genotype and the C allele of the *STAT4* rs10168266 polymorphism occurred significantly less often in patients with PA than in the reference group (50.9% vs. 72.1%, $p = 0.005$; 71.9% vs. 84.6%, $p = 0.004$) (Table 19).

Table 19. Distribution of genotypes and alleles of *STAT4* rs10181656, rs7574865, rs7601754, and rs10168266 polymorphisms within PA and reference group males

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group males, n (%)	Reference group males, n (%)	p-value
<i>STAT4</i> rs7574865	GG	29 (50.9) ¹	98 (72.1) ¹	0.016
	GT	24 (42.1)	34 (25.0)	
	TT	4 (7.0)	4 (2.9)	
	Total	57 (100)	136 (100)	
	Allele			
G	82 (71.9)	230 (84.6)		
	T	32 (28.1)	42 (15.4)	

¹p = 0.005 (CC vs. CT+TT); p-value – significance level. Bonferroni corrected the significance level when p < 0.0125 (0.05/4).

Carriers of the *STAT4* rs10168266 CC+CT genotypes had approximately a 2.5-fold higher likelihood of developing PA compared with individuals with the TT genotype (OR = 2.490; CI: 1.313–4.724; p = 0.005) (Table 20).

Table 20. Binary logistic regression analysis of *STAT4* rs10168266 within males with pituitary adenoma and reference group males

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>STAT4</i> rs10168266				
Co-dominant	CT vs. TT	2.385 (1.224–4.647)	0.011	230.229
	CC vs. TT	3.379 (0.795–14.356)	0.099	
Dominant	CT+CC vs. TT	2.490 (1.313–4.724)	0.005	228.441
Recessive	CC vs. TT+AT	2.491 (0.601–10.325)	0.209	234.711
Overdominant	CT vs. CC+TT	2.182 (1.135–4.194)	0.019	230.833
Additive	T	2.122 (1.244–3.620)	0.006	228.556

Serum levels of *STAT4* were measured in individuals with PA and in the reference group. The results indicated significantly elevated *STAT4* concentrations in PA patients compared with controls (median [IQR]: 1.434 [2.498] ng/mL vs. 0.352 [0.382] ng/mL, p < 0.001).

Furthermore, genetic variants *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, and *AIP* rs267606574 were analyzed in the study population. The comparison between the PA and reference groups showed no significant differences in genotype or allele frequencies for these SNPs (Table 21).

Table 21. Genotype and allele frequencies of single nucleotide polymorphisms (*SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, and *AIP* rs267606574) within PA and reference groups

Gene, SNP	Genotype, allele	PA group, n (%)	Reference group, n (%)	p-value
<i>SSTR2</i> rs2236750	AA	43 (33.6)	118 (43.4)	0.125
	AG	73 (57.0)	126 (46.3)	
	GG	12 (9.4)	28 (10.3)	
	Total Allele	128 (100)	272 (100)	
	A	159 (62.1)	362 (66.5)	0.220
G	97 (37.9)	182 (33.5)		
<i>SSTR5</i> rs34037914	CC	114 (89.1)	238 (87.5)	0.322
	CT	12 (9.4)	33 (12.1)	
	TT	2 (1.6)	1 (0.4)	
	Total Allele	128 (100)	272 (100)	
	C	240 (93.8)	509 (93.6)	0.921
T	16 (6.2)	35 (6.4)		
<i>AIP</i> rs267606574	TAC	128 (100)	272 (100)	1.000
	Total Allele	128 (100)	272 (100)	
	T	128 (33.3)	272 (33.3)	1.000
	A	128 (33.3)	272 (33.3)	
	C	128 (33.3)	272 (33.3)	

Binary logistic regression analysis suggested a potential association between the *SSTR2* rs2236750 polymorphism and PA. Specifically, the AG genotype was linked to an approximately 1.6-fold increase in the odds of PA under both the codominant (AG vs. AA) and overdominant (AG vs. AA+GG) inheritance models (OR = 1.602; 95% CI: 1.015–2.527; p = 0.043; OR = 1.550; 95% CI: 1.013–2.373; p = 0.044, respectively). However, these associations were no longer statistically significant after Bonferroni correction (Table 22).

Table 22. Binary logistic regression analysis within patients with pituitary adenoma and reference group subjects

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>SSTR2</i> rs2236750				
Codominant	AG vs. AA	1.602 (1.015–2.527)	0.043	498.138
	GG vs. AA	1.170 (0.543–2.522)	0.688	
Dominant	AG+GG vs. AA	1.524 (0.980–2.371)	0.062	496.848
Recessive	AA vs. GG+AG	0.890 (0.435–1.822)	0.749	500.300
Overdominant	AG vs. AA+GG	1.550 (1.013–2.373)	0.044	496.298
Additive	G	1.241 (0.892–1.725)	0.200	498.760

Table 22. Continued

Model	Genotype/allele	OR (95% CI)	p-value	AIC
<i>SSTR5</i> rs34037914				
Codominant	CT vs. CC	0.781 (0.387–1.576)	0.490	500.343
	TT vs. CC	4.348 (0.384–49.187)	0.235	
Dominant	CT+TT vs. CC	0.887 (0.456–1.725)	0.724	500.277
Recessive	TT vs. CC+CT	4.447 (0.393–50.299)	0.228	498.834
Overdominant	CT vs. CC+TT	0.772 (0.383–1.557)	0.470	499.865
Additive	T	0.999 (0.550–1.814)	0.997	500.404

CONCLUSIONS

1. *TERC* rs35073794 was found to be associated with the occurrence of PA, with the AG genotype being significantly more frequent in the PA group and associated with an increased odds of disease development. Also, AG genotype was associated with a higher odds of macroadenoma and a lower odds of microadenoma occurrence; however, no significant associations were observed with PA activity, invasiveness, or recurrence. No statistically significant associations were identified between *TEP1* and *TERT* genetic variants and PA occurrence or clinical characteristics.
2. *TERF1* rs1545827 T allele and CT+TT genotypes were associated with decreased odds of PA occurrence, whereas the *TNKS2* rs10509637 G allele and GG genotype were associated with an increased odds of PA development. Serum analysis demonstrated that TERF2 concentration was significantly higher in the PA group, while TERF1 and CTC1 concentrations were significantly lower compared with the reference group. Relative leukocyte telomere length was also longer in the PA group than in the reference group. No statistically significant associations were found between *TNKS2*, *CTC1*, *ZNF676*, *TERF1*, or *TERF2* genetic variants and PA activity, invasiveness, recurrence or size.
3. *STAT4* rs7574865 GT+GG genotypes were associated with an increased odds of PA occurrence. In the male subgroup, an additional significant association was observed with *STAT4* rs10168266 CC+CT genotypes. Serum STAT4 protein concentration was significantly higher in the PA group compared with the reference group. No statistically significant associations were identified between *STAT4* haplotypes and PA activity, invasiveness, recurrence or size.

