

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Меньшикова Наталья Сергеевна

**ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НАРУЖНОГО  
ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

14.03.03 – патологическая физиология

14.01.01 – акушерство и гинекология

**Диссертация**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук  
И.О. Наследникова

доктор медицинских наук,  
профессор  
И.Д. Евтушенко

Томск 2013

## Содержание

Список сокращений.....	4
Введение.....	5
<b>Глава 1. Обзор литературы.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1. Общие сведения о генитальном эндометриозе.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1.1. Эпидемиология генитального эндометриоза.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1.2. Клинические особенности генитального эндометриоза.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. Современные представления об этиологии и патогенезе эндометриоза.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.1. Имплантационная (транслокационная) теория развития эндометриоза.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.2. Метапластическая теория происхождения эндометриоза.....</b>	<b>22</b>
<b>1.2.3. Дизонтогенетическая (эмбриональная) теория возникновения эндометриоза.....</b>	<b>23</b>
<b>1.2.4. Гормональная теория патогенеза генитального эндометриоза.....</b>	<b>23</b>
<b>1.2.5. Иммунологическая теория происхождения эндометриоза.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2.6. Развитие эндометриоза как генетически обусловленной патологии.....</b>	<b>26</b>
<b>1.3. Иммунопатогенез генитального эндометриоза.....</b>	<b>27</b>
<b>1.3.1 Роль цитокинов в развитие генитального эндометриоза.....</b>	<b>29</b>
<b>1.4. Молекулярно-генетические аспекты генитального эндометриоза.....</b>	<b>39</b>
<b>1.4.1. Структурные основы функционального полиморфизма генов цитокинов.....</b>	<b>40</b>
<b>1.4.2. Связь полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов с</b>	

развитием заболеваний.....	42
<b>1.4.3. Заключение</b> .....	46
<b>Глава 2. Характеристика клинического материала и методы</b>	
исследования.....	48
<b>2.1. Клиническая характеристика обследованных женщин</b> .....	48
<b>2.2. Лапароскопия</b> .....	50
<b>2.3. Гистологическое исследование операционного</b>	
материала.....	51
<b>2.4. Материал исследования</b> .....	51
<b>2.5. Методы исследования</b> .....	52
<b>2.5.1. Иммуноферментный анализ для оценки уровня цитокинов в</b>	
сыворотке крови.....	52
<b>2.5.2. Выделение ДНК</b> .....	54
<b>2.5.3. Исследование полиморфизма генов цитокинов</b> .....	55
<b>2.6. Статистический анализ результатов</b> .....	58
<b>Глава 3. Результаты собственных исследований</b> .....	60
<b>3.1. Анализ клинических данных обследованных женщин</b> .....	60
<b>3.2. Содержание цитокинов в сыворотке крови у женщин с</b>	
эндометриозом .....	67
<b>3.3. Анализ распределения генотипов и аллельных вариантов генов</b>	
цитокинов у женщин с эндометриозом .....	70
<b>3.4. Связь аллельного полиморфизма иммунорегуляторных генов с</b>	
уровнем содержания цитокинов в сыворотке крови у женщин с	
эндометриозом.....	81
<b>3.5. Комбинации полиморфных вариантов генов цитокинов у женщин с</b>	
эндометриозом.....	91
<b>Глава 4. Обсуждение результатов исследования</b> .....	102
Выводы.....	126
Практические рекомендации.....	128
Список литературы.....	129

## Список сокращений

а.о. – аминокислотный остаток

ГЭ – генитальный эндометриоз

ИФА – иммуноферментный анализ

ММП – матриксные металлопротеиназы

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

ПЦР – полимеразная цепная реакция

AP-1 (activating protein-1) – активированный протеин -1

CD (cluster of differentiation) – дифференцировочные антигены

EGF-R (epidermal growth factor receptor) – рецептор эпидермального фактора роста

IFN (interferon) – интерферон

Ig (immunoglobulin) – иммуноглобулин

IL (interleukin) – интерлейкин

ICAM-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule 1) – молекула клеточной адгезии -1

