

УДК 618.177-02:618.14-007.61]:575.174.015.3

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TGFB ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗ-АССОЦИИРОВАННОМ БЕСПЛОДИИ

Агаркова Т.А.

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Томск, e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru;  
ФБГУ «НИИАГП» СО РАМН, Томск, e-mail: mailto:agarkina@mail.ru

Проведено клиническое и молекулярно-генетическое обследование 145 больных с генитальным эндометриозом, страдающих бесплодием. Зарегистрировано, что распределение аллельных вариантов полиморфизма гена TGFB среди пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием характеризуется преобладанием генотипа CC и аллеля C полиморфизма C-509T гена TGFB. Выявлена положительная ассоциация эндометриоз-ассоциированного бесплодия с аллелем T и генотипом TT полиморфизма C-509T гена TGFB. В результате исследования нами была установлена ассоциация генотипов полиморфизма C-509T гена TGFB со спаечным процессом органов малого таза различной степени тяжести. Установлено, что у носителей генотипа TT локуса C-509T гена TGFB был выявлен спаечный процесс органов малого таза, в то же время у носителей генотипа CC он отсутствовал.

**Ключевые слова:** бесплодие, генитальный эндометриоз, полиморфизм генов цитокинов, трансформирующий фактор роста-бета, спаечный процесс органов малого таза

## TGFB GENE POLYMORPHISM AT ENDOMETRIOSIS ASSOCIATED INFERTILITY

Agarkova T.A.

Siberian State Medical University of the Russian Federation Ministry of Healthcare Development, ,  
Tomsk, e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru;  
Reseach Institute of obstetrics, gynecology and perinatology Siberian branch of RAS,  
Tomsk, e-mail: mailto:agarkina@mail.ru

Clinical and molecular-genetic examination of 145 infertile patients with genital endometriosis was made. It was registered, that the allocation of allele variants of TGFB gene polymorphism among the patients with endometriosis associated infertility is characterized by the predominance of CC genotype and C allele of TGFB gene C-509T polymorphism. The positive association of endometriosis associated infertility with T allele and TT genotype TGFB gene C-509T polymorphism was revealed. As a result of research the association of TGFB gene C-509T polymorphism genotypes with adhesive process in pelvic organs of varying severity was fixed. It is found that at carriers of TGFB gene C-509T locus TT genotype the adhesive process in pelvic organs was revealed, at the same time at CC genotype carriers it was missing.

**Keywords:** infertility, genital endometriosis, gene polymorphism of cytokines, transformiruyushey growth factor-beta, adhesive process in pelvic organs

Бесплодие является актуальной проблемой современного общества. Прогрессирующее ухудшение репродуктивного здоровья и демографической ситуации в стране позволяют признать проблему фертильности одним из приоритетных клинических и социальных направлений. Медицинская значимость женского бесплодия определяется необходимостью решения ряда вопросов, связанных со своевременной и правильной диагностикой, повышением эффективности его лечения и профилактики [3, 4, 9].

Установлено, что частота бесплодия, превышающая 15%, значительно влияет на демографические показатели, превосходя суммарное воздействие на численность населения невынашивания беременности и перинатальной патологии [3, 7, 8]. Частота бесплодных браков колеблется в широких пределах и не имеет тенденции к снижению во многих странах мира.

Эндометриоз в большинстве случаев сопровождает бесплодие. Наиболее спорными являются причины развития бесплодия

при наружном генитальном эндометриозе, а также патогенетическая связь этих двух состояний. Несмотря на длительную историю изучения эндометриоза, многие стороны этиологии и патогенеза этой болезни остаются на уровне гипотез [5]. Однако до настоящего времени не выработано единой точки зрения на причины развития бесплодия при наружном генитальном эндометриозе [10].

Одной из очевидных причин бесплодия при эндометриозе является «механический фактор», обусловленный развитием спаечно-рубцового процесса в области малого таза, что приводит к нарушению нормальных анатомо-функциональных взаимоотношений между яичником и маточной трубой, вызывает нарушение транспортной функции и проходимости маточных труб [1, 2]. Известно, что TGF-β является противовоспалительным цитокином и участвует в процессах воспаления, тканеобразования, репарации, усиливает рост фибробластов и синтез коллагена, обладает иммуносупрессивным и противовоспалительным

действием. При развитии патологии TGF- $\beta$  является основным медиатором формирования фиброза, с чем связывают возможную роль цитокина в патогенезе эндометриоза [6].

В связи с этим целью настоящего исследования явился анализ функционального полиморфизма гена TGFB при эндометриоз-ассоциированном бесплодии.