4. After Bonferroni correction, no statistically significant associations were found between *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, and PA occurrence. No significant associations were observed between these variants and tumor proliferative activity as assessed by the Ki-67 proliferation index. Serum concentrations of *SSTR2*, *SSTR5*, and AIP proteins did not differ significantly between the PA and reference groups. In the majority of tumors, the Ki-67 proliferation index was < 1%, and no statistically significant associations were found with PA activity, invasiveness, recurrence, or tumor size.

BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS

1. Lu L, Wan X, Xu Y, Chen J, Shu K, Lei T. Prognostic factors for recurrence in pituitary adenomas: recent progress and future directions. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(4):977.
2. Gupta T, Chatterjee A. Modern radiation therapy for pituitary adenoma: review of techniques and outcomes. *Neurol India*. 2020;68(Suppl):S113–S122.
3. Møller MW, Andersen MS, Glinborg D, Pedersen CB, Halle B, Kristensen BW, et al. Pituitary adenoma. *Ugeskr Laeger*. 2019;181(20):V05180331.
4. Russ S, Anastasopoulou C, Shafiq I. Pituitary adenoma. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
5. Hashmi FA, Shamim MS. Pituitary adenoma: a review of existing classification systems based on anatomic extension and invasion. *J Pak Med Assoc*. 2020;70(2):368–370.
6. Molitch ME. Diagnosis and treatment of pituitary adenomas: a review. *JAMA*. 2017;317(5):516–524.
7. Melmed S, Kaiser UB, Lopes MB, Bertherat J, Syro LV, Raverot G, et al. Clinical biology of the pituitary adenoma. *Endocr Rev*. 2022;43(6):1003–1037.
8. Peculis R, Niedra H, Rovite V. Large scale molecular studies of pituitary neuroendocrine tumors: novel markers, mechanisms and translational perspectives. *Cancers (Basel)*. 2021;13(6):1395.
9. McCormack A, Dekkers OM, Petersenn S, Popovic V, Trouillas J, Raverot G, et al. Treatment of aggressive pituitary tumours and carcinomas: results of a European Society of Endocrinology (ESE) survey 2016. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(3):265–276.
10. Cai Y, Liu S, Zhao X, Ren L, Liu X, Gang X, et al. Pathogenesis, clinical features, and treatment of plurihormonal pituitary adenoma. *Front Neurosci*. 2024;17:1323883.
11. Melmed S. Pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7:257–266.
12. Kontogeorgos G. Predictive markers of pituitary adenoma behavior. *Neuroendocrinology*. 2006;83(3-4):179–188.
13. Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneanu L, Horvath E, Pernicone PJ, et al. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery*. 1996;38:99–107.
14. Fusco A, Zatelli MC, Bianchi A, Cimino V, Tilaro L, Veltri F, et al. Prognostic significance of the Ki-67 labeling index in growth hormone-secreting pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:2746–2750.
15. Shammas MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011;14(1):28–34.
16. Ma H, Zhou Z, Wei S, Liu Z, Pooley KA, Dunning AM, et al. Shortened telomere length is associated with increased risk of cancer: a meta-analysis. *PLoS One*. 2011;6(6):e20466.
17. Mir SM, Samavarchi Tehrani S, Goodarzi G, Jamalpoor Z, Asadi J, Khelghati N, et al. Shelterin complex at telomeres: implications in ageing. *Clin Interv Aging*. 2020;15:827–839.
18. Bandaria JN, Qin P, Berk V, Chu S, Yildiz A. Shelterin protects chromosome ends by compacting telomeric chromatin. *Cell*. 2016;164(4):735–746.
19. Rice C, Skordalakes E. Structure and function of the telomeric CST complex. *Comput Struct Biotechnol J*. 2016;14:161–167.
20. Martínez P, Blasco MA. Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(3):161–176.

21. Kallingal A, Krzemieniecki R, Maciejewska N, Brankiewicz-Kopcińska W, Baginski M. TRF1 and TRF2: pioneering targets in telomere-based cancer therapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2024;150(7):353.
22. Kang HW, Wang F, Wei Q, Zhao YF, Liu M, Li X, et al. miR-20a promotes migration and invasion by regulating TNKS2 in human cervical cancer cells. *FEBS Lett*. 2012;586(6):897–904.
23. Duseikaite M, Vilkeviciute A, Kunceviciene E, Gedvilaite G, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. Associations between ZNF676, CTC1 gene polymorphisms and relative leukocyte telomere length with myopia and its degree. *Biomedicines*. 2024;12(3):538.
24. Amir M, Khan P, Queen A, Dohare R, Alajmi MF, Hussain A, et al. Structural features of nucleoprotein CST/shelterin complex involved in telomere maintenance and its association with disease mutations. *Cells*. 2020;9(2):359.
25. Rodier F, Kim SH, Nijjar T, Yaswen P, Campisi J. Cancer and aging: the importance of telomeres in genome maintenance. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(5):977–990.
26. de Araújo LJ, Lerario AM, de Castro M, Martins CS, Bronstein MD, Machado MC, et al. Transcriptome analysis showed a differential signature between invasive and non-invasive corticotrophinomas. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:55.
27. Zhou J, Wan F, Wang L, Peng C, Huang R, Peng F. STAT4 facilitates PD-L1 level via IL-12R/JAK2/STAT3 axis and predicts immunotherapy response in breast cancer. *MedComm (2020)*. 2023;4(6):e464.
28. Scarno G, Mazej J, Laffranchi M, Di Censo C, Mattiola I, Candelotti AM, et al. Divergent roles for STAT4 in shaping differentiation of cytotoxic ILC1 and NK cells during gut inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(40):e2306761120.
29. Sohrab SS, Raj R, Nagar A, Hawthorne S, Paiva-Santos AC, Kamal MA, et al. Chronic inflammation's transformation to cancer: a nanotherapeutic paradigm. *Molecules*. 2023;28(11):4413.
30. Kumar U. Somatostatin and somatostatin receptors in tumour biology. *Int J Mol Sci*. 2023;25(1):436.
31. Shimon I. Somatostatin receptors in pituitary and development of somatostatin receptor subtype-selective analogs. *Endocrine*. 2003;20:265–269.
32. Pedraza-Arevalo S, Ibáñez-Costa A, Blázquez-Encinas R, Branco MR, Vázquez-Borrego MC, Herrera-Martínez AD, et al. Epigenetic and post-transcriptional regulation of somatostatin receptor subtype 5 (SST5) in pituitary and pancreatic neuroendocrine tumors. *Mol Oncol*. 2022;16(3):764–779.
33. Si Y, Kim S, Ou J, Lu Y, Ernst P, Chen K, et al. Anti-SSTR2 antibody-drug conjugate for neuroendocrine tumor therapy. *Cancer Gene Ther*. 2021;28(7-8):799–812.
34. Daly AF, Vanbellingen JF, Khoo SK, Jaffrain-Rea ML, Naves LA, Guitelman MA, et al. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(5):1891–1896.
35. Igreja S, Chahal HS, King P, Bolger GB, Srirangalingam U, Guasti L, et al. Characterization of aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) mutations in familial isolated pituitary adenoma families. *Hum Mutat*. 2010;31(8):950–960.
36. Chahal HS, Chapple JP, Frohman LA, Grossman AB, Korbonits M. Clinical, genetic and molecular characterization of patients with familial isolated pituitary adenomas (FIPA). *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21(7):419–427.
37. Korbonits M, Storr H, Kumar AV. Familial pituitary adenomas – who should be tested for AIP mutations? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;77(3):351–356.