HLA (human leukocyte antigen) – человеческий лейкоцитарный антиген

MHC (major histocompatibility complex) – главный комплекс гистосовместимости

NF-κB (nuclear factor kappa of activated B cells) – нуклеарный фактора каппа В

NK (natural killers) – натуральные киллеры

mRNA (messenger ribonucleic acid) – матричная рибонуклеиновая кислота

Pg (prostaglandin) – простагландины

SNP (single-nucleotide polymorphism) – полиморфизм единичных нуклеотидов

TGF (transforming growth factor) – трансформирующий фактор роста

TNF (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли

Th1 – Т-лимфоциты хелперы 1 типа

Th2 – Т-лимфоциты хелперы 2 типа

VEGF (vascular endothelial growth factor) – эндотелиальный фактор роста сосудов

## Введение

**Актуальность проблемы.** Несмотря на существенные достижения отечественной и зарубежной медицины и фармакологии, эндометриоз является одной из ведущих проблем современной медико-биологической науки. В структуре гинекологической заболеваемости эта патология занимает третье место после воспалительных заболеваний органов малого таза и миомы матки. Частота эндометриоза среди женщин репродуктивного возраста колеблется в пределах 7-59%. У женщин, страдающих бесплодием, эндометриоз встречается в 25-60%. Больные эндометриозом страдают дисменореей (45-60%), тазовой болью (30-50%), диспареунией (25-40%), нарушениями менструального цикла (10-20%) [Адамян Л.В. и др., 2006; Сонова М. М., 2009; Стрижаков А.Н. и др., 2009; Ozkan S., 2009; Дамиров М.М., 2010; Линде В.А., Татарова Н.А., 2010; Chae S.J. et al., 2010; Taylor E., 2010; Fanta M., 2012; Koninckx P.R. et al., 2012; Wenger J.M. et al., 2012].

Многообразие локализаций очагов эндометриоза обусловило возникновение большого числа гипотез о его происхождении. В последние годы получены убедительные данные, подтверждающие ведущую роль генетических факторов и уточняющие роль дисфункции иммунной и эндокринной систем в развитии этой патологии. Современные исследователи склонны расценивать рост очагов эндометриоза как результат отсутствия адекватного контроля за пролиферацией и дифференцировкой клеток гетеротопий со стороны организма женщины [Адамян и др., 2006; Ярмолинская М.И., 2007, Podgaec S. et al., 2007; Лысенко М.А., 2008; Huang H.Y., 2008; Сонова М.М., 2009; Dun E.C. et al., 2010; Конева О.А., 2011].

Накоплен определенный материал о роли цитокинов, контролирующих процессы апоптоза, пролиферации и дифференцировки, а также обеспечивающих благоприятные условия для внедрения и развития жизнеспособных элементов эндометрия [Адамян Л.В. и др., 2006; Nisolle M., 2007; Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2008; Бурлев В.А. и др., 2010, Wenger J.M. et al., 2009, McLeod B.S. et al., 2010; Gidwaney R. et al., 2012]. Одной из

возможных причин распространения, инвазии и гиперпролиферации эндометриоидных гетеротопий служит дисбаланс Th1- и Th2-цитокинов, особенно на ранних стадиях заболевания. В частности, показано, что генитальный эндометриоз с рецидивирующим течением сопровождаются преимущественной гиперпродукцией цитокинов типа Th2 [Анциферова Ю.С., 2003; Wieser F. et al., 2003; Braundmeier A.G., Nowak R.A., 2006; Huang H.Y., 2008; Hou Z. et al., 2009; He K.L. et al., 2011; Mao T. Et al., 2012].

Установлено, что структурные особенности белковых продуктов полиморфных генов цитокинов ведут к различному качеству иммунного ответа и, соответственно, к различному течению и исходу болезни. Однако вопрос о генетической основе индивидуальных особенностей реагирования системы иммунокомпетентных клеток крови при эндометриозе изучен недостаточно. И имеющиеся на сегодняшний день данные по этому вопросу весьма противоречивы [Стрижаков А.Н., Давыдов А.И., 2006; Nisolle M., 2007; Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2008; Chae S.J. et al., 2010; Peters V.A. et al., 2012; Veillat V. et al., 2012].

