

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И ВОЗРАСТ МАНИФЕСТАЦИИ ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

О.А. КОНЕВА

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: morozova.helga@gmail.com

В статье изучено влияние молекулярно-генетических маркеров факторов некроза опухоли и их рецепторов на возраст появления клинических симптомов генитального эндометриоза.

Ключевые слова: генетические маркеры, генитальный эндометриоз, факторы некроза опухоли.

Эндометриоз – это патологический процесс, при котором за пределами полости матки происходит доброкачественное разрастание ткани, по морфологическим и функциональным свойствам подобное эндометрию [1]. В структуре гинекологической заболеваемости генитальный эндометриоз прочно удерживает третье место после воспалительных заболеваний и миомы матки [2]. Среди женщин репродуктивного возраста эндометриоз встречается с частотой 12-50% и в последние годы число диагностированных случаев заболевания имеет тенденцию к росту [3]. Эндометриоз приводит к значительным нарушениям репродуктивной функции, стойкому болевому синдрому, бесплодию, а в тяжелых случаях – к нарушению функции смежных органов и инвалидизации [4].

В настоящее время многие аспекты этиопатогенеза эндометриоза являются дискуссионными и продолжают оставаться в центре внимания отечественных и зарубежных исследователей [1, 5, 6, 7]. Существует значительное число гипотез возникновения эндометриоза, однако, ни одна из них не стала окончательно доказанной и общепризнанной. Согласно экспериментальным и клиническим данным, значимую роль в развитии эндометриоза играют факторы некроза опухоли [8, 9]. Эти цитокины, обладая провоспалительным, апоптотическим, пролиферативным механизмами действия [10, 11], влияют на развитие и прогрессирование эндометриозных очагов [12, 13].

Важное значение в этиопатогенезе эндометриоза имеют генетические факторы. Изучению генетических основ эндометриоза посвящен ряд работ [14, 1, 15, 16, 17, 18]. Однако, следует отметить, что большинство этих исследований проведены зарубежом и при этом полученные результаты разными группами исследователей противоречивы и не дают однозначного ответа о роли генетических факторов в патогенезе и клинических особенностях эндометриоза.

Роль полиморфных маркеров генов факторов некроза опухоли и их рецепторов в отношении генитального эндометриоза в нашей стране изучена крайне слабо, что диктует необходимость проведения данных исследований в Российской Федерации.

Цель настоящего исследования – изучение влияния молекулярно-генетических маркеров факторов некроза опухоли и их рецепторов на возраст появления клинических симптомов генитального эндометриоза в целом а также в зависимости от стадии распространенности процесса и формы эндометриоза.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 241 женщины с генитальным эндометриозом и 248 женщин популяционного контроля, выделенные из цельной венозной крови. В выборку больных и популяционного контроля включались индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья России и не имеющие родства между собой. Пациентки включались в соответствующую группу больных только после установления диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования. Выборка формировалась на базах гинекологических отделений перинатального центра областной клинической больницы Святите-



ля Иоасафа г.Белгорода и городской больницы №2 г.Белгорода. Оценивался возраст появления основных симптомов генитального эндометриоза: возраст появления первых симптомов, бесплодия, кровомазания, циклических болей, болей постоянного характера, диспареунии и возраст начала гиперменорреи. Параметры распределения данных количественных признаков в исследуемой группе пациенток не соответствовали закону нормального распределения, о чем свидетельствовали значения критерия Шапиро-Уилка $W=0,89-0,96$ с уровнем их статистической значимости $p<0,001$.

Выделение геномной ДНК из периферической крови проводилось методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ генетических полиморфизмов осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. Генотипирование ДНК-маркеров производилось методами анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов и дискриминации аллелей с использованием Tag Map зондов [19].

Формирование базы данных и статистические расчеты осуществлялись с использованием программы «STATISTICA 6.0».

При изучении взаимосвязей генетических полиморфизмов с возрастом манифестации генитального эндометриоза вначале оценивали характер распределения исследуемых признаков с использованием критерия Шапиро-Уилка [20]. Получено, что распределение всех исследуемых количественных признаков (возраст манифестации заболевания, возраст появления основных клинических симптомов) не соответствовало закону нормального распределения и поэтому для их описания применяли медиану (M_e), и интерквартильный размах ($Q_{25}-Q_{75}$), а для сравнительного анализа – критерий Манна-Уитни [20].