38. Ciganoka D, Balcere I, Kapa I, Peculis R, Valtere A, Nikitina-Zake L, et al. Identification of somatostatin receptor type 5 gene polymorphisms associated with acromegaly. *Eur J Endocrinol.* 2011;165(4):517–525.
39. Khurshid Z, Zafar MS, Khan RS, Najeeb S, Slowey PD, Rehman IU. Role of salivary biomarkers in oral cancer detection. *Adv Clin Chem.* 2018;86:23–70.
40. Sharma A, Kumar R, Saini A, Dagar W, Kapoor K, Goel K, et al. Relationship between pituitary gland and stem cell in the aspect of hormone production and disease prevention: a narrative review. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2025;25(7):509–526.
41. Lake MG, Krook LS, Cruz SV. Pituitary adenomas: an overview. *Am Fam Physician.* 2013;88(5):319–327.
42. Inoshita N, Nishioka H. The 2017 WHO classification of pituitary adenoma: overview and comments. *Brain Tumor Pathol.* 2018;35(2):51–56.
43. Peculis R, Niedra H, Rovite V. Large scale molecular studies of pituitary neuroendocrine tumors. *Cancers (Basel).* 2021;13(6):1395.
44. Ruis P, Boulton SJ. The end protection problem – an unexpected twist in the tail. *Genes Dev.* 2021;35(1-2):1–21.
45. Lim CJ, Cech TR. Shaping human telomeres: from shelterin and CST complexes to telomeric chromatin organization. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021;22:283–298.
46. Wu RA, Upton HE, Vogan JM, Collins K. Telomerase mechanism of telomere synthesis. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:439–460.
47. Yang C, Mai H, Peng J, Zhou B, Hou J, Jiang D. STAT4: an immunoregulator contributing to diverse human diseases. *Int J Biol Sci.* 2020;16(9):1575–1585.
48. Faida P, Attiogbe MKI, Majeed U, Zhao J, Qu L, Fan D. Lung cancer treatment potential and limits associated with the STAT family of transcription factors. *Cell Signal.* 2023;109:110797.
49. Hjazi A, Obaid RF, Ali SS, Abdullaev B, Alsaab HO, Huldani H, et al. The cross-talk between lncRNAs and JAK-STAT signaling pathway in cancer. *Pathol Res Pract.* 2023;242:154657.
50. Ravid JD, Leiva O, Chitalia VC. Janus kinase signaling pathway and its role in COVID-19 inflammatory, vascular, and thrombotic manifestations. *Cells.* 2022;11(2):306.
51. Hu X, Li J, Fu M, Zhao X, Wang W. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):402.
52. Orsolini G, Bertoldi I, Rossini M. Osteoimmunology in rheumatoid and psoriatic arthritis: potential effects of tofacitinib on bone involvement. *Clin Rheumatol.* 2020;39:727–736.
53. Zhang JY, Sun JF, Nie P, Herdewijn P, Wang YT. Synthesis and clinical application of small-molecule inhibitors of Janus kinase. *Eur J Med Chem.* 2023;258:115848.
54. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, et al. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):263.
55. Cui Y, Sheng Y, Zhang X. Genetic susceptibility to SLE: recent progress from GWAS. *J Autoimmun.* 2013;41:25-33.
56. Sherry ST, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 2001;29(1):308-311.
57. O’Leary NA, et al. RefSeq database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D733–D745.
58. Cunningham F, et al. Ensembl 2019. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D745–D751.

59. Frankish A, et al. GENCODE reference annotation for the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D766–D773.
60. Kent WJ, et al. The UCSC Genome Browser. *Genome Res.* 2002;12(6):996–1006.
61. Landrum MJ, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D1062–D1067.
62. GTEx Consortium. The GTEx atlas of genetic regulatory effects across tissues. *Science.* 2020;369(6509):1318–1330.
63. Gedvilaite G, Vilkeviciute A, Glebauskiene B, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. Molecular markers of telomerase complex for patients with pituitary adenoma. *Brain Sci.* 2022;12(8):980.
64. Gedvilaite G, Kriauciuniene L, Tamasauskas A, Liutkeviciene R. The influence of telomere-related gene variants, serum levels, and relative leukocyte telomere length in pituitary adenoma occurrence and recurrence. *Cancers (Basel).* 2024;16(3):643.
65. Gedvilaite-Vaicechauskiene G, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. Signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4) association with pituitary adenoma. *Medicina (Kaunas).* 2024;60(11):1871.
66. Gedvilaite-Vaicechauskiene G, Kriauciuniene L, Tamasauskas A, Rovite V, Mandrika I, Wu SN, et al. Pituitary adenoma: SSTR2 rs2236750, SSTR5 rs34037914, and AIP rs267606574 genetic variants, serum levels, and Ki-67 labeling index associations. *Medicina (Kaunas).* 2024;60(8):1252.
67. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(10):e47.
68. Bio-Rad Laboratories. Real-time PCR application guide. 2006. Available from: http://www.biorad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_5279.pdf
69. Salimetrics. Calculating inter- and intra-assay coefficients of variability. Available from: <https://salimetrics.com/calculating-inter-and-intra-assay-coefficients-of-variability/>
70. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ $\Delta\Delta$ CT method. *Methods.* 2001;25(4):402–408.
71. Thermo Scientific. NanoDrop Spectrophotometers: Nucleic Acid Quantification – Purity Ratios (A260/A280, A260/A230). Technical Note.
72. Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
73. Gu C, Li Q, Zhu Y, Qu Y, Zhang G, Wang M, et al. Genetic variants in the TEP1 gene are associated with prostate cancer risk and recurrence. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2015;18(4):310–316.
74. Chang J, Dinney CP, Huang M, Wu X, Gu J. Genetic variants in telomere-maintenance genes and bladder cancer risk. *PLoS One.* 2012;7(2):e30665.
75. Huang P, Li R, Shen L, He W, Chen S, Dong Y, et al. Single nucleotide polymorphisms in telomere length-related genes are associated with hepatocellular carcinoma risk in the Chinese Han population. *Ther Adv Med Oncol.* 2020;12:1758835920933029.
76. Wu D, Zhu G, Zeng J, Song W, Wang K, Wang X, et al. Genetic variations in TERC and TERT genes are associated with renal cell carcinoma risk in a Chinese Han population. *Oncotarget.* 2017;8(44):76832–76842.
77. Li T, Xian Y, Tian T, Zhuang X, Chu M. New evidence of TERT rs2736098 polymorphism and cancer risk: an updated meta-analysis. *J BUON.* 2016;21(2):491–497.

