



ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ЦИТОКИНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАЗМЕРАМИ МИОМАТОЗНЫХ УЗЛОВ, У БОЛЬНЫХ МИОМОЙ МАТКИ

О.Б. АЛТУХОВА
С.С. СИРОТИНА
С.П. ПАХОМОВ
В.С. ОРЛОВА
М.И. ЧУРНОСОВ

Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: sirotina@bsu.edu.ru

В статье изложены результаты исследования полиморфизмов генов цитокинов среди больных миомой матки в зависимости от характера поражения матки миоматозными узлами. Установлены ассоциации генетических полиморфизмов IL-5 (rs2069812), IL-1 α (rs1800587), IL-4 (rs2243250) и SDF-1 (rs1801157) с объемом матки и объемом миоматозных узлов у больных миомой матки.

Ключевые слова: миома матки, генетический полиморфизм, цитокины, миоматозные узлы.

Миома матки занимают ведущее место в структуре общей гинекологической заболеваемости [18]. Принято считать, что миома матки являются гормон-зависимой патологией [6]. Помимо гормональной индукции в генезе доброкачественных пролиферативных заболеваний важное значение имеют процессы, обуславливающие переход нормальных клеток в трансформированные. К таким процессам относят: гормон-независимую пролиферацию, сниженный апоптоз, патологический неоангиогенез и воспаление [7, 10].

Ключевыми звеньями реализации каскада данных механизмов являются процессы взаимодействия широкого спектра цитокинов: факторов некроза опухолей, хемокинов, интерферонов, факторов роста и др. [10]. Эти цитокины, обладая рядом медико-биологических эффектов (регуляция иммунного ответа, участие в воспалительных реакциях, контроль апоптоза, пролиферации и ангиогенеза), могут быть вовлечены в этиопатогенез миомы матки [1, 13].

В настоящее время известно, что полиморфизмы ряда генов имеют важное значение в развитии миомы матки [5, 11; 14, 15, 16, 20]. При этом следует отметить, что большинство работ по изучению генетических механизмов формирования миомы матки проведено за рубежом [19]. Клинико-генетические исследования, которые посвящены молекулярно-генетическим аспектам миомы матки, в России немногочисленны и затрагивают в основном гены интегринов, каталитической субъединицы теломеразы, факторов роста и пролиферации [2, 4, 7, 12]. Вовлеченность генетических полиморфизмов цитокинов в этиопатогенез миомы матки среди населения России изучена крайне слабо.

Целью данного исследования явилось изучение влияния молекулярно-генетических маркеров цитокинов на характер поражения матки миоматозными узлами.

Формирование выборки больных миомой матки (n=227) осуществлялось сплошным методом. В нее включались индивидумы 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. Обследование больных проводилось на базе гинекологического отделения перинатального центра Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа. Пациенткам с миомой матки выполнялось ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопия с последующим прицельным диагностическим выскабливанием полости матки и гистологическим исследованием соскоба. Средний возраст больных миомой матки составил 43,6 \pm 7,1 лет (варьировал от 24 лет до 67 лет).

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 8-9 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществлялось стандартными методами [10].

Анализ всех локусов (rs16944 IL-1 β , rs1800587 IL-1 α , rs2243250 IL-4, rs2069812 IL-5, rs1800795 IL-6, rs4073 IL-8, rs1800872 IL-10, rs1719153 MIP-1, rs909253 LT α , rs2857657 MCP-1, rs4512021 I-TAC, rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1) осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов [4, 6].

Генотипирование ДНК-маркеров производилось методом анализа дискриминации аллелей методом Tag Man зондов (Tag Man). Ассоциации аллелей и генотипов изученных ДНК – маркеров оценивали с помощью анализа таблиц сопряженности 2x2 с расчетом критерия χ^2 с



поправкой Йетса на непрерывность и отношения шансов (OR) с 95% доверительными интервалами (CI). При исследовании показателей объема матки и объема миоматозных узлов у больных с миомой матки использовали медиану (Me) и интерквартильный размах (Q25-Q75), а для сравнительного анализа – критерий Манна-Уитни. («STATISTICA 6.0»).

В результате проведенного исследования установлены ассоциации генетических полиморфизмов *IL-5* (rs2069812), *IL-1α* (rs1800587), *IL-4* (rs2243250) и *SDF-1* (rs1801157) с объемом матки и объемом миоматозных узлов у больных с миомой матки.