В последние годы одним из приоритетных направлений медицины является поиск молекулярно-генетических маркеров различных заболеваний (в том числе эндометриоза), позволяющих формировать группы риска с использованием неинвазивных методов исследования. Формирование этих групп требует методологически правильного подхода, основанного на четком знании факторов, определяющих повышенный риск заболевания [Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002, 2008; Huang H.Y., 2008; Hernández-Valencia M., Zárate A., 2009; Бурлев В.А. и др., 2010; McLeod B.S. et al., 2010; Burney R.O., 2012]. Таким образом, идентификация иммунорегуляторных генов и их продуктов, участвующих в формировании и распространении эндометриоидных гетеротопий, позволит глубже проникнуть в фундаментальные механизмы данной патологии.

**Цель исследования:** выявить иммуногенетические особенности наружного генитального эндометриоза в зависимости от аллельного

полиморфизма генов иммунорегуляторных цитокинов и степени распространения процесса.

**Задачи исследования:**

1. Оценить содержание иммунорегуляторных цитокинов (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) в сыворотке крови у пациенток с наружным генитальным эндометриозом.
2. Изучить распределение аллельных вариантов и генотипов генов *IL2*, *IL4*, *IL10*, *IL12B*, *TNFA*, *TGFB* у пациенток с наружным генитальным эндометриозом.
3. Определить ассоциацию полиморфных генов *IL2*, *IL4*, *IL10*, *IL12B*, *TNFA*, *TGFB* с концентрацией соответствующих цитокинов в сыворотке крови у пациенток с наружным генитальным эндометриозом.
4. Выявить иммуногенетические критерии риска развития и неблагоприятного течения наружного генитального эндометриоза.

**Научная новизна.** С привлечением современных иммуногенетических методов исследования охарактеризована распространенность полиморфных вариантов генов про- и противовоспалительных цитокинов (*T-330G* гена *IL2* (rs2069762), *C-590T* гена *IL4* (rs2243250), *C-592A* гена *IL10* (rs1800872), *A-1188C* гена *IL12B* (rs3212227), *G-308A* гена *TNFA* (rs1800629), *C-509T* гена *TGFB* (rs1800469) у женщин с наружным генитальным эндометриозом разной степени распространения. Выделены генетические факторы цитокинового дисбаланса (повышение концентрации IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  при снижении содержания IL-2 и IL-12  $\beta$  в крови). Показано, что генотипы *TT* (*C-590T*) гена *IL4*, *CC* (*C-592A*) гена *IL10*, *TT* (*C-509T*) гена *TGFB* ассоциированы с повышенной концентрацией, а *GG* (*T-330G*) гена *IL2* и *AA* (*A-1188C*) гена *IL12B* с низким уровнем соответствующих цитокинов в сыворотке крови у женщин с наружным генитальным эндометриозом. Установлена связь аллельного полиморфизма генов иммунорегуляторных цитокинов с наружным генитальным эндометриозом, степенью его распространения, характером течения заболевания. Тяжелое течение

генитального эндометриоза (3-4 степень распространения) ассоциировано с аллелем *T* и генотипом *TT* полиморфизма *C-590T* гена *IL4*. Развитие наружного генитального эндометриоза определено носительством «рисковых» комбинаций полиморфных вариантов генов цитокинов, таких как: *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGA*, *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGG*, *IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TG/IL4TT/IL10AC/TNFAGG*. Комбинация генотипов *TT(T-330G)IL2/TT(C-590T)IL4/CC(C-592A)IL10/GG(G-308A)TNFA* ассоциирована с рецидивирующим течением наружного генитального эндометриоза.