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показали, что у женщин с генитальным эндометриозом медиана возраста появления первых симптомов составляет 27,5 лет, медиана возраста формирования бесплодия – 25,0 лет, медиана появления перименструальных кровянистых выделений – 30,0 лет, циклических болей – 30,0 лет, постоянных болей – 32,0 лет, диспареунии – 27,0 лет, и медиана начала гиперменорреи – 40,5 лет.

Проведенные исследования возраста начала клинических проявлений эндометриоза в зависимости от изученных генетических полиморфизмов статистически значимых ассоциаций не выявили (табл. 1).

Далее мы провели анализ ассоциаций генетических полиморфизмов факторов некроза опухоли и их рецепторов с возрастом начала симптомов заболевания в зависимости от стадии распространенности генитального эндометриоза. Для этого исследуемая нами группа больных генитальным эндометриозом ($n=241$) была разделена на 3 подгруппы в соответствии со стадией распространенности эндометриоза: I-ая стадия эндометриоза – 37,76% больных ($n=91$), II –ая стадия эндометриоза – 53,94% больных ($n=130$) и 8,30% больных с III-ей и IV-ой стадиями эндометриоза ($n=20$). Средний возраст больных генитальным эндометриозом различных стадий заболевания составляет: при I-ой стадии – 37,0 лет (нижний квартиль – 32,0 года, верхний квартиль – 43,0 года), при II-ой стадии – 35,0 лет (нижний квартиль – 30,0 лет, верхний квартиль – 44,0 года) и при III-ей и IV-ой стадиях – 32,0 года (нижний квартиль – 28,5 лет, верхний квартиль – 45,0 лет). Следует отметить отсутствие статистически достоверных различий по возрасту между пациентками с различными стадиями эндометриоза ($p>0,77$). Средний возраст манифестации заболевания у больных с различными стадиями эндометриоза составил: при I-ой стадии – 28,0 лет (нижний квартиль – 23,0 года, верхний квартиль – 35,0 лет), при II-ой стадии – 28,0 лет (нижний квартиль – 23,0 года, верхний квартиль – 35,0 лет), при III-ей и IV-ой стадиях – 25,0 лет (нижний квартиль – 21,0 год, верхний квартиль – 29,5 лет). Статистически достоверных различий по возрасту начала заболевания между больными с различными стадиями распространенности эндометриоза не выявлено ($p=0,14-1,00$).

Таблица 1

Ассоциации полиморфизмов -308G/A TNF α , +250A/G Lta ,+36A/G TNFR1, +1663 A/G TNFR2 с количественными показателями, характеризующими возраст появления различных симптомов при эндометриозе, Me (Q25-Q75)

Полиморфизм		возраст появления первых симптомов, лет	возраст формирования бесплодия, лет	возраст появления кровомазания, лет	возраст возникновения циклических болей, лет	возраст появления постоянных болей, лет	возраст появления диспареунии, лет	возраст возникновения гиперменорреи, лет
Локусы	генотипы							
-308G/A TNFα	GG	27,0 (22,0-36,0)	24,0 (22,0-29,0)	30,0 (24,0-39,0)	31,0 (24,0-40,0)	30,0 (23,0-46,0)	28,0 (24,0-33,5)	41,0 (30,0-46,0)
	GA и AA	27,0 (23,0-32,0)	26,0 (24,0-28,0)	30,0 (25,0-33,0)	28,0 (24,0-31,0)	35,0 (32,0-39,0)	26,5 (24,0-31,0)	29,5 (27-41)
	p	0,40	0,43	0,63	0,067	0,60	0,25	0,16
+250A/G Lta	AA	28,0 (22,0-35,5)	25,0 (22-29)	31,0 (23-38)	29,8 (22,0-38,0)	31,0 (23,0-46,0)	26,0 (24,0-33,0)	41,0 (32,0-44,0)
	AG и GG	27,0 (23,0-35,0)	25,0 (22,0-28,0)	30,0 (25,0-37,0)	30,0 (26,0-39,0)	32,0 (25,0-39,0)	28,0 (25,0-33,0)	40,0 (26,0-46,0)
	p	0,94	0,81	0,60	0,45	0,95	0,63	0,82
+36A/G TNFR1	AA	27,0 (22,0-34,5)	25,0 (22,0-29,0)	30,0 (24,0-37,0)	29,5 (25,0-38,5)	25,0 (22,5-30,0)	28,5 (24,0-33,0)	41,0 (39,0-46,0)
	AG и GG	28,0 (23,0-36,0)	25,0 (23,0-28,0)	30,0 (24,0-39,0)	30,0 (24,0-36,0)	32,3 (26,0-46,0)	27,0 (24,0-33,0)	40,0 (27,5-45,5)
	p	0,62	0,97	0,71	0,96	0,17	0,85	0,59
+1663A/G TNFR2	AA	28,0 (23,0-35,0)	26,0 (23,0-29,0)	32,0 (25,0-38,0)	30,0 (24,0-36,0)	31,0 (24,0-33,0)	26,0 (24,0-33,0)	41,0 (32,0-44,0)
	AG и GG	26,0 (22,0-33,0)	24,0 (22,0-28)	28,5 (24,0-37,0)	28,0 (24,0-39,0)	30,0 (23,0-32,5)	27,5 (26,0-33,0)	39,0 (26,0-47,0)
	p	0,23	0,20	0,15	0,81	0,80	0,26	0,73