Выявлено, что у пациенток с генотипом *CC IL-5* медиана объема матки наибольшая и составляет 235,80 см³ (нижний квартиль – 127,49 см³, верхний квартиль 363,26 см³), тогда как у больных с генетическим вариантом *T IL-5* (генотипы *CT* и *TT IL-5*) данный показатель имеет наименьшее значение и равняется 186,31 см³ (интерквартильный размах 128,49-353,02 см³, $p=0,04$). Также, наряду с этим, женщины с миомой матки, имеющие генотип *CC IL-5*, отличаются наибольшим объемом миоматозных узлов (Me=65,29 см³, нижний квартиль – 14,31 см³, верхний квартиль 142,58 см³) по сравнению с пациентками с генотипами *CT* и *TT* (Me=48,09 см³, интерквартильный размах 26,49-37,17 см³, $p=0,006$) (рис. 1).

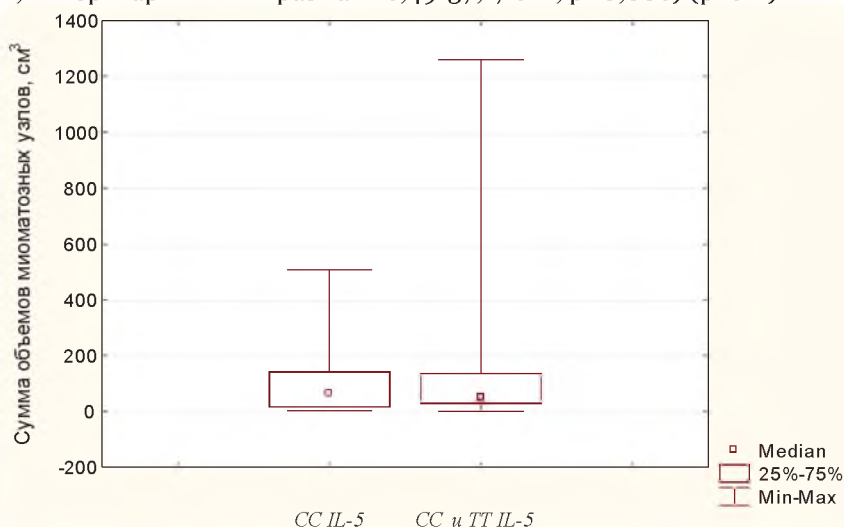


Рис. 1. Связь генетического полиморфизма *IL-5* с.-746 T>C (rs2069812) с объемом миоматозных узлов

Ассоциирован с максимальным объемом миоматозных узлов и генетический вариант *GG SDF-1*: у женщин с этим генотипом объем миоматозных узлов составляет Me=56,76 см³ (интерквартильный размах 16,78-133,27 см³), тогда как у пациенток с генотипами *AG* и *AA SDF-1* данный показатель равен Me=55,30 см³ (нижний квартиль 24,86 см³, верхний квартиль 139,22 см³, $p=0,02$) (рис. 2).

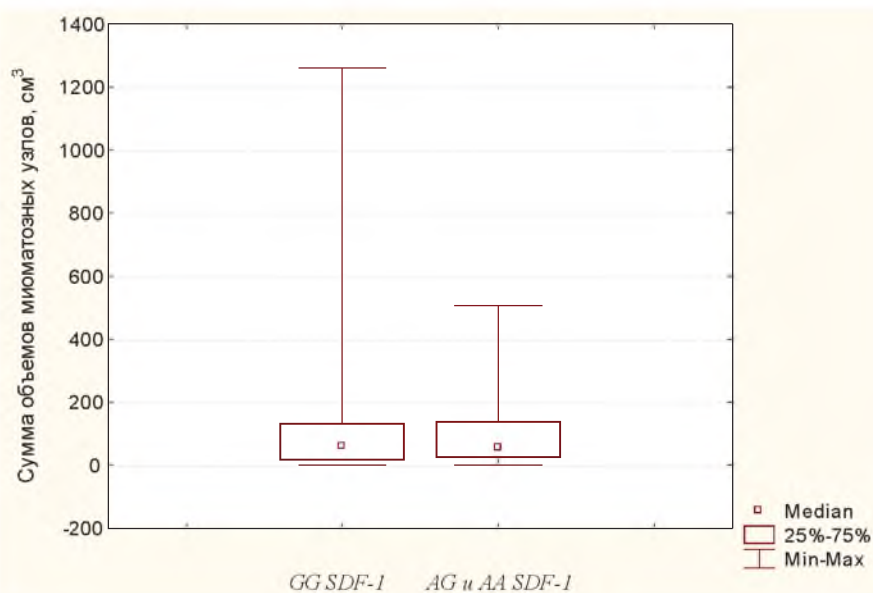


Рис. 2. Объем миоматозных узлов в зависимости от генетического полиморфизма *SDF-1* с.*519 G>A (rs1801157)



