

УДК 618,14

## ВКЛАД ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ СОЧЕТАНИЯ ЭНДОМЕТРИОЗА С МИОМОЙ МАТКИ

И.В. ПОНОМАРЕНКО, И.В. БАТЛУЦКАЯ, Е.Н. КРИКУН, М.И. ЧУРНОСОВ

E-mail: ponomarenko\_i@bsu.edu.ru

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»  
Министерства образования и науки Российской Федерации

*Доброкачественные пролиферативные заболевания матки, к которым относятся миома матки, эндометриоз, занимают лидирующее место в структуре гинекологических заболеваний. Цель исследования заключалась в биоинформатическом исследовании вовлеченности генов-кандидатов в формирование сочетания эндометриоза с миомой матки у женщин. В результате исследования проведено генотипирование 5 молекулярно-генетических маркеров у 109 пациенток, имеющих сочетание эндометриоза с миомой матки и 981 женщины контрольной группы. Установлено, что комбинации молекулярно-генетических маркеров rs466639 с rs713586 и rs10441737 (OR=2,45) и rs466639 с rs3756261 с rs713586 и rs10980926 (OR=1,36) являются факторами риска развития сочетания эндометриоза и миомы матки среди женщин Центрального региона России.*

**Ключевые слова:** эндометриоз, миома матки, сочетанная патология, генетический полиморфизм.

## CONTRIBUTION OF CANDIDATE GENES TO SUSCEPTIBILITY TO DEVELOPMENT OF THE COMBINATION OF ENDOMETRIOSIS TO UTERUS MYOMA

I.V. PONOMARENKO, I.V. BATLUTSKAYA, E.N. CRUKUN, M.I. CHURNOSOV

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State National Research University» of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

*Benign proliferative diseases of the uterus, which include uterine myoma, endometriosis occupy a leading place in the structure of gynecological diseases. The aim of the study was to study the biochemical analysis of the involvement of candidate genes in the formation of a combination of endometriosis with uterine myoma in women. As a result of the study, 5 molecular-genetic markers were genotyped in 109 patients with a combination of endometriosis with uterine myoma and 981 women in the control group. It has been established that the combinations of molecular genetic markers rs466639 crs713586 and rs10441737 (OR = 2,45) and rs466639 crs3756261 crs713586 and rs10980926 (OR = 1,36) are risk factors for the development of a combination of endometriosis and uterine myomas among women in the Central region of Russia.*

**Key words:** endometriosis, uterine myoma, combined pathology, genetic polymorphism.

doi:10.18522/2218-2268-2017-3-43-47

Актуальность доброкачественных пролиферативных заболеваний матки, к которым относятся миома матки, эндометриоз, связана с достаточно высокой распространенностью и коморбидностью этих патологических состояний вследствие общности этиологии и патогенеза, объясняющей сходную в большинстве случаев клиническую картину.

Эндометриоз – процесс, при котором за пределами полости матки происходит доброкаче-

ственное разрастание ткани, по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию [Bruner-Tran et al., 2013]. Данное заболевание встречается у 10 % женщин репродуктивного возраста [Rahmioglu et al., 2015] и является одной из основных причин бесплодия, дисменореи, диспареунии, а также хронических тазовых болей, спаечного процесса органов малого таза, что в совокупности приводит к общему ухудшению качества жизни женщин [Truskinovsky et al., 2014; Ponomarenko et al., 2016].

© Пономаренко И.В., Батлуцкая И.В., Крикун Е.Н., Чурносков М.И., 2017.

Миома матки – одна из наиболее распространенных доброкачественных опухолей женской половой сферы, которая возникает у 20–40 % женщин репродуктивного возраста [Taylor et al., 2015]. Клинические проявления данного заболевания связаны с маточными кровотечениями, болью, сдавливанием смежных органов, невынашиванием беременности [Commandeur et al., 2015; Krivoshei et al., 2015]. Как следствие, миома матки становится главной причиной гистерэктомии во многих странах мира [Пономаренко и соавт., 2016].

Доброкачественные пролиферативные заболевания матки имеют общие звенья патогенеза и поэтому достаточно часто встречаются сочетанно. Так, 27 % женщин с эндометриозом имеют сопутствующую миому матки [Donato et al., 2014].

Одним из факторов, определяющих развитие эндометриоза и миомы матки, может являться возраст менархе и связанные с ним гены-кандидаты [Elks et al., 2010].

Целью исследования явилось биоинформатическое исследование вовлеченности генов-кандидатов в формирование сочетания эндометриоза с миомой матки у женщин.