Изучение характера взаимосвязей генетических полиморфизмов с возрастом появления клинических проявлений генитального эндометриоза среди женщин с I-ой стадией распространенности процесса показало наличие статистически достоверных ассоциаций молекулярно-генетического маркера +36A/G рецептора фактора некроза опухоли 1-го типа с возрастом появления первых симптомов эндометриоза и возрастом начала циклических болей. Установлено, что у больных с I-ой стадией генитального эндометриоза (рис.1), имеющих в генотипе высокопродуктивный аллель +36 G локуса +36A/G TNFR1 (генотипы +36 AG и +36 GG) наблюдается более раннее появление первых симптомов генитального эндометриоза (медиана возраста возникновения первых симптомов заболевания составляет 27,0 лет, нижний квартиль – 21,0 лет, верхний квартиль – 32,0 лет) по сравнению с индивидуумами без этого аллеля (генотип +36 AA TNFR1) (медиана возраста появления первых симптомов составляет 34,5 лет, при интерквартильном размахе – 25,0 – 40,0 лет, $p=0,02$).

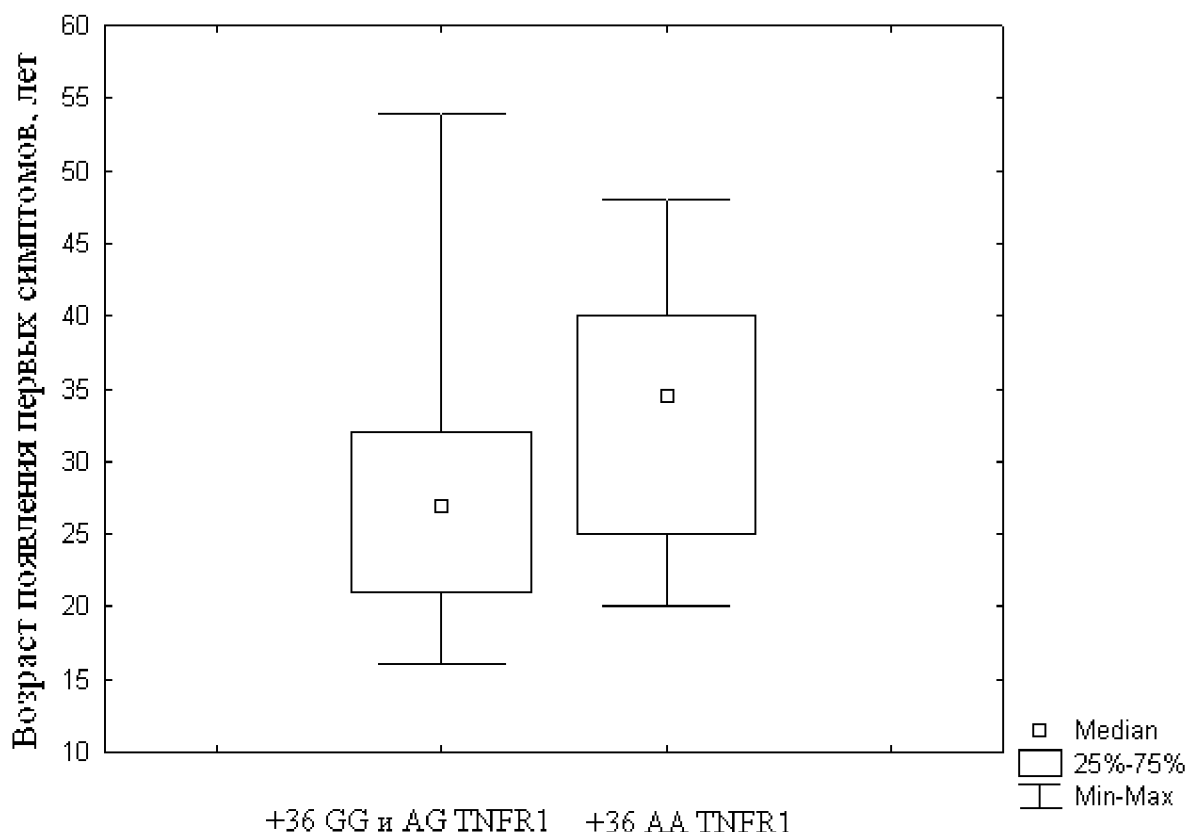


Рис. 1. Возраст появления первых симптомов эндометриоза у больных I-ой стадии распространенности процесса в зависимости от генетического полиморфизма +36A/G рецептора фактора некроза опухоли 1-го типа

Аналогичной направленности данные получены и при анализе возраста появления циклических болей у пациенток с I-ой стадией эндометриоза в зависимости от генетического полиморфизма +36A/G TNFR1. У женщин с высокопродуктивным аллелем +36 G TNFR1 (генотипы +36 AG и +36 GG) возраст появления циклических болей при эндометриозе составляет 28,0 лет, (нижний квартиль – 22,0 года, верхний квартиль – 32,0 года), тогда как у индивидуумов без этого аллеля (генотип +36 AA TNFR1) медиана возраста начала циклических болей равна 39,0 годам, при интерквартильном размахе 37,0 – 41,0 лет ($p=0,01$). В целом в группе женщин с I-ой стадией генитального эндометриоза возраст начала циклических болей составляет 30,0 лет (интерквартильный интервал 24,0 – 38,5 лет).