78. Wu H, Qiao N, Wang Y, Jiang M, Wang S, Wang C, Hu L. Association between the telomerase reverse transcriptase (TERT) rs2736098 polymorphism and cancer risk: evidence from a case-control study of non-small-cell lung cancer and a meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(11):e76372.
79. Hashemi M, Amininia S, Ebrahimi M, Hashemi SM, Taheri M, Ghavami S. Association between hTERT polymorphisms and the risk of breast cancer in a sample of Southeast Iranian population. *BMC Res Notes*. 2014;7:895.
80. Tang J, Hu C, Mei H, Peng L, Li H. *CLPTMIL* gene rs402710 (C > T) and rs401681 (C > T) polymorphisms associate with decreased cancer risk: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(60):102446–102457.
81. Litviakov NV, Goncharik OO, Freidin MB, Sazonov AE, Vasil'eva EO, Mezheritskiĭ SA, et al. The estimate of association between gene polymorphisms and the frequency and spectrum of cytogenetic abnormalities in the cohort of Siberian Group of Chemical Enterprises employees exposed to professional irradiation (microarray studies). *Radiats Biol Radioecol*. 2013;53(2):137–150.
82. Lee HW, Park WJ, Heo YR, Park TI, Park SY, Lee JH. *TERT-CLPTMI* locus polymorphism (rs401681) is associated with the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2017;10:4853–4858.
83. Codd V, Mangino M, van der Harst P, Braund PS, Kaiser M, Beveridge AJ, et al. Common variants near *TERC* are associated with mean telomere length. *Nat Genet*. 2010;42(3):197–199. Erratum in: *Nat Genet*. 2010;42(3):following 199. Aviv, Abraham [added]; Kimura, Masayuki [added].
84. Melin BS, Nordfjäll K, Andersson U, Roos G. hTERT cancer risk genotypes are associated with telomere length. *Genet Epidemiol*. 2012;36(4):368–372.
85. Boresowicz J, Kober P, Rusetska N, Maksymowicz M, Goryca K, Kunicki J, et al. Telomere length and TERT abnormalities in pituitary adenomas. *Neuro Endocrinol Lett*. 2018;39(1):49–55.
86. Chang JT, Chen YL, Yang HT, Chen CY, Cheng AJ. Differential regulation of telomerase activity by six telomerase subunits. *Eur J Biochem*. 2002;269(14):3442–3450.
87. Cimino-Reale G, Gandellini P, Santambrogio F, Recagni M, Zaffaroni N, Folini M. miR-380-5p-mediated repression of *TEP1* and *TSPYL5* interferes with telomerase activity and favours the emergence of an “ALT-like” phenotype in diffuse malignant peritoneal mesothelioma cells. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):140.
88. Ma LJ, Wang XY, Duan M, Liu LZ, Shi JY, Dong LQ, et al. Telomere length variation in tumor cells and cancer-associated fibroblasts: potential biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Pathol*. 2017;243(4):407–417.
89. Holesova Z, Krasnicanova L, Saade R, Pös O, Budis J, Gazdarica J, Repiska V, Szemes T. Telomere Length Changes in Cancer: Insights on Carcinogenesis and Potential for Non-Invasive Diagnostic Strategies. *Genes*. 2023;14:715.
90. Crocco P, Barale R, Rose G, Rizzato C, Santoro A, De Rango F, et al. Population-specific association of genes for telomere-associated proteins with longevity in an Italian population. *Biogerontology*. 2015;16:353–364.
91. Váradi V, Brendle A, Brandt A, Johansson R, Enquist K, Henriksson R, et al. Polymorphisms in telomere-associated genes, breast cancer susceptibility and prognosis. *Eur J Cancer*. 2009;45:3008–3016.
92. Zhang X, Yang F, Han N. Recurrence rate and exploration of clinical factors after pituitary adenoma surgery: a systematic review and meta-analysis based on computer artificial intelligence system. *Comput Intell Neurosci*. 2022;2022:6002672.