### Материалы и методы

При проведении настоящего исследования из группы 947 больных с различными гиперпластическими процессами матки были отобраны пациентки, имеющие сочетание эндометриоза с миомой матки ( $n=109$ ). Формирование выборки осуществлялось на базе гинекологического отделения перинатального центра Белгородской областной клинической больницы Святого Иоасафа. Пациенткам с сочетанием миомы матки и эндометриоза было проведено клиническое, клинико-лабораторное обследование, выполнялось ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопия с последующим прицельным диагностическим выскабливанием полости матки и гистологическим исследованием соскоба. Все больные подписали информированное согласие о включении в исследование и использовании полученных данных. Исследование проводилось с соблюдением этических норм, изложенных в WAME (The World Association of Medical Editors). В контрольную группу были включены 981 женщина без пролиферативных заболеваний органов малого таза.

Всем больным эндометриозом и миомой матки проводилось типирование 5 молекулярно-генетических маркеров rs466639 *RXRG*, rs713586 *DNAJC27*, rs10441737 *ZNF483*, rs10980926 *ZNF483*, rs3756261 *EGF*. Выбор данных полиморфных маркеров для исследования обусловлен их значимым регуляторным и экспрессионным потенциалом (HaploReg (v.4,1.) (<http://compbio.mit.edu/HaploReg>)) и важным этиопатогенетическим значением этих генов для гиперпластических заболеваний матки [Commandeur et al., 2015].

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 8–9 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции [Mathew, 1985]. Анализ исследуемых локусов осуществлялся методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с использованием олигонуклеотидных праймеров и зондов.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA for Windows 6,0» и «Microsoft Excel 2007». Для анализа соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому, исходя из равновесия Харди–Вайнберга, использован критерий  $\chi^2$ .

Биоинформатическое исследование проведено с помощью программного обеспечения APSampler [<http://sources.redhat.com/cygwin/>], использующего метод Монте-Карло марковских цепей и байесовскую непараметрическую статистику [Favorov et al., 2005].

### Результаты и обсуждение

Были исследованы 109 больных с эндометриозом и миомой матки и 981 женщина контрольной группы. Основные характеристики исследуемых групп больных и контроля представлены в табл. 1. Группа контроля полностью сопоставима с выборкой больных, имеющих сочетание эндометриоза с миомой матки, по возрастному показателю, национальности и месту рождения.

Анализ распределения изучаемых полиморфных маркеров генов-кандидатов (табл. 2) показал, что для всех изученных локусов в группе больных с миомой матки и гиперпластическими процессами эндометрия, а также в контрольной выборке эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга ( $p>0,05$ ).

Таблица 1

Медико-биологические характеристики пациенток, имеющих сочетание эндометриоза с миомой матки, и контрольной группы

Показатель	Больные с эндометриозом и миомой матки (n =109)	Контрольная группа (n =981)	p
Возраст	42,44±7,81	39,94±9,31	>0,05
Рост	1,66±0,07	1,65±0,06	>0,05
Вес	75,11±13,41	69,69±12,49	>0,05
ИМТ	27,39±5,03	25,69±4,24	>0,05

Таблица 2

Распределение исследуемых генетических полиморфизмов среди пациенток, имеющих сочетание эндометриоза с миомой матки, и контроля

SNP	Минорный аллель	Частый аллель	Распределение генотипов	Наблюдаемая гетерозиготность	Ожидаемая гетерозиготность	P
Больные с эндометриозом и миомой матки(n = 109)						
rs466639	T	C	17/234/836	0,22	0,22	0,89
rs713586	C	T	195/543/348	0,50	0,49	0,53
rs3756261	G	A	2/151/924	0,14	0,13	0,16
rs10980926	A	G	97/478/511	0,44	0,43	0,36
rs10441737	C	T	98/463/446	0,46	0,44	0,17
Контрольная группа(n = 981)						
rs466639	T	C	1/25/82	0,23	0,22	1,00
rs713586	C	T	10/56/43	0,51	0,45	0,21
rs3756261	G	A	0/14/94	0,13	0,12	1,00
rs10980926	A	G	6/44/58	0,41	0,38	0,62
rs10441737	C	T	6/45/54	0,43	0,39	0,47

Повышенный риск развития у женщин сочетания эндометриоза с миомой матки (OR=2,39) также определяется сочетанием четырех генетических маркеров C rs466639 с A rs3756261 с T rs713586 с G rs10980926. Концентрация этой комбинации среди пациенток с эндометриозом и миомой матки (85,85 %) в 1,20 раза превышает аналогичный показатель контрольной группы (71,77%, p=0,0008,  $p_{perm}=0,0012$ , 95% CI 1,36–4,19).