В группе больных генитальным эндометриозом со II-ой стадией распространенности процесса выявлены ассоциации возраста начала циклических болей с полиморфным маркером фактора некроза опухоли α (-308 G/A TNF α). Получено, что пациентки со II-ой стадией эндометриоза, имеющие высокопродуктивный аллель -308 A

TNF α (генотипы -308 AA и -308 GA) отличаются ранним началом циклических болей (медиана 25,0 лет, интерквартильный размах 24,0-30,0 лет) в сравнении с женщинами с низкопродуктивным генотипом по данному локусу (-308 GG TNF α) (медиана – 32,0 лет, нижний квартиль – 25,5 лет, верхний квартиль – 42,5 лет, $p=0,02$). В целом в группе женщин с генитальным эндометриозом со II-ой стадией распространенности процесса медиана возраста начала циклических болей составляет - 29,3 лет при интерквартильном размахе 24,5 – 36,0 лет.

Анализ взаимосвязей молекулярно-генетических маркеров с возрастом манифестации симптомов генитального эндометриоза у пациенток с III-ей и IV-ой стадиями заболевания выявил статистически достоверные ассоциации генетического полиморфизма -308 G/A фактора некроза опухоли α с возрастом появления первых симптомов. У больных III-ей и IV-ой стадиями генитального эндометриоза с генотипами -308 AA и -308 GA по локусу -308 G/A TNF α возраст манифестации первых симптомов генитального эндометриоза составляет 20,0 лет (нижний квартиль – 13,0 лет, верхний квартиль – 22,0 лет), что достоверно отличается от аналогичного показателя пациенток, имеющих генотип -308 GG TNF α (медиана возраста первых симптомов составляет 27,0 лет, при интерквартильном размахе – 23,0 – 40,0 лет, $p=0,015$).