**Практическое и теоретическое значение работы.** Полученные данные фундаментального характера раскрывают новые иммуногенетические аспекты развития наружного генитального эндометриоза. Результаты исследования полиморфизма генов иммунорегуляторных цитокинов (*IL2*, *IL4*, *IL10*, *IL12B*, *TNFA*, *TGFB*) представляются важными для формирования новых знаний о генетически детерминированной предрасположенности или резистентности женщины к развитию эндометриоза, позволяют глубже проникнуть в молекулярные механизмы данной патологии. Практическая значимость исследования состоит в обосновании возможности использования выявленных рискованных сочетаний полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов в диагностике, характеристике распространения и рецидивирования наружного генитального эндометриоза. Основные положения исследования могут служить базисом для создания и внедрения панели иммуногенетических маркеров для эффективной диагностики и выбора рациональной тактики ведения больных.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Изменения в иммунной системе женщин с наружным генитальным эндометриозом характеризуются повышением концентрации IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  и снижением уровня IL-2 и IL-12 $\beta$  в сыворотке крови. При этом у пациенток с тяжелым течением генитального эндометриоза (3-4 степень распространения) содержание IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  в крови



выше, чем у женщин с легким течением заболевания (1-2 степень распространения).

2. Генотипы *GG* полиморфизма *T-330G* гена *IL2*, *TT* полиморфного региона *C-590T* гена *IL4*, *AA* промоторного региона *C-592A* гена *IL10* и *AA G-308A* гена *TNFA* играют важную роль в этиологии и патогенезе наружного генитального эндометриоза, поскольку частота встречаемости данных вариантных генотипов у больных женщин статистически значимо превышает таковую у здоровых.

3. Повышенное содержание *IL-4* в сыворотке крови ассоциировано с генотипом *TT (C-590T)* гена *IL4*; *IL-10* – с *CC (C-592A)* гена *IL10*; *TNF-α* – с *AA (G-308A)* гена *TNFA*; *TGF-β* – с *TT (C-509T)* гена *TGFB*; низкая концентрация *IL-2* сопряжена с генотипом *GG* аллельного полиморфизма (*T-330G*) гена *IL2*, *IL-12β* с генотипом *AA (A-1188C)* гена *IL12B* у женщин с наружным генитальным эндометриозом.

4. Носительство аллеля *T* и генотипа *TT* полиморфизма *C-590T* гена *IL4* ассоциировано с тяжелым течением наружного генитального эндометриоза (3-4 степень распространения).

5. Суммарный предрасполагающий эффект полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов оказывает влияние на формирование предрасположенности к развитию и характеру течения наружного генитального эндометриоза:

- носительство комбинаций *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGA*, *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGG*, *IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TG/TTIL10AC/TNFAGG* увеличивает риск развития генитального эндометриоза;

- рецидивирующее течение генитального эндометриоза характерно для носителей комбинации генотипов *TT(T-330G)IL2/TT(C-590T)IL4/CC(C-592A)IL10/GG(G-308A)TNFA*.

**Реализация и апробация работы.** Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на XI Российском конгрессе с международным

участием молодых учёных и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2010, 2011), на 15-ой международной научно-практической конференции «Клинические и фундаментальные аспекты репродуктивных проблем и здоровья женщины» (Кемерово, 2011), на Всероссийской научно-практической конференции «Новые технологии в перинатологии, репродуктивной медицине и педиатрии» (Новосибирск, 2011), на Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий» (Томск, 2011), на VII международной научно-практической конференции «Образование и наука на XXI век-2011» (София, 2011), на Межрегиональной научно-практической конференции «Амбулаторно-поликлиническая помощь в акушерстве и гинекологии» (Томск, 2011, 2012), на Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: сибирские чтения. Здоровье женщин как национальное достояние» (Новосибирск, 2012), на конференции молодых учёных в рамках международной конференции «Тромбофилические аномалии и акушерские кровотечения» (Томск, 2012), на 8-ой международной научно-практической конференции «Динамика на съвременната наука» (София, 2012), на II-ой Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты репродуктологии» (Иркутск, 2012), на III ежегодной конференции молодых учёных и специалистов «Репродуктивная медицина: взгляд молодых учёных и специалистов» (Санкт-Петербург, 2012), на VII Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Dynamika naukowych badań - 2012» (Przemyśl, 2012), на научных семинарах кафедр патофизиологии и акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск, 2010-2012).

Результаты исследований используются в лекционном курсе по патофизиологии в разделах «Патофизиология клетки», «Патофизиология иммунитета», «Роль наследственности в патологии» и по гинекологии в разделе «Генитальный эндометриоз».