93. Salhab M, Jiang WG, Newbold RF, Mokbel K. The expression of gene transcripts of telomere-associated genes in human breast cancer: correlation with clinico-pathological parameters and clinical outcome. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;109:35–46.
94. Bhari VK, Kumar D, Kumar S, Mishra R. Shelterin complex gene: prognosis and therapeutic vulnerability in cancer. *Biochem Biophys Rep.* 2021;26:100937.
95. Morcos YAT, Najjar G, Meessen S, Witt B, Azoitei A, Kumar M, et al. A novel tissue and stem cell specific TERF1 splice variant is downregulated in tumour cells. *Int J Mol Sci.* 2020;21(1):85.
96. Heaphy CM, Bi WL, Coy S, Davis C, Gallia GL, Santagata S, et al. Telomere length alterations and ATRX/DAXX loss in pituitary adenomas. *Mod Pathol.* 2020;33:1475–1481.
97. van Steensel B, de Lange T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature.* 1997;385:740–743.
98. Sarapultsev A, Gusev E, Komelkova M, Utepova I, Luo S, Hu D. JAK-STAT signaling in inflammation and stress-related diseases: implications for therapeutic interventions. *Mol Biomed.* 2023;4:40.
99. Hibino S, Kawazoe T, Kasahara H, Itoh S, Ishimoto T, Sakata-Yanagimoto M, et al. Inflammation-induced tumorigenesis and metastasis. *Int J Mol Sci.* 2021;22:5421.
100. Moon CM, Cheon JH, Kim SW, Shin DJ, Kim ES, Shin ES, et al. Association of STAT4 genetic variants with extra-intestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *Life Sci.* 2010;86:661–667.
101. Wang J, Pang GS, Chong SS, Lee CG. SNP web resources and their potential applications in personalized medicine. *Curr Drug Metab.* 2012;13:978–990.
102. Ji JD, Lee WJ, Kong KA, Woo JH, Choi SJ, Lee YH, et al. Association of STAT4 polymorphism with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2010;37:141–147.
103. Sugiura T, Kawaguchi Y, Goto K, Hayashi Y, Tsuburaya R, Furuya T, et al. Positive association between STAT4 polymorphisms and polymyositis/dermatomyositis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:1646–1650.
104. Kim ES, Kim SW, Moon CM, Park JJ, Kim TI, Kim WH, et al. Interactions between IL17A, IL23R, and STAT4 polymorphisms confer susceptibility to intestinal Behcet's disease in Koreans. *Life Sci.* 2012;91:34–40.
105. Wang C, Gao N, Yang L, Guo Y, Fang Y, Wang T, et al. STAT4 rs7574865 polymorphism promotes the occurrence and progression of hepatocellular carcinoma via the STAT4/CYP2E1/FGL2 pathway. *Cell Death Dis.* 2022;13:130.
106. Zhao X, Jiang K, Liang B, Huang X. STAT4 gene polymorphism and risk of chronic hepatitis B-induced hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Cell Biochem Biophys.* 2015;71:353–357.
107. Shi H, He H, Ojha SC, Sun C, Fu J, Yan M, et al. Association of STAT3 and STAT4 polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection and risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Biosci Rep.* 2019;39:BSR20190783.
108. Ma Y, Zhou Y, Zhang H, Su X. Immune response-related genes – STAT4, IL8RA and CCR7 polymorphisms in lung cancer: a case-control study in China. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2020;13:511–519.
109. Bowes J, Ho P, Flynn E, Ali F, Marzo-Ortega H, Coates LC, et al. Comprehensive assessment of rheumatoid arthritis susceptibility loci in a large psoriatic arthritis cohort. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:1350–1354.

110. Myrthianou E, Zervou M, Budu-Aggrey A, Eliopoulos E, Kardassis D, Boumpas D, et al. Investigation of the genetic overlap between rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis in a Greek population. *Scand J Rheumatol*. 2016;46:180–186.
111. Lee HS, Park H, Yang S, Kim D, Park Y. STAT4 polymorphism is associated with early-onset type 1 diabetes, but not with late-onset type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1150:93–98.
112. Bianco B, Fernandes RFM, Trevisan CM, Christofolini DM, Sanz-Lomana CM, de Barnabe JV, et al. Influence of STAT4 gene polymorphisms in the pathogenesis of endometriosis. *Ann Hum Genet*. 2019;83:249–255.
113. Yuan H, Feng JB, Pan HF, Qiu LX, Li LH, Zhang N, et al. A meta-analysis of the association of STAT4 polymorphism with systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol*. 2010;20:257–262.
114. Yang W, Ng P, Zhao M, Hirankarn N, Lau CS, Mok CC, et al. Population differences in SLE susceptibility genes: STAT4 and BLK, but not PXX. *Genes Immun*. 2009;10:219–226.
115. Joshita S, Umemura T, Nakamura M, Katsuyama Y, Shibata S, Kimura T, et al. STAT4 gene polymorphisms are associated with susceptibility and ANA status in primary biliary cirrhosis. *Dis Markers*. 2014;2014:727393.
116. Zhang L, Gao C, Liu C, Chen J, Xu K. Association between STAT4 polymorphisms and risk of primary biliary cholangitis: a meta-analysis. *Genes Genom*. 2018;40:1101–1109.
117. Núñez-Marrero A, Arroyo N, Godoy L, Rahman MZ, Matta JL, Dutil J. SNPs in the interleukin-12 signaling pathway are associated with breast cancer risk in Puerto Rican women. *Oncotarget*. 2020;11:3420–3431.
118. Li Y, Wang J, Chen W, Chen X, Wang J. Overexpression of STAT4 under hypoxia promotes EMT through the miR-200a/STAT4 pathway. *Life Sci*. 2021;273:119263.
119. Li A, Wu J. High STAT4 expression correlates with poor prognosis in acute myeloid leukemia and facilitates disease progression by upregulating VEGFA expression. *Open Med (Wars)*. 2024;19:20230840.
120. Li M, Li J, Ye C, Wu W, Cheng Y. miR-200a-3p predicts prognosis and inhibits bladder cancer cell proliferation by targeting STAT4. *Arch Med Sci*. 2019;15:724–735.
121. Huang Y, Lei Y, Zhang H, Zhang M, Dayton A. Interleukin-12 treatment down-regulates STAT4 and induces apoptosis with increasing ROS production in human natural killer cells. *J Leukoc Biol*. 2011;90:87–97.
122. Ma L, Li G, Su Y, He Q, Zhang C, et al. The soluble MHC class I-related chain A protein reduced NKG2D expression on NK and T cells from patients with prolactinoma and non-secreting pituitary adenoma. *J Clin Neurosci*. 2010;17:241–247.
123. Lamana A, López-Santalla M, Castillo-González R, Ortiz AM, Martín J, García-Vicuña R, et al. The minor allele of rs7574865 in STAT4 is associated with increased mRNA and protein expression. *PLoS One*. 2015;10:e0142683.
124. Blekeris T, Gedvilaite G, Kaikaryte K, Kriauciuniene L, Zaliuniene D, Liutkeviciene R. Association of STAT4 polymorphisms (rs10181656, rs7574865, rs7601754, rs10168266) and serum STAT4 levels in age-related macular degeneration. *Biomedicines*. 2023;12:18.
125. Bruzaite A, Gedvilaite G, Balnyte R, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. Influence of STAT4 genetic variants and serum levels on multiple sclerosis occurrence in the Lithuanian population. *J Clin Med*. 2024;13:2385.