С помощью онлайн сервиса HaploReg (v.4.1.) (<http://compbio.mit.edu/HaploReg>) изучены регуляторный потенциал и влияние на экспрессию генов значимых полиморфизмов, ассоциированных с эндометриозом и миомой матки. Генетический полиморфизм rs466639, локализованный в интронном участке гена *RXRG*, находится в области энхансера 10 типов тканей (в том числе скелетной мускулатуры у женщин, гладких мышц ряда внутренних органов, жировой ткани и др.). При этом альтернативный аллель C данного полиморфизма существенно повышает аффинность регуляторных мотивов ДНК Foxa\_disc3 (PWM=-12,0), GR\_disc5 (PWM=+12,0),

YY1\_known4 (PWM=+9,2). Имеются литературные данные (результаты GWAS исследований) о вовлеченности этого локуса в формирование возраста менархе (p=1E-13 и p=2E-24) [Elks et al., 2010; Perry, 2014].

Высокий регуляторный и экспрессивный потенциал имеет генетический полиморфизм rs713586, находящийся в 8,5 kb от 3' конца гена *DNAJC27*. «Рисковый» аллель этого локуса – T повышает аффинность трех мотивов ДНК – Pbx3\_disc3 (PWM=+0,5), SP2\_disc2 (PWM=+5,2), TATA\_disc1 (PWM=+11,9) к регуляторным влияниям. Данный полиморфный локус ассоциирован с уровнем экспрессии генов *DNAJC27* (p=5,08E-11), *ADCY3* (p=1,61E-35), *RP11-44B20.1* (p=7,17E-22) в клетках крови, гена *POMC* в мышечной ткани (p=1,4E-05). Согласно результатам GWAS-исследований, генетический полиморфизм rs713586 связан с индексом массы тела (p=6E-22) [Speliotes et al., 2011].

Полиморфный локус rs10441737 гена *ZNF483* (интронный регион) ассоциирован с уровнем экспрессии гена *ZNF483* в жировой тка-

ни ( $p=1,94E-9$ ) и имеет существенный регуляторный потенциал – он входит в состав 9 мотивов ДНК. Следует отметить, что аллель С этого локуса повышает аффинность мотивов *Hox10* (PWM=+2,0), *Hoxb8* (PWM=+2,9), *Mef2\_known4* (PWM=+11,1), *Nux6-2* (PWM=+0,6), тогда как альтернативный ему аллель Т связан с повышенной аффинностью мотивов *Fox* (PWM=-10,6), *Pou1+1\_1* (PWM=-11,7), *Pou2f2\_known4* (PWM=-5,4), *Pou13+3* (PWM=-6,5) и *Pou5+1-disc1* (PWM=-7,7). Данный полиморфизм также ассоциирован с возрастом менархе ( $p=4E-15$ ) [Demerath et al., 2013].

Другой значимый полиморфный локус гена *ZNF483* – rs10980926 также ассоциирован с уровнем экспрессии гена *ZNF483* в жировой ткани ( $p=1,12E-0,6$ ), *KIAA0368* в крови ( $p=1,75E-9$ ) и локализован в 9 регуляторных мотивах ДНК. Аллель А ассоциирован с повышенной аффинностью к регуляторным влияниям следующих мотивов: *Irf\_known4* (PWM=+11,9), *Nkx2\_7* (PWM=-12,0), *Nkx2\_9* (PWM=+11,9), *RXRA-disc3* (PWM=+1,7). Тогда как альтернативный ему аллель G связан с повышенной аффинностью мотивов *AD-1\_known4* (PWM=-2,7), *AFF3-disc1* (PWM=-7,7), *BHLHE40-disc1* (PWM=-7,5), *GATA-disc6* (PWM=-11,7), *Mxi1\_known1* (PWM=-3,5), *2EB1\_known4* (PWM=-11,9), *ZEB1\_known5* (PWM=-12,0). Этот генетический полиморфизм вовлечен в формирование возраста менархе ( $p=4E-11$ ) [Elks et al., 2010] и связан с антропометрическими характеристиками в пубертатном возрасте ( $p=2E-7$ ) [Cousminer et al., 2014].

Генетический полиморфизм rs3756261, находящийся в области 1,7 kb от 5' конца гена *EGF*, маркирует регуляторный мотив ДНК *Обох3*. С повышенной аффинностью данного мотива к регуляторным влияниям связан аллель А (PWM=+2,5). *EGF* играет ключевую роль в таких процессах, как пролиферация, дифференциация различных типов клеток, онкогенез [Yarom, Jonker, 2011; Lien et al., 2014]. Следует отметить, что избыточная экспрессия *EGF* коррелируется с увеличением вероятности развития метастазов [Chang et al., 2015].