**Личный вклад.** Автор принимал непосредственное участие в разработке идеи и планировании исследования, анализировал литературу. В исследование включено 300 пациенток. Во всех случаях было проведено хирургическое лечение с участием автора. При проведении данного исследования автором самостоятельно выполнены лабораторные методы: иммуноферментный анализ, аллель-специфическая полимеразная цепная реакция. Статистическая обработка полученных данных, обсуждение результатов, оформление диссертации и автореферата выполнены автором лично.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 3 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 1 рисунком и 42 таблицами. Библиографический указатель включает 219 источников, из них 79 отечественных и 140 зарубежных.

## Глава 1. Обзор литературы

### 1.1. Общие сведения о генитальном эндометриозе

Эндометриоз – генетически детерминированное, хроническое, дисгормональное, иммунозависимое заболевание с доброкачественным разрастанием ткани, идентичной по морфологическому строению и функции эндометрию, за пределами слизистой оболочки матки [Адамян Л.В. и др., 2006; Цвелёв Ю.В. и др., 2007; Nisolle M. et al., 2007; Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2008; Дамиров М.М., 2010; Koninckx P.R. et al., 2012; Wenger J.M. et al., 2012].

Согласно современным представлениям о природе эндометриоза, это заболевание следует рассматривать как патологический процесс с хроническим рецидивирующим течением. Эндометриоз формируется и развивается на фоне нарушенных иммунных, молекулярно-генетических и гормональных взаимоотношений в женском организме. Эндометриоидный субстрат имеет признаки автономного роста и нарушения пролиферативной активности клеток [Кузмичев Л.Н. и др. 2001; Сидорова И.С. и др. 2002; Грищенко В.И. и др., 2003; Ищенко А.И. и др., 2007; Nisolle M. et al., 2007; Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2008; Gidwaney R. et al., 2012].

Первое морфологическое описание эндометриоза в медицинской литературе опубликовал V. Rokitansky [1860], который назвал патологическое образование, обнаруженное им в малом тазу женщины, аденомиомой [Адамян Л.В. и др., 2006]. Термин «эндометриоз» в клинической практике предложил J. Sampson в 1925 г. [Sampson J.A., 1925].

Независимо от локализации и размеров эндометриоидных очагов, гистологически эндометриоз характеризуется доброкачественной пролиферацией железистого эпителия, напоминающего функционирующие железы стромы эндометрия. Однако соотношение железистого эпителия и стромы в эндометриоидных гетеротопиях различной локализации неодинаково [Баскаков В.П. и др., 2002.; Цвелёв Ю.В. и др., 2007].

Определенные успехи в исследовании отдельных сторон патогенеза, диагностики и лечения эндометриоза различной локализации, позволили определить термином «эндометриоз» только анатомический субстрат, а заболевание (симптомокомплекс), связанное с этим субстратом, назвать эндометриоидной болезнью. Однако в современной литературе и практической медицине термин «эндометриоз» широко распространен, и большинство исследователей подразумевают под эндометриозом нозологическую единицу [Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002].

### **1.1.1. Эпидемиология генитального эндометриоза**

Эндометриоз относится к числу достаточно распространённых заболеваний. В структуре гинекологической патологии генитальный эндометриоз стабильно занимает третье место среди заболеваний женских половых органов (после воспалительных процессов и миомы матки), приводя к значительным нарушениям репродуктивной функции, стойкому болевому синдрому и бесплодию [Giudice L.C., Kao L.C., 2004; Сонова М. М., 2009; Дамиров М.М., 2010; Maser M.L. et al., 2012; Vercellini P. et al., 2012].