Получено, что пациентки с генотипами СТ и ТТ *IL-1α* (рис. 3), а также с генотипами СТ и ТТ *IL-4* (рис. 4) имеют наибольший объем матки – 211,64 см³ (интерквартильный размах 151,15-392,39 см³) и 245,25 см³ (интерквартильный размах 170,05-365,02 см³), соответственно, что статистически значимо ($p=0,04$) отличается от аналогичных данных больных с генотипом СС *IL-1α* (Me=188,94 см³, нижний квартиль 119,68 см³, верхний квартиль 328,80 см³) и генотипом СС *IL-4* (Me=194,63 см³, нижний квартиль 106,29 см³, верхний квартиль 339,94 см³), соответственно.

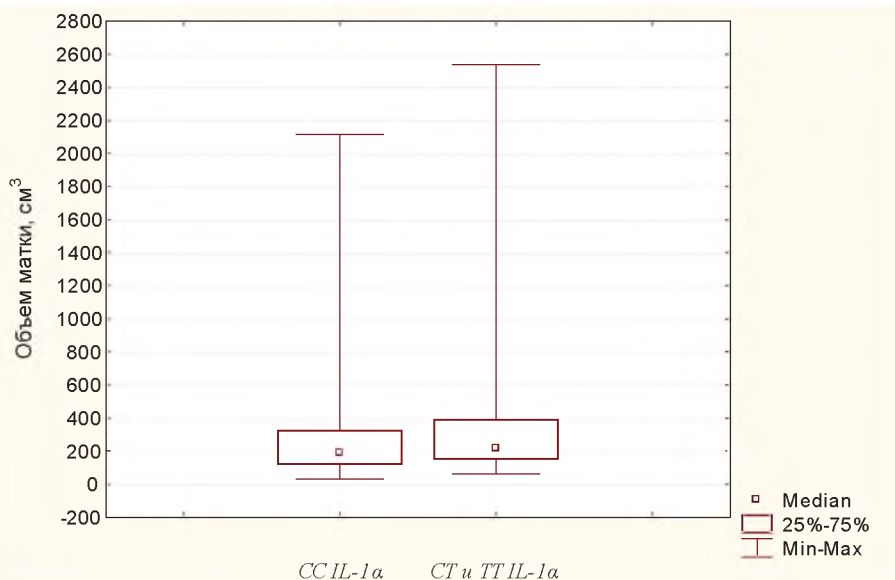


Рис. 3. Ассоциации генетического полиморфизма *IL-1α* с.-889 C>T (rs1800587) с объемом матки у больных миомой матки