### Материал и методы исследования

В исследовании приняли участие 236 пациенток репродуктивного возраста от 25 до 40 лет (средний возраст  $30,22 \pm 0,28$  года), которые были госпитализированы в гинекологическую клинику ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России и в гинекологическое отделение ФГБУ «НИИАГП» СО РАМН в 2010–2012 гг. для выполнения лечебно-диагностической и оперативной лапароскопии и гистероскопии. Показанием к оперативному вмешательству явилось бесплодие. Основную группу составили 145 пациенток с эндометриозом, страдающие бесплодием. Диагноз эндометриоза был поставлен в результате осмотра брюшины и органов малого таза на наличие эндометриозных очагов в ходе эндоскопических методов исследования с последующим гистологическим подтверждением. Группа сравнения была сформирована из 91 пациентки с бесплодием, которым была выполнена диагностическая лапароскопия и исключен генитальный эндометриоз. Лапароскопию и гистероскопию выполняли по стандартной методике с использованием аппаратуры фирмы «KarlStorz» (Германия).

У всех женщин было получено добровольное информированное согласие на забор и использование крови для проведения исследований. Кровь для молекулярно-генетических методов исследования получали из кубитальной вены в стандартных условиях у всех пациенток утром в день операции. Стабилизированные образцы крови хранили при  $-70^\circ\text{C}$  до момента исследования. Выделение ДНК из периферической крови проводили сорбентным методом согласно инструкции, прилагаемой к коммерческому набору «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия). Исследование полиморфных участков генов цитокинов проводили с использованием аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР). Был исследован полиморфный вариант С-509Т гена TGFB, расположенный в промоторном участке гена и отвечающий за уровень экспрессии соответствующего цитокина. Амплификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к коммерческому набору «АмплиСенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф» путём ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе при использовании амплификатора «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия). После проведения ПЦР 8 мкл амплификата разделяли в 2% агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидиум бромид, при напряжении 150 В в течение нескольких мин для последующей визуализации в ультрафиолетовом свете, подтверждающей наличие продукта амплификации. В качестве маркера размера ДНК использовали плазмидур UC19, расщепленную рестриктазой MspI («Сибэнзим», Россия).

Для проверки нормальности распределения показателей использовали критерий Колмогорова-Смирнова; равенство выборочных средних проверяли по t-критерию Стьюдента (в случае нормального

распределения) и U-критерию Манна–Уитни (при отклонении распределения от нормального). Для анализа ассоциации маркеров исследуемых генов с эндометриозом сравнивали частоты аллелей и генотипов в группах женщин, используя критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации разных генотипов и аллелей с заболеванием судили по величине отношения шансов (oddsratio (OR)) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI).

### Результаты исследования и их обсуждение

В патогенезе генитального эндометриоза важная роль принадлежит нарушениям иммунного гомеостаза, в том числе и генетически обусловленным, предрасполагающим к определенному ответу иммунной системы на формирование эндометриозных гетеротопий, их инвазию и распространение. В последние годы большое внимание уделяется изучению роли полиморфизма генов цитокинов в механизмах формирования эндометриозных очагов [1, 4, 9].

Нами были получены следующие результаты. Для полиморфизма С-509Т гена TGFB у женщин с бесплодием было выявлено преобладание гомозиготного генотипа СС (62,6%), в то время как редким генотипом оказался ТТ (6,6%), аналогичную тенденцию имело распределение частот встречаемости генотипов в группе пациенток, страдающих эндометриоз-ассоциированным бесплодием (табл. 1).

В то же время у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С-509Т гена TGFB выявлялись значительно чаще ( $\chi^2 = 5,49$ ;  $p < 0,05$ ; и  $\chi^2 = 6,36$ ;  $p < 0,05$  соответственно), чем у пациенток контрольной группы (см. табл. 1).

Было установлено, что концентрация TGF- $\beta$  в сыворотке крови значимо выше в группе пациенток со спаечным процессом ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ). При этом наибольшее содержание интерлейкина в сыворотке крови имело место среди женщин-носителей генотипа ТТ ( $p_{\text{СС/ТТ}} < 0,05$ ;  $p_{\text{ТТ/СТ}} < 0,05$ ).

На следующем этапе нашего исследования был проведен анализ взаимосвязи полиморфизма С-509Т гена TGFB со спаечным процессом органов малого таза у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием (табл. 2).

В результате исследования нами была установлена ассоциация генотипов полиморфизма С-509Т гена TGFB со спаечным процессом органов малого таза различной степени тяжести. У 75 женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием имел место спаечный процесс органов малого таза различной степени. Зарегистрировано, что у 80% носителей генотипа ТТ локуса С-509Т гена TGFB, ответственного за вы-

сокую продукцию TGF-β, был выявлен спаечный процесс органов малого таза, в тоже время у 60,2% носителей генотипа CC он

отсутствовал. Однако среди женщин-носителей генотипа CC спаечный процесс был обнаружен у 39,8% (табл. 2).

**Таблица 1**

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма C-509Тгена TGFβ (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма C-509Тгена TGFβ	Характеристика обследованных лиц		χ <sup>2</sup> , p
	Женщины с бесплодием n = 91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n = 145	
CC	57 (62,60)	71 (49,00)	5,49 p < 0,05
CT	28 (30,80)	53 (36,60)	
TT	6 (6,60)	21 (14,50)	
C	142 (78,00)	194 (67,20)	6,36 p < 0,05
T	40 (22,00)	95 (32,80)	

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при p < 0,05.