Для анализа взаимосвязей полиморфных маркеров генов факторов некроза опухоли и их рецепторов с возрастом возникновения симптомов заболевания при различной локализации генитального эндометриоза все пациентки с генитальным эндометриозом в зависимости от локализации гетеротопий были разделены на три группы: больные с эндометриозом яичников (наружный эндометриоз, $n=97$), эндометриозом тела матки (аденомиоз или внутренний эндометриоз, $n=129$) и с эндометриозом яичников и матки одновременно ($n=15$). Выявлено, что в исследуемой нами группе женщин с генитальным эндометриозом наружный эндометриоз наблюдался у 40,25% индивидуумов, аденомиоз – у 53,53% пациенток, эндометриоз яичников и матки – у 6,22% больных.

Проведенное исследование ассоциаций полиморфных генетических маркеров в группах больных с эндометриозом яичников и аденомиозом не выявило статистически значимых взаимосвязей ($p>0,05$) возраста начала клинических проявлений генитального эндометриоза у пациенток с различными вариантами полиморфизмов по локусам -308 G/A TNF α , +250 A/G Lta, +36 A/G TNFR1 и +1663 A/G TNFR2.

Анализ взаимосвязей молекулярно-генетических маркеров с возрастом появления клинических проявлений заболевания в группе пациенток с сочетанным поражением - эндометриозом матки и яичников выявил статистически достоверные ассоциации ($p=0,05$) генетического полиморфизма -308 G/A фактора некроза опухоли α с возрастом появления циклических болей. Установлено, что женщины с эндометриозом яичников в сочетании с аденомиозом, имеющие высокопродуктивный аллель -308 A по локусу -308 G/A TNF α (генотипы -308 GA и -308 AA) отличаются более ранним возрастом появления циклических болей (медиана 24,0 лет, нижний квартиль – 19,0 лет, верхний квартиль – 25,0 лет) по сравнению с пациентками, имеющими низкопродуктивный генотип -308 GG фактора некроза опухоли α (медиана возраста появления циклических болей составляет 36,0 лет, при интерквартильном размахе – 26,0 – 45,0 лет, $p=0,05$). В целом, в группе женщин с эндометриозом яичников в сочетании с аденомиозом медиана возраста возникновения циклических болей составляет – 26,0 лет при интерквартильном размахе 22,0 – 39,0 лет.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о различном характере ассоциаций генетических полиморфизмов факторов некроза опухоли и их рецепторов с возрастом манифестации симптомов генитального эндометриоза у женщин в зависимости от стадии распространенности патологического процесса. При изучении взаимосвязей молекулярно-генетических маркеров с возрастом появления клинических проявлений заболевания при различной локализации генитального эндометриоза установлены ассоциации в группе пациенток с сочетанным поражением - эндометриозом матки и яичников.

Итак, резюмируя полученные в настоящей работе данные, следует отметить, что впервые на выборке из русских жительниц Центрального Черноземья России продемонстрированы значимые взаимосвязи полиморфных маркеров генов фактора некроза опу-



холи α (-308 G/A TNF α), лимфотоксина α (+250 A/G Lta), рецептора фактора некроза опухоли 1-го типа (+36 A/G TNFR1) с возрастом манифестации генитального эндометриоза.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (гос. контракт №ПЗ84 «Разработка молекулярно-генетических основ мультифакториальной патологии человека (на модели генов цитокинов)»).