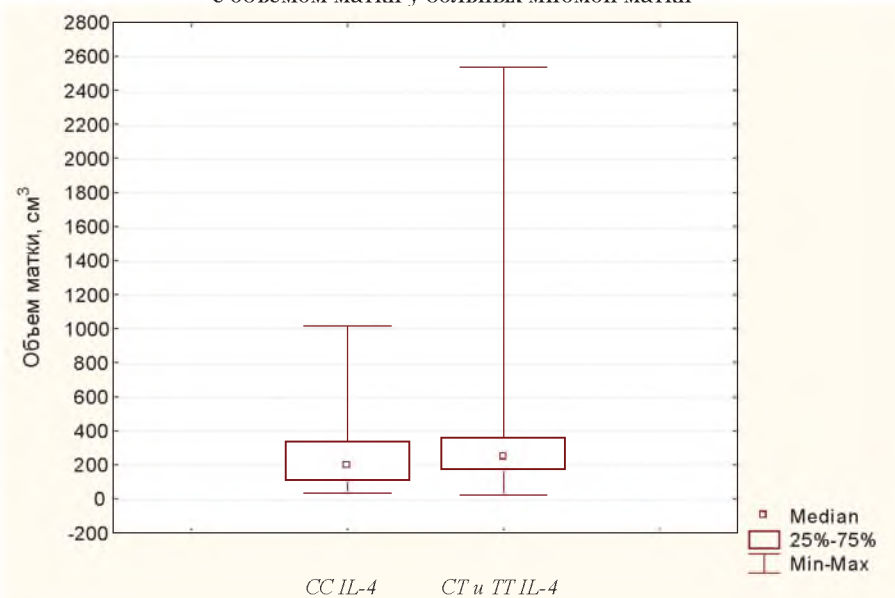


Рис. 4. Объем матки у больных с миомой матки в зависимости от генетических вариантов локуса *IL-4* -584 C/T (rs 2243250)

В основе выявленных связей могут лежать следующие медико-биологические механизмы. Поскольку полиморфизм *IL-1α* с.-889 C>T (rs1800587) лежит в кодирующей последовательности гена, он может затрагивать уровень белковой экспрессии. Из работы Nutyrgova (2002) следует, что у здоровых индивидумов, гомозиготных по аллелю – 889Т *IL-1A*, плазменные уровни *IL-1A* увеличены по сравнению с носителями других генотипов. При этом, согласно литературным данным, интерлейкин 1A, способен активно ингибировать последовательность экспрессии на клетках антигенов гистосовместимости II класса, причем способностью продуцировать *IL-1A* обладает ряд опухолевых клеток, в связи с чем полагают, что продукция *IL-1A* может способствовать пролиферации последних, что может приводить (при повышенной продукции *IL-1A*) к нарушению реализации противоопухолевого ответа, и обуславливать в конечном итоге более тяжелое течение заболевания [3, 17].



Наряду с этим, известно, что полиморфизм *IL-4*-584 C>T (rs2243250) в промоторном регионе гена *IL-4* определяет уровень продукции *IL-4*, промотор с заменой -584T является более активным, менее прочно связывается с транскрипционными факторами, а генетический вариант -584C *IL-4* чаще подвергается транскрипции, то есть является высокопродуктивным [9]. *IL-4* относится к группе противовоспалительных цитокинов, влияет на образование других цитокинов посредством участия в многочисленных биологических процессах, таких как иммунный ответ и воспалительные реакции. Установлено, что клетки большинства опухолей человека продуцируют *IL-4* и его рецепторы, которые отличаются высокой афинностью. Связывание *IL-4* с соответствующим рецептором активирует лимфокин-активированные клетки (ЛИАК), которые подавляют рост опухоли [3]. Наряду с этим известна способность *IL-4* участвовать в механизмах защиты клеток от апоптоза. Полагают, что это может быть прямое антипролиферативное действие, обусловленное блокадой клеточного цикла, или обусловлено его способностью снижать экспрессию некоторых цитокинов [9] и, следовательно, *IL-4* имеет важное значение в патогенезе миомы матки.

Выводы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значимой роли генетических полиморфизмов *IL-5* (rs2069812), *IL-1α* (rs1800587), *IL-4* (rs2243250), *SDF-1* (rs1801157) в характере поражения матки миоматозными узлами. Генетические варианты CC *IL-5*, CT и TT *IL-1A*, CT и TT *IL-4*, GG *SDF-1* ассоциированы с наибольшими размерами матки и миоматозных узлов у пациенток с миомой матки.

**Работа выполнена в рамках государственного задания ФГАОУВПО «НИУ БелГУ»
(тема проекта: Изучение генетических факторов риска развития
мультифакториальных заболеваний человека)**