126. Cheok YY, Abdullah S, Wong WF. Transcriptional regulatory network associated with multiple sclerosis pathogenesis. In: *Transcription and translation in health and disease*. Academic Press; 2023. p. 359–368.
127. Salehi F, Agur A, Scheithauer BW, Kovacs K, Lloyd RV, Cusimano M. Ki-67 in pituitary neoplasms: a review – part I. *Neurosurgery*. 2009;65(3):429–437.
128. Grimm F, Maurus R, Beschorner R, et al. Ki-67 labeling index and p53 are non-predictive for invasiveness and tumor size in pituitary adenomas. *Acta Neurochir (Wien)*. 2019;161:1149–1156.
129. Trouillas J, Roy P, Sturm N, et al. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas. *Acta Neuropathol*. 2013;126:123–135.
130. Chatzellis E, Alexandraki KI, Androulakis II, Kaltsas G. Aggressive pituitary tumors. *Neuroendocrinology*. 2015;101:87–104.
131. Petry C, Poli JHZ, de Azevedo Dossin I, Rech CGSL, Pereira Lima JFS, Ferreira NP, et al. Evaluation of the potential of the Ki-67 index to predict tumor evolution in patients with pituitary adenoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(1):320–326.
132. Padrão IL. Adenomas hipofisários: estudo clínico, morfológico e morfométrico; busca de fatores de prognóstico utilizando o método imunistoquímico [dissertation]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas; 2007.
133. Magagna-Poveda A, Leske H, Schmid C, Bernays R, Rushing EJ. Expression of somatostatin receptors, angiogenesis and proliferation markers in pituitary adenomas: an immunohistochemical study with diagnostic and therapeutic implications. *Swiss Med Wkly*. 2013;143:w13895.
134. Tang OY, Chen JS, Monje S, Kumarapuram S, Eloy JA, Liu JK. Comparison of surgical modalities for giant pituitary adenoma: a systematic review and meta-analysis of 1413 patients. *Oper Neurosurg*. 2025;28(1):1–18.
135. Sánchez-Tejada L, Sánchez-Ortiga R, Moreno-Pérez Ó, Montañana CF, Niveiro M, Tritos NA, et al. Pituitary tumor transforming gene and insulin-like growth factor 1 receptor expression and immunohistochemical measurement of Ki-67 as potential prognostic markers of pituitary tumors aggressiveness. *Endocrinol Nutr*. 2013;60(7):358–367.
136. Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol*. 1999;20:157–198.
137. Neto LV, Machado EO, Luque RM, et al. Expression analysis of dopamine receptor subtypes in normal human pituitaries, nonfunctioning pituitary adenomas and somatotropinomas, and the association between dopamine and somatostatin receptors with clinical response to octreotide-LAR in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(6):1931–1937.
138. Wildemberg LEA, Vieira Neto L, Costa DF, Nasciuti LE, Takiya CM, Alves LM, et al. Low somatostatin receptor subtype 2, but not dopamine receptor subtype 2, expression predicts the lack of biochemical response of somatotropinomas to treatment with somatostatin analogs. *J Endocrinol Invest*. 2013;36(1):38–43.
139. Wildemberg LE, Vieira Neto L, Costa DF, et al. Validation of immunohistochemistry for SSTR2A in human somatotropinomas. *J Endocrinol Invest*. 2012;35:580–584.
140. Syro LV, Sundsbak JL, Scheithauer BW, Toledo RA, Camargo M, Heyer CM, et al. Somatotroph pituitary adenoma with acromegaly and autosomal dominant polycystic kidney disease: SSTR5 polymorphism and PKD1 mutation. *Pituitary*. 2012;15(3):342–349.

141. Peculis R, Balceri I, Rovite V, Megnis K, Valtere A, Stukens J, et al. Polymorphisms in MEN1 and DRD2 genes are associated with the occurrence and characteristics of pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol.* 2016;175(2):145–153.
142. Pisarek H, Pawlikowski M, Kunert-Radek J, Radek M. SSTR subtype expression in human pituitary adenomas – immunohistochemistry. *Endokrynol Pol.* 2009;60:240–251.
143. Taboada GF, Luque RM, Bastos W, Guimarães RF, Marcondes JB, Chimelli LM, et al. Quantitative analysis of somatostatin receptor subtype (SSTR1-5) gene expression levels in somatotropinomas and non-functioning pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol.* 2007;156(1):65–74.
144. Horiguchi K, Yamada M, Umezawa R, Satoh T, Hashimoto K, Tosaka M, et al. Somatostatin receptor subtypes mRNA in TSH-secreting pituitary adenomas: a case showing a dramatic reduction in tumor size during short octreotide treatment. *Endocr J.* 2007;54(3):371–378.
145. Hassaneen W, Cahill DP, Fuller GN, Levine NB. Immunohistochemical detection of SSTR-5 in Cushing adenoma. *J Neurooncol.* 2010;98:151–152.
146. Tateno T, Kato M, Tani Y, Oyama K, Yamada S, Hirata Y. Differential expression of somatostatin and dopamine receptor subtype genes in adrenocorticotropin (ACTH)-secreting pituitary tumors and silent corticotroph adenomas. *Endocr J.* 2009;56(4):579–584.
147. Tahir A, Chahal HS, Korbonits M. Molecular genetics of the AIP gene. In: *Progress in Brain Research.* 2010;182:chapter 10.
148. Vierimaa O, Georgitsi M, Lehtonen R, et al. AIP germline mutations predispose to pituitary adenoma. *Science.* 2006;312:1228–1230.
149. Beckers A, Aaltonen LA, Daly AF, Karhu A. Familial isolated pituitary adenomas (FIPA) and AIP mutations. *Endocr Rev.* 2013;34:239–277.
150. Cazabat L, Bouligand J, Salenave S, et al. Germline AIP mutations in apparently sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E663–E670.
151. Georgitsi M, Heliövaara E, Paschke R, et al. Large genomic deletions in AIP in pituitary adenoma predisposition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:4146–4151.
152. Leontiou CA, Gueorguiev M, van der Spuy J, et al. The role of AIP in familial and sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:2390–2401.
153. Tichomirowa MA, Barlier A, Daly AF, et al. High prevalence of AIP mutations in young patients with sporadic pituitary macroadenomas. *Eur J Endocrinol.* 2011;165:509–515.
154. Cuny T, Pertuit M, Sahnoun-Fathallah M, et al. Genetic analysis in young patients with sporadic pituitary macroadenomas. *Eur J Endocrinol.* 2013;168:533–541.
155. Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. Genetic and epigenetic mutations of tumor suppressor genes in sporadic pituitary adenomas. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;386:16–33.
156. Trivellin G, Korbonits M. AIP and its interacting partners. *J Endocrinol.* 2011;210:137–155.
157. Buchbinder S, Bierhaus A, Zorn M, et al. AIP gene mutations are rare in pituitary adenoma patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2008;116:625–628.
158. Barlier A, Vanbellinghen JF, Daly AF, et al. AIP mutations are not highly prevalent among sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1952–1955.

PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA

Leidiniuose, referuojamuose Mokslinės informacijos instituto (Thomson Reuters) duomenų bazėje „ISI Web of Science“ ir turinčiuose citavimo rodiklį:

1. **Gedvilaite G**, Vilkeviciute A, Glebauskiene B, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. Molecular Markers of Telomerase Complex for Patients with Pituitary Adenoma. *Brain Sci.* 2022 Jul 25;12(8):980. doi: 10.3390/brainsci12080980. PMID: 35892421; PMCID: PMC9331889.
2. **Gedvilaite G**, Kriauciuniene L, Tamasauskas A, Liutkeviciene R. The Influence of Telomere-Related Gene Variants, Serum Levels, and Relative Leukocyte Telomere Length in Pituitary Adenoma Occurrence and Recurrence. *Cancers (Basel).* 2024 Feb 2;16(3):643. doi: 10.3390/cancers16030643. PMID: 38339395; PMCID: PMC10854692.
3. **Gedvilaite-Vaicechauskiene G**, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. Signal Transducer and Activator of Transcription 4 (STAT4) Association with Pituitary Adenoma. *Medicina (Kaunas).* 2024 Nov 14;60(11):1871. doi: 10.3390/medicina60111871. PMID: 39597056; PMCID: PMC11596619.
4. **Gedvilaite-Vaicechauskiene G**, Kriauciuniene L, Tamasauskas A, Rovite V, Mandrika I, Wu SN, Huang CW, Poskiene L, Liutkeviciene R. Pituitary Adenoma: *SSTR2* rs2236750, *SSTR5* rs34037914, and *AIP* rs267606574 Genetic Variants, Serum Levels, and Ki-67 Labeling Index Associations. *Medicina (Kaunas).* 2024 Aug 1;60(8):1252. doi: 10.3390/medicina60081252. PMID: 39202532; PMCID: PMC11356775.

Mokslinių konferencijų, kuriose buvo paskelbti disertacijos tyrimų rezultatai, sąrašas:

1. **Gedvilaitė G**, Kriauciūnienė L, Tamašauskas A, Liutkevičienė R. „Genetic insights and telomere length dynamics in pituitary adenomas: TNKS2 rs10509637 as a promising biomarker“. IHSC for All 2024, Kaunas, Lietuva.
2. **Gedvilaitė G**, Kriauciūnienė L, Tamašauskas A, Rovite V, Mandrika I, Wu SN, Huang CW, Poškienė L, Makštienė J, Liutkevičienė R. „Genomic insights into pituitary adenomas: examining the Ki-67 labelling index and the role of SSTR2, SSTR5, AIP polymorphisms“. International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 82nd International Scientific Conference of the University of Latvia, 2024, Riga, Latvija.

3. **Gedvilaitė G**, Glebauskienė B, Kriaučiūnienė L, Liutkevičienė R. „The Role of telomeric repeat binding factor 1 (TERF1) in the hormonal activity of pituitary adenomas“. 8th Baltic Genetics Congress (BGC) 2023, Kaunas, Lietuva.
4. **Gedvilaitė G**, Liutkevičienė R. „Molecular Insights in Pituitary Adenoma Relapse Occurrence“. 11th IBRO World Congress of Neuroscience, 2023, Granada, Ispanija.
5. **Gedvilaitė G**, Liutkevičienė R. „Telomeric Repeat Binding Factor 1 (TERF1) Polymorphisms rs1545827 and rs10107605 Associations with Pituitary Adenoma“. Health for All 2023, Kaunas, Lietuva.
6. **Gedvilaitė G**, Liutkevičienė R. „TNKS2 and TERF1 Gene Polymorphisms Associations with Pituitary Adenoma Recurrence“. 15th International Conference of the Lithuanian Neuroscience Association, 2023, Kaunas, Lietuva.
7. **Gedvilaitė G**, Vilkevičiūtė A, Kriaučiūnienė L, Liutkevičienė R. „The Association between Relative Leukocyte Telomeres Length and TERT Single Nucleotide Polymorphisms and Pituitary Adenoma“. 14th International Conference of the Lithuanian Neuroscience Association, 2022, Vilnius, Lietuva.
8. **Gedvilaitė-Vaicechauskienė G**, Kriaučiūnienė L, Tamašauskas A, Liutkevičienė R. „The Role of STAT4 in Pituitary Adenoma Development“. 16th International Conference of the Lithuanian Neuroscience Association, 2024, Vilnius, Lietuva.

PRIEDAI

1 priedas



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, A. Mickėvičiaus g. 9, LT 44307 Kaunas, tel. (+370) 37 32 68 89; el.paštas: kaunorbtek@ismuni.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2016-12-14 Nr. BE-2-47

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: Hipofizės adenomos molekulinų žymenų paieška ir sąsajos su regos funkcija.	
Protokolo Nr.:	1
Data:	2016-11-25
Versija:	2
Asmens informavimo forma	2016-11-25, versija 2 2016-11-25, versija 1
Pagrindinis tvėriasis:	Prof. Dalia Žaliūnienė
Biomedicininio tyrimo vieta:	LSMUL VŠĮ Kauno klinikos,
Įstaigos pavadinimas:	Akių ligų klinika,
Adresas:	Eivenių g. 2, LT-50009, Kaunas, Lietuva

Išvada:

Kauno regioninio biomedicininio tyrimo etikos komiteto posėdžio, įvykusio **2016 m. gruodžio mėn. 6 d.** (protokolo Nr. BE-10-16) sprendimu pritarta biomedicininio tyrimo vykdymui.

Mokslinio eksperimento vykdytojai įsipareigoja: (1) nedelsiant informuoti Kauno Regioninį biomedicininį Tyrimų Etikos komitetą apie visus nenumatytus atvejus, susijusius su studijos vykdymu, (2) iki sausio 15 dienos - pateikti metinį studijos vykdymo apibendrinimą bei, (3) per mėnesį po studijos užbaigimo, pateikti galutinį pranešimą apie eksperimentą.

Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1.	Prof. Edgaras Stankevičius	Fiziologija, farmakologija	taip
2.	Prof. Skaidrius Miliuskas	Pulmonologija, vidaus ligos	ne
3.	Med. dr. Jonas Andriūškevičius	Chirurgija	taip
4.	Doc. Gintautas Gumbrevičius	Klinikinė farmakologija	taip
5.	Prof. Kestutis Petrikonis	Neurologija	taip
6.	Dr. Ramunė Kasperavičienė	Filologija	taip
7.	Eglė Vaižgėlienė	Visuomenės sveikata	ne
8.	Žydrūnė Luneckaitė	Visuomenės sveikata	taip
9.	Jurga Laurinaitytė	Teisė	ne

Kauno regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininio tyrimų Etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, vaistų tyrinėjimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Kauno RBTEK pirmininkas



Prof. dr. Edgaras Stankevičius



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas. A. Mickevičiaus g. 9, LT 44307 Kaunas, tel. (+370) 37 32 68 89; el.paštas: kaunorbtek@lsmuni.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2025-12-30 Nr. BE-2-140

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Prognozinių žymenų paieška tiriant hipofizės adenomos pasireiškimė dalyvaujančių genų raišką ir funkciją”	
Protokolo Nr.:	1
Data:	2025-11-25
Versija:	2
Asmens informavimo forma <i>sergantiems hipofizės adenoma</i>	Versija: 2a, data: 2025-11-25
Asmens informavimo forma <i>kontrolinei grupei</i>	Versija: 2b, data: 2025-11-25
Asmens informavimo forma <i>genetiniam tyrimui, sergantiems hipofizės adenoma</i>	Versija: 2c, data: 2025-11-25
Asmens informavimo forma <i>genetiniam tyrimui, kontrolinei grupei</i>	Versija: 2d, data: 2025-11-25
Pagrindinis tyrėjas:	Prof. dr. Rasa Liutkevičienė
Biomedicininio tyrimo vieta:	Lietuvos sveikatos mokslų universitetas Neuromokslų instituto
Įstaigos pavadinimas:	Oftalmologijos laboratorija ir Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninė Kauno klinikos Neurologijos klinika
Adresas:	Eivenių g. 2, LT-50161, Kaunas

Išvada:

Kauno regioninio biomedicininis tyrimų etikos komiteto posėdžio, įvykusio **2025 m. gruodžio 9 d.** (protokolo Nr. 2025-BE10-0012) sprendimu pritarta biomedicininio tyrimo vykdymui.

Mokslinio eksperimento vykdytojai įsipareigoja: (1) nedelsiant informuoti Kauno regioninį biomedicininis tyrimų etikos komitetą apie visus nenumatytus atvejus, susijusius su studijos vykdymu, (2) iki sausio 15 dienos – pateikti metinį studijos vykdymo apibendrinimą bei, (3) per mėnesį po studijos užbaigimo, pateikti galutinį pranešimą apie eksperimentą, (4) užregistruoti biomedicininis tyrimą pasirinktoje tyrimų registracijos platformoje prieš įtraukiant pirmąjį tiriamąjį.

Kauno regioninio biomedicininis tyrimų etikos komiteto nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1.	Prof. dr. Edgaras Stankevičius	Medicina	Taip
2.	Prof. dr. Vita Mačiulskienė-Visockienė	Odontologija	Taip
3.	Prof. dr. Lina Jankauskaitė	Medicina	Taip
4.	Doc. dr. Jūratė Gruodė	Medicina	Ne
5.	Eglė Karinauskė	Medicina	Ne
6.	Prof. dr. Eimantas Peičius	Visuomenės sveikata	Taip
7.	Doc. dr. Aušra Urbonienė	Visuomenės sveikata	Taip
8.	Virginijus Jucius	Gamtos mokslai	Taip
9.	Eglė Blaževičienė	Teisė	Ne

Kauno regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininis tyrimų Etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, vaistų tyrinėjimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Kauno RBTEK pirmininkas



Prof. dr. Edgaras Stankevičius

CURRICULUM VITAE

Name, Surname: Greta Gedvilaitė-Vaicechauskienė
Address: Lithuanian University of Health Sciences
A. Mickevičiaus 9, LT-44307, Kaunas, Lithuania
E-mail: greta.gedvilaite-vaicechauskiene@lsmu.lt

Education:

2021–2025 PhD in Biology,
Lithuanian University of Health Sciences (LSMU)
2019–2021 Master’s Degree in Medical biology,
Lithuanian University of Health Sciences (LSMU)
2014–2019 Bachelor’s Degree in Medical and veterinary genetics,
Lithuanian University of Health Sciences (LSMU)

Professional experience:

2017–2021 Laboratory assistant, LSMU Neuroscience Institute,
Ophthalmology laboratory
from 2021 Junios researcher, LSMU Neuroscience Institute,
Ophthalmology laboratory
from 2020 Specialist, LSMU, Department of Research Affairs

Scientific projects:

2023–2025 Lithuania-Latvia-Taiwan project “Role of ryanodine receptors in neuroendocrine tumour development: implications in electrophysiological and molecular tumorigenesis mechanisms”
2023–2026 Lithuanian Research Council project „Search for microbiome and novel metabolomic and immunogenetic markers in patients with age-related macular degeneration“

Professional Memberships and Boards:

from 2019 Lithuanian genetics association member
from 2022 LSMU Ph.D. students’ council member
from 2022 Lithuanian neuroscience association member

Honours and awards: 2rd place winner in the contest LSMU
“Best PhD Student 2024”

PADĖKA

Šio darbo rengimas buvo ilga ir prasminga kelionė, kurios metu sulaukiau daug pagalbos, palaikymo ir įkvėpimo.

Nuoširdžiausiai dėkoju savo darbo vadovei prof. dr. Rasai Liutkevičienei už profesinę kompetenciją, aiškią mokslinę kryptį ir kasdienį palaikymą. Jūsų buvimas šalia, vadovavimas, konstruktyvios pastabos ir pasitikėjimas manimi padėjo nuosekliai augti kaip tyrėjai.

Esu labai dėkinga savo kolegėms ir bičiulėms – dr. Alvitai Vilkevičiūtei bei doktorantėms Kristei Kaikarytei, Akvilei Bružaitai, Monikai Duseikaitei-Vidikei ir Enrikai Pileckaitei – už bendradarbiavimą, idėjas, kritišką žvilgsnį ir jaukią kasdienę laboratorijos atmosferą. Jūsų pagalba ir geranoriškumas buvo neatsiejama šio projekto dalis.

Dėkoju Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Neuromokslų instituto bendruomenei už palankias sąlygas tyrimams bei metodinę pagalbą. Taip pat nuoširdžiai dėkoju visiems klinikų darbuotojams, prisidėjusiems prie tiriamųjų mėginių rinkimo.

Ypatingai dėkoju savo šeimai. Ačiū tėvams – už tai, kad visada tikėjote manimi ir mokėte nepasiduoti. Ačiū sesei, kuri buvo šalia kiekviename etape. Ačiū mano vyrui už kantrybę, supratimą ir tvirtą petį tada, kai jo labiausiai reikėjo. Ir didžiausias ačiū mūsų mažylei Marijai – už švelnumą ir kasdien dovanojamą ramybę. Jūsų meilė ir palaikymas buvo didžiausia motyvacija šio darbo kelyje.