В последние годы отмечается неуклонный рост частоты наружного генитального эндометриоза (ГЭ) в структуре гинекологической заболеваемости: от 12 до 60% женщин репродуктивного возраста имеют это заболевание, что связано с разными методами диагностики и верификации [Wheeler J.M., 1992; Баскаков В.П. и др., 2002; Fauconnier A., Chapron C., 2005; Адамян Л.В. и др., 2006; Кира Е.Ф. и др., 2008; Ozkan S., 2009; Taylor E., 2010; Марченко Л.А., Ильина Л.М, 2011]. Среди оперированных больных частота эндометриоза колеблется в пределах 9-11% [Стрижаков А.Н. и Давыдова А.И., 1996; Barbieri R.L., 2000]. При диагностической лапароскопии по поводу тазовой боли и бесплодия эндометриоз диагностируется в 20-90% случаев [Rawson J.M., 1991; Радзинский В.Е. и др., 2002]. Истинную же частоту генитальных эндометриозов оценить

практически невозможно [Айламазян Э.К. и др., 2007; Ищенко А.И. и др., 2007; Kondo W. et al., 2012].

В последние годы отмечается тенденция к возрастанию частоты ГЭ, в связи с чем высказывается мнение, что эндометриоз должен быть отнесён к числу болезней цивилизации [Хурсаев Б.Ф., Косякова Н.Ф., 2004; Айламазян Э.К. и др., 2007; Прилепская В.Н. и др., 2012].

### **1.1.2. Клинические особенности генитального эндометриоза**

Клинические проявления ГЭ чрезвычайно вариабельны и зависят от возраста больных, длительности течения заболевания, психо-эмоционального состояния женщины, а также локализации патологического процесса, площади поражения, наличия сопутствующих генитальных и экстрагенитальных заболеваний [Дамиров М.М., 2010].

Данная патология характеризуется выраженным болевым синдромом, значительными нарушениями менструальной и репродуктивной функции, нарушением функции смежных органов, ухудшением общего состояния больных. При разных формах эндометриоза клиническая картина значительно отличается. Следует отметить, что больные, могут, не предъявлять никаких жалоб (даже при распространённых формах эндометриоза) [Fauconnier A., Chapron C., 2005; Jarrell J.F. et al., 2005; Дамиров М.М., 2010; Kondo W. et al., 2012].

Эндометриоз следует подозревать у женщин с дисменореей, диспареунией, бесплодием, а также с хроническими болями в нижних отделах живота и пояснично-крестцовой области, усиливающимися накануне и во время менструации [Murphy AA., 2002; Радзинский В.Е., Хамошина М.Б., 2009]. В начальный период заболевания боль носит циклический характер. По мере прогрессирования заболевания цикличность болей нарушается, они становятся постоянными, изнурительными, нарастает их интенсивность. В подобных случаях следует считать, что у больной развился стойкий синдром тазовых болей [Подзолкова Н.М., Глазкова О.Л., 2005].

Нередко боль сопровождается повышением температуры тела и астено-вегетативными симптомами, что приводит к потере трудоспособности. При этом у большинства больных эндометриозом наблюдаются раздражительность, неустойчивое настроение, нарушения сна [Баскаков В.П. и др., 2002]. Личность больных ГЭ характеризуется аутизацией и интравертированностью, погружением в себя и болезнь. Больных эндометриозом характеризует отрицательное переживание менархе, сексуального опыта, связанные с дисменореей [Баскаков и др., 2002; Дамиров М.М., 2010]. При длительном болевом синдроме у 60-70% больных эндометриозом отмечается эмоциональная лабильность, вегетативные дисфункции, фобии, депрессия [Кира Е.Ф., Цвелёв Ю.В., 2008].

Нарушение репродуктивной функции проявляется бесплодием, которое диагностируется у 25-60% женщин с ГЭ [Адамян Л.В., Андреева Е.Н., 2001]. Нередко бесплодие оказывается единственным симптомом эндометриоза. В такой ситуации эндометриоз обнаруживается случайно при поиске причины infertility. Следует учитывать, что при малых формах эндометриоза других признаков или клинических симптомов, кроме бесплодия, может и не быть [Murphy AA., 2002; Bulletti C., 2010].

В течение последних 50 лет разработано более 10 классификаций эндометриоза, ни одна из которых не признана универсальной. Эндометриоз подразделяют на генитальный и экстрагенитальный, а генитальный, в свою очередь, – на внутренний (эндометриоз тела матки) и наружный (эндометриоз шейки матки, влагалища, промежности, ретроцервикальной области, яичников, маточных труб, брюшины, прямокишечно-маточного углубления). «Внутренний эндометриоз» в последние годы все чаще рассматривается как совершенно особое заболевание и обозначается термином «аденомиоз» [Адамян Л.В. и др., 2006].