Литература

1. Гиперплазия эндометрия и воспаление: оценка лейкоцитарной инфильтрации и уровня провоспалительных цитокинов [Текст] / Е. П. Коваленко [и др.] // Здоровье женщины. – 2011. – № 7. – С. 142-145.
2. Имунные и генетические механизмы роста миомы матки [Текст] / Н. В. Кулагина [и др.] // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии : материалы межрегион. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию кафедры перинатологии, акушерства и гинекологии лечеб. фак. КрасГМУ. – Красноярск, 2007. – С. 89-97.
3. Кадагидзе, З. Г. Цитокины / З. Г. Кадагидзе // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4. – № 3. – С. 131-139.
4. Ланчинский, В. И. Генетика и молекулярная биология миомы матки / В. И. Ланчинский, А. И. Ищенко, С. Н. Иллариошкин // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 2. – С. 14-17.
5. Особенности экспрессии некоторых СС- и СХС-хемокинов и их рецепторов у больных гиперплазией эндометрия [Текст] / Н. В. Кирич [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6 (14). – № 2 (1). – С. 74-5.
6. Савицкий, Г. А. Миома матки. Проблемы патогенеза и патогенетической терапии [Текст] / Г. А. Савицкий, А. Г. Савицкий. – 3-е изд. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2003. – 236 с.
7. Состояние процессов пролиферации в гиперплазированной ткани эндометрия у женщин репродуктивного возраста [Текст] / Г. Е. Чернуха [и др.] // Проблемы репродукции. – 2004. – № 4. – С. 30-34.
8. Уровень провоспалительных цитокинов внутриматочных смывов при гиперплазиях эндометрия [Текст] / Е. П. Коваленко [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15. – № 2. – Ч. 1. – С. 151-154.
9. Чайковский, А. В. Роль аллельного полиморфизма гена *IL4* в иммунопатогенезе герпетической инфекции / А. В. Чайковский, К. О. Михеева // Материалы Всероссийской 68-й итоговой студенческой научной конференции им. Н. И. Пирогова, Томск, 20-22 апр. 2009 г. / Сиб. мед. ун-т (Томск), Студ. науч. о-во им. Н. И. Пирогова (Томск) ; ред.: В. В. Новицкий, Л. М. Огородова. – Томск, 2009. – С. 320-321.
10. A prospective study of inflammation markers and endometrial cancer risk in postmenopausal hormone nonusers [Text] / T. Wang [et al.] // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2011. – Vol. 20. – № 5. – P. 971-977.
11. Genetic factors of uterine hyperplastic processes. [Text] / O. B Altuchova [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Nov. – Dec. – 2014. – № 5 (6). – P. 1397-1400.
12. Genetic variations of interleukins are associated with hysterosmyoma developing. [Text] / O. B Altuchova [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Sept. – Oct. – 2014. – № 5 (5). – P. 1065-1068.
13. Analysis of involvement of cytokine genetic polymorphisms in development of genital endometriosis [Text] / M. I Churnosov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Sept. – Oct. – 2014. – № 5 (5). – P. 1027-1031.
14. Associations of cytokines genetic variants with myomatous knots sizes [Text] / M. I Churnosov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Nov. – Dec. – 2014. – № 5 (6). – P.1344-1347.
15. Associations of cytokines genetic polymorphisms with development of endometrial hyperplasia [Text] / N. A. Demakova [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Sept. – Oct. – 2014. – № 5 (5). – P. 1041-1045.



16. Estrogen receptor polymorphisms and the risk of endometrial cancer [Text] / K. A. Ashton [et al.] // BJOG. – 2009. – Vol. 116. – № 8. – P. 1053-1061.
17. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis / B. Hu-tyrová [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 165. – № 2. – P. 148-151.
18. Fibroids and reproductive outcomes: a systematic literature review from conception to deliv-ery. American journal of obstetrics and gynecology / P. C. Klatsky [et al.] – 2008. – 198 (4): 357-366.
19. O'Hara, A. J. The genomics and genetics of endometrial cancer [Text] / A. J. O'Hara, D. W. Bell // Adv. Genomics. Genet. – 2012. – Vol. 2012. – № 2. – P. 33-47.
20. Study of cytokines polymorphous loci connections with rise of endometrium proliferative diseases. [Text] / S. P. Pachomov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, Nov. – Dec. – 2014. – № 5 (6). – P. 1473-1476.

THE ASSOCIATION OF GENETIC VARIANTS OF CYTOKINES WITH THE SIZE OF FIBROIDS IN PATIENTS HYSTEROMYOMA

O.B. ALTUHOVA
S.S. SIROTINA
M.I. CHURNOSOV
S.P. PAHOMOV
V.S. ORLOVA

Belgorod National Research University

e-mail: sirotina@bsu.edu.ru

The article presents the results of a study of polymorphisms of cytokine genes in patients with uterine myoma, depending on the nature of the uterus myoma nodes. Established association of genetic polymorphisms of IL-5 (rs2069812), IL-1 α (rs1800587), IL-4 (rs2243250) and SDF-1 (rs1801157) with a volume of uterine fibroids and volume in patients with uterine myoma.

Key words: uterine fibroids, genetic polymorphisms, cyto-
kines, fibroids.