**Таблица 2**

Распределение генотипов полиморфизма C-509Тгена TGFβ (абс., %) среди женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием и спаечным процессом органов малого таза

Генотипы полиморфизма C-509Тгена TGFβ	Отсутствие спаечного процесса n = 70		Наличие спаечного процесса n = 75	
	абс.	%	абс.	%
CC	53	60,20	35	39,80
CT	14	33,30	28	66,70
TT	3	20,00	12	80,00

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при p < 0,05. χ<sup>2</sup> = 13,592; p < 0,05; χ<sup>2</sup> = 8,359; p<sub>CC/TT</sub> < 0,05; χ<sup>2</sup> = 8,233; p<sub>CC/CT</sub> < 0,05; χ<sup>2</sup> = 2,674; p<sub>CT/TT</sub> > 0,05.

Таким образом, выявленные нами закономерности позволяют определить вероятность развития не только эндометриоз-ассоциированного бесплодия, но и спаечного процесса органов малого таза, что может быть включено в программу обследования женщин с бесплодием.

**Список литературы**

1. Герасимов А.М. Причины бесплодия при наружном эндометриозе // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 1. – С. 31–35.

2. Корсак В.С. Эндометриоз и ВРТ / В.С. Корсак, О.Е. Васильева, Э.В. Исакова // Проблемы репродукции. – 2006. – № 3. – С. 41–46.

3. Овсянникова Т.В. Эпидемиология бесплодного брака // Практическая гинекология / под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. – М., 2001. – С. 336–382.

4. Bunting L. Fertility knowledge and beliefs about fertility treatment: findings from the International Fertility Decision-making Study [Electronic resource] / L. Bunting, I. Tsibulsky, J. Boivin // Hum. Reprod. – 2012. – URL: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/early/2012/11/25/humrep.des402.long>.

5. Guo S.W. Nuclear Factor-kappaB (NF-kappaB): An Unsuspected Major culprit in the Pathogenesis of Endometriosis

That Is Still at Large? // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2006. – Vol. 63. – P. 71–97.

6. Iwabe T., Harada T., Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility // *Gynec. Obstet. Invest.* – 2002. – Vol. 53, № 1. – P. 19–25.

7. Kamath M.S. Demographics of infertility and management of unexplained infertility / M.S. Kamath, S. Bhattacharya // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2012. – Vol. 26. – P. 729–738.

8. McLaren J.F. Infertility evaluation // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. 39. – P. 453–463.

9. Schmidt L. The psychosocial consequences of infertility and fertility treatment / L. Schmidt, C.S. Sejbæk // *Ugeskr Laeger.* – 2012. – Vol. 174. – P. 2459–2462.

10. Senapati S. Managing endometriosis-associated infertility / S. Senapati, K. Barnhart // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 54. – P. 720–726.

### References

1. Gerasimov A.M. Prichiny besplodija pri naruzhnom jendometrioze // *Rossijskijvestnikakushera-ginekologa.* 2008. no. 1. pp. 31–35.

2. Korsak V.S. Jendometriozii VRT (obzorliteratury) / V.S. Korsak, O.E. Vasil'eva, Je.V. Isakova // *Problemyreprodukcii.* 2006. no. 3. pp. 41–46.

3. Ovsjannikova T.V. Jepidemiologija besplodnogo braka // *Prakticheskajaginekologija / pod red. V.I. Kulakova, B.N. Prilepskoj. M., 2001. pp. 336–382.*

4. Bunting L. Fertility knowledge and beliefs about fertility treatment: findings from the International Fertility Decision-making Study [Electronic resource] / L. Bunting, I. Tsibulsky, J. Boivin // *Hum. Reprod.* – 2012. – URL: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/early/2012/11/25/humrep.des402.long>.

5. Guo S.W. Nuclear Factor-kappaB (NF-kappaB): An Unsuspected Major culprit in the Pathogenesis of Endometriosis That Is Still at Large? // *Gynecol. Obstet. Invest.* 2006. Vol. 63. P. 71–97.

6. Iwabe T., Harada T., Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility // *Gynec. Obstet. Invest.* 2002. Vol. 53. no. 1. pp. 19–25.

7. Kamath M.S. Demographics of infertility and management of unexplained infertility / M.S. Kamath, S. Bhattacharya // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2012. Vol. 26. pp. 729–738.

8. McLaren J.F. Infertility evaluation / J.F. McLaren // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 2012. Vol. 39. pp. 453–463.

9. Schmidt L. The psychosocial consequences of infertility and fertility treatment / L. Schmidt, C.S. Sejbæk // *UgeskrLaeger.* 2012. Vol. 174. pp. 2459–2462.

10. Senapati S. Managing endometriosis-associated infertility / S. Senapati, K. Barnhart // *Clin. Obstet. Gynecol.* 2011. Vol. 54. pp. 720–726.

### Рецензенты:

Сотникова Л.С., д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск;

Воронкова О.В., д.м.н., профессор кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 07.03.2013.