Одной из наиболее широко применяемых в мировой практике стала, предложенная в 1979 г. Американским обществом фертильности (с 1995 г. – Американское общество по репродуктивной медицине) и пересмотренная в

1996 г. классификация (Revised Classification of American Fertility Society), основанная на подсчете общей площади и глубины эндометриоидных гетеротопий, выраженных в баллах:

- I стадия – минимальный эндометриоз (1-5 баллов);
- II стадия – легкий эндометриоз (6-15 баллов);
- III стадия – умеренный эндометриоз (16-40 баллов);
- IV стадия – тяжелый эндометриоз (более 40 баллов).

Классификация не лишена недостатков, главные из которых – частое несоответствие стадии распространения, определенной путем подсчета баллов, истинной тяжести заболевания. Несомненно, что истинная тяжесть заболевания определяется той клинической картиной, которая характеризует течение конкретного варианта заболевания [Адамян Л.В. и др., 2006; Kim A., Adamson G., 2008].

Патогномоничных симптомов для разных форм ГЭ не существует. Вместе с тем выраженная дисменорея чаще наблюдается при аденомиозе и ретроцервикальном эндометриозе. Гиперполименорея, как правило, возникает у больных аденомиозом. Диспареуния и боль, иррадиирующая в прямую кишку, характерны для ретроцервикальной локализации эндометриоза. Тянущие боли в области малого таза, не связанные с менструацией, в большинстве случаев возникают при эндометриоидных кистах яичников. У пациенток с эндометриозом тазовой брюшины, ректовагинальной перегородки, нередко ведущим симптомом бывают постоянные тазовые боли, не изменяющиеся после неоднократно проводимой противовоспалительной терапии, усиливающиеся при половом акте и во время менструации. Контактные кровяные выделения нередко возникают у больных эндометриозом шейки матки [Адамян Л.В. и др., 2006; Garry R., 2006; Ballard K. et al. 2009; Stratton P., Berkley K.J., 2010].

Выделяют три морфо-клинические формы заболевания:

- эндометриоидные импланты на поверхности брюшины малого таза (малые формы эндометриоза или перитонеальный эндометриоз);



- кисты яичников, выстланные слизистой эндометрия (эндометриомы);
- солидные образования сложной структуры, включающие наряду с эндометриоидной тканью жировую и мышечно-фиброзную ткани (ретроцервикальный эндометриоз) [Brosens I.A., 1997; Garry R., 2004; Nap A.W. et al., 2004; Bloski T., Pierson R., 2008; Марченко Л.А., Ильина Л.М., 2011].

Общими гистопатологическими характеристиками этих образований является присутствие эндометриальных стромальных и эпителиальных клеток, персистирующие гемorragии внутри очага и признаки воспаления. Перечисленные изменения могут возникать по отдельности или в комбинации, что коррелирует с повышением риска бесплодия или хронической тазовой боли [Марченко Л.А., Ильина Л.М., 2011; Maser M.L. et al., 2012; Vercellini P. et al., 2012].

В структуре наружного генитального эндометриоза первое место занимает эндометриоз яичников, он составляет 70,2-75,5% эндометриоидных поражений [Баскаков В.П. и др. 2002; Адамян Л.В. и др., 2006; Линде В.А., Татарова Н.А., 2010]. Данная форма эндометриоза до определённого времени может протекать бессимптомно и быть диагностирована при профилактическом эхографическом исследовании органов малого таза. Одной из характерных жалоб у больных с эндометриозом яичников является возникновение болей в нижних отделах живота или на стороне поражения придатков матки [Баскаков В.П. с др., 2002; Сметник В.П., Тумилович Л.Г., 2003]. Нередко эндометриоидные кисты яичников небольшого размера могут сопровождаться выраженной клинической симптоматикой, тогда как кисты, имеющие значительно большие размеры, не имеют клинических проявлений. Болевой синдром может сопровождаться вздутием кишечника, учащенным или затруднительным мочеиспусканием. При микроперфорации эндометриоидной кисты и вовлечении в процесс тазовой брюшины

наблюдается картина «острого живота» [Цвелёв Ю.В., Абашин В.Г., 2007; Lee Y.R., 2011].