Литература

1. Адамян, Л.В. Эндометриозы / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. - М.: Медицина, 2006. - С. 411-416.
2. Тихомиров, А.Л. Эндометриоз: этиопатогенез, диагностика и лечение / А.Л. Тихомиров, Д.М. Лубнин // Фарматека. - 2004. - №17(94). - С.50-56.
3. Стрижаков, А.Н. Качество жизни больных наружным генитальным эндометриозом и синдромом хронической тазовой боли при применении гормональной терапии: проблемы и перспективы лечения / А.Н. Стрижаков, Н.М. Подзолкова, О.Л. Глазкова // Вестн. Рос. ассоц. акуш.-гинекол. - 2000. - №3. - С. 86-90.
4. Баскаков, В.П. Эндометриозная болезнь / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелев, Е.Ф. Кира - СПб.: Издательство Н-Л, 2002. - 24 с.
5. Сидорова, И.С. Эндометриоз тела матки и яичников / И.С. Сидорова, Е.А. Коган, А.Л. Унанян. - М., 2007. - 13 с.
6. Бурлев, В.А. Тазовая и внетазовая брюшина: ангиогенная активность и апоптоз у больных с перитонеальной формой генитального эндометриоза / В.А. Бурлев, Н.А. Ильясова, А.В. Бурлев и др. // Пробл. репрод. - 2010. - №4. - С. 7-15.
7. McLeod, B.S. Epidemiology of endometriosis: an assessment of risk factors / B.S. McLeod, M.G. Retzlaff // Clin. Obstet. Gynecol. - 2010. - Vol.53, №2. - P. 389-396.
8. Павлов, Р.В. Особенности клеточного состава перитонеальной жидкости и обмена цитокинов у женщин с наружным генитальным эндометриозом / Р.В. Павлов, В.А. Аксененко, С.А. Сельков и др. // Акушерство и гинекология. - 2009. - №1. - С. 36-40.
9. Гусаева, Х.З., Марченко И.А., Северин Е.С., и др. Некоторые патофизиологические механизмы доброкачественных процессов матки / Х.З. Гусаева, И.А. Марченко, Е.С. Северин // Проблемы репродукции. Спец. Выпуск. - 2006. - 54 с.
10. Harada, T. Apoptosis in human endometrium and endometriosis / T. Harada, A. Kaponis, T. Iwabe et al. // Hum. Reprod. Update. - 2004. - Vol.10, №1 - P. 29-38.
11. Томова, А.С. Роль фактора некроза опухоли α во взаимодействии макро- и микроорганизмом / А.С. Томова, Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Вестн. РАМН. - 2005. - №1. - С. 24-29.
12. Анциферова, Ю.С. Роль цитокинов перитонеальной жидкости в развитии наружного генитального эндометриоза и бесплодия, ассоциированного с эндометриозом / Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, Л.В. Посисеева и др. // Акушерство и гинекология. - 2003, №5. - С. 41-44.
13. Zou, Y.F. Meta-analysis of TNF-alpha promoter -308A/G polymorphism and SLE susceptibility in Asian populations / Y.F. Zou, X.L. Feng, J.H. Tao et al // Rheumatol. Int. - 2010. - Mar 24.
14. Asghar, T. The tumor necrosis factor-alpha promoter -1031C polymorphism is associated with decreased risk of endometriosis in a Japanese population / T. Asghar, S. Yoshida, S. Kennedy et al. // Hum. Reprod. - 2004. - Vol. 19, № 11. - P. 2509-2514.
15. Zhao, Z.Z. Genetic variation in tumour necrosis factor and lymphotoxin is not associated with endometriosis in an Australian sample / Z.Z. Zhao, D.R. Nyholt, L. Le et al. // Hum. Reprod. - 2007. - Vol. 22, №9. - P. 2389-2397.
16. Chae, S.J. Tumor necrosis factor (TNF)-TNF receptor gene polymorphisms and their serum levels in Korean women with endometriosis / S.J. Chae, H. Kim, B.C. Jee et al. // Am. J. Reprod. Immunol. - 2008. - Vol. 60, №5. - P. 432-439.
17. Баранов, В.С. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, А.С. Глотов и др.; под редакцией Баранова В.С., Айламазяна Э.К. - СПб.: ООО Изд-во НЛ, 2009. - 34 с.
18. Сухих, Г.Т. Исследование генетического полиморфизма HLA II класса у пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Г.Т. Сухих, Л.З. Файзуллин, А.В. Квасов и др. // Проблемы репродукции. - 2009. - № 1. - С. 89-91.
19. Hulkkonen, J. Inflammatory Cytokines and Cytokine Gene Polymorphisms in Chronic Lymphocytic Leukaemia, in Primary Sjögren's Syndrome and Healthy Subjects / J. Hulkkonen. - Tampere, 2002. - P.41.



20. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. / О.Ю. Реброва. – М.: Медиасфера, 2006. – 114 с.

GENETIC MARKERS AND AGE OF DEMONSTRATION OF GENITAL ENDOMETRIOSIS

O.A. KONEVA

*Belgorod National
Research University*

e-mail: morozova.helga@gmail.com

In article influence of molecular -genetic markers of tumor necrosis factors and their receptors on age of clinical symptoms demonstration of genital endometriosis is studied.

Key words: genetic markers, genital endometriosis, tumor necrosis factors.