### Выводы

Таким образом, результаты работы позволяют сделать вывод, что комбинации молекулярно-генетических маркеров rs466639 с rs713586 и rs10441737 (OR=2,45) и rs466639 с rs3756261

с rs713586 и rs10980926 (OR=1,36) являются факторами риска развития сочетания эндометриоза и миомы матки среди женщин Центрального региона России.

### Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Литература

Пономаренко ИВ, Алтухова ОБ, Прощаев КИ, Полоников АВ, Аничков НМ, Чурносов МИ, Шагинян ГГ. Клинические особенности пациенток старших возрастных групп с миомой матки. Успехи геронтологии. 2016; 29(2): 760–763.

Bruner-Tran KL, Herington JL, Duleba AJ, Taylor HS, Osteen KG. Medical Management of Endometriosis: Emerging Evidence Linking Inflammation to Disease Pathophysiology. *Minerva Ginecol.* 2013; 65(2): 199–213.

Chang W-C, Wu S-L, Huang W-C. et al. PTX3 gene activation in EGF-induced head and neck cancer cell metastasis. *Oncotarget.* 2015;6(10): 7741–7757.

Commandeur AE, Styer AK, Teixeira JM. Epidemiological and genetic clues for molecular mechanisms involved in uterine leiomyoma development and growth. *Hum Reprod Update.* 2015; 21(5): 593–615.

Cousminer DL, Stergiakouli E, Berry DJ, et al. Genome-wide association study of sexual maturation in males and females highlights a role for body mass and menarche loci in male puberty. *Human Molecular Genetics.* 2014; 23(16): 4452–4464.

Demerath EW, Liu CT, Franceschini N. Genome-wide association study of age at menarche in African-American women. *Human Molecular Genetics.* 2013; 22(16): 3329–3346.

Donato ND, Seracchioli R. How to Evaluate Adenomyosis in Patients Affected by Endometriosis? Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4146361/> (accessed 12.08.2014).

Elks CE, Perry JR, Sulem P, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2010; 42(12): 1077–1085.

Favorov A, Lvovs D, Speier W, et al. OnionTree XML: A Format to Exchange Gene-Related Probabilities. *Biomol. Struct. Dyn.* 2005;29(2):417–423.

Krivoshei IV, Altuchova OB, Golovchenko OV, Orlova VS, Polonikov AV, Churnosov MI. Genetic factors of hysteroscopy. *Research Journal of Medical Sciences*. 2015; 9(4): 182–185.

Lien G-S, Wu M-S, Bien M-Y, et al. Epidermal Growth Factor Stimulates Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation and Heme Oxygenase-1 Expression via c-Src, NADPH Oxidase, PI3K, and Akt in Human Colon Cancer Cells. *PLoS One*. 2014; 9(8): e104891.

Mathew CG. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. *Methods. Mol. Biol.* 1985; 2: 31–34.

Perry JR. Parent-of-origin specific allelic associations among 106 genomic loci for age at menarche. *Nature*. 2014; 514(7520): 92–97.

Ponomarenko IV, Altuchova OB, Golovchenko OV, Sorokina IN, Polonikov AV, Bushueva OY, Churnosov MI. Molecular-genetic factors of genital endometriosis. *Int. J. of Pharmacy and Technology*. 2016; 8(2): 14190–14195.

Rahmioglu N, Macgregor S, Drong AW, Hedman ÅK, Harris HR, Randall JC, Prokopenko I. Genome-wide

enrichment analysis between endometriosis and obesity-related traits reveals novel susceptibility loci. *Hum Mol Genet*. 2015; 24(4): 1185–1199.

Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, et al. Genome-Wide Association Analysis Identifies Variants Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease That Have Distinct Effects on Metabolic Traits. *PLoS Genet*. 2011; 7(3): e1001324.

Taylor DK, Holthouser K, Segars JH, et al. Recent scientific advances in leiomyoma (uterine fibroids) research facilitates better understanding and management. *List*. 2015; 4: 183.

Truskinovsky AM, Lifschitz-Mercer B, Czernobilsky B. Hyperplasia and carcinoma in secretory endometrium: a diagnostic challenge. *Gynecological Pathology*. 2014; 33(2): 107–113.

Yarom N, Jonker DJ. The role of the epidermal growth factor receptor in the mechanism and treatment of colorectal cancer. *Discov Med*. 2011; 11(57): 95–105.