Следует учитывать, что эндометриоз яичников нередко является одной из ведущих причин, приводящих к поражению мочеточников, развитию ретроцервикального эндометриоза и других локализаций этого заболевания. Кроме того, эндометриоз яичника достаточно часто вызывает ановуляторные циклы и бесплодие [Радзинский В.Е., 2009; Stratton P., Berkley K.J., 2011].

Ретроцервикальный эндометриоз характеризуется локализацией разрастаний непосредственно в проекции задней поверхности шейки матки и её перешейка на уровне крестцово-маточных связок в ретровагинальной клетчатке. При данном расположении патологического процесса гетеротопические очаги способны к инфильтративному росту, обычно в направлении прямой кишки, заднего свода влагалища и влагалищно-прямокишечного углубления. Ретроцервикальный эндометриоз может возникнуть после лечения доброкачественных заболеваний шейки матки методом диатермокоагуляции, а также при переходе на эту область при аденомиозе, эндометриозе яичников и маточных труб. Среди всех локализаций эндометриоза распространённость ретроцервикального эндометриоза составляет 0,5-6,5% [Адамян Л.В. и др., 2006; Дамиров М.М., 2010; Koninckx P.R. et al., 2012].

Малые формы эндометриоза официально выделены в самостоятельную нозологическую единицу. В МКБ 10 их определение звучит как «эндометриоз тазовой брюшины» (рубрика 617.3). Они не сопровождаются, как правило, выраженными клиническими проявлениями и обнаруживаются при лапароскопическом обследовании пациенток с бесплодием. Однако, при ретроспективной оценке жалоб пациенток с установленным диагнозом малых форм эндометриоза отмечается альгодисменорея в 72% случаев, нарушение менструального цикла по типу меноррагии – в 43% случаев, клинические проявления гиперандрогении – в 40% случаев [Линде В.А., Татарова Н.А., 2010].

## **1.2. Современные представления об этиологии и патогенезе эндометриоза**

Несмотря на полуторавековой период с момента появления первого сообщения в медицинской литературе об эндометриозе [Von Rokitansky, 1860], многие вопросы этиологии, патогенеза, диагностики и лечения этого заболевания до настоящего времени являются предметом всесторонних научных исследований. На сегодняшний день существуют многочисленные теории патогенеза, каждая из которых со своих позиций объясняет происхождение и развитие этого заболевания. Многие исследователи называют эндометриоз «болезнью теорий», поскольку известно большое число теорий его происхождения, но ни одна из них в отдельности полностью не объясняет многообразия форм проявлений и локализаций этой патологии [Дамиров М.М., 2010; Burney R.O., Giudice L.C., 2012].

### **1.2.1. Имплантационная (транслокационная) теория развития эндометриоза**

Наибольшее распространение получила имплантационная теория возникновения эндометриоза, впервые предложенная J.A. Sampson в 1925г. [Sampson J.A., 1925; 1927]. Согласно этой теории, отторгнутые фрагменты функционального слоя эндометрия вследствие ретроградной менструации проходят не только через цервикальный канал, но и через маточные трубы в брюшную полость. Далее происходит адгезия фрагментов эндометрия к поверхности брюшины, сменяющаяся инвазией. Заключительным этапом является васкуляризация сформировавшегося очага эндометриоза [Bricou A. et al., 2008].

В настоящее время теория J.A. Sampson получает своё дальнейшее развитие в работах, посвящённых исследованию отдельных этапов развития очага эндометриоза. Имеются данные о взаимосвязи между строением маточных труб и наличием ретроградной менструации: более прямое расположение внутриматочной части фаллопиевых труб чаще сочетается с

наличием эндометриоза, чем извилистый ход маточных труб [Kurzawa R. et al., 2005]. Другой возможной причиной ретроградной менструации являются воспалительные заболевания маточных труб, нарушающие нормальный транспорт [Kissler S. et al., 2006].

Однако ретроградная менструация встречается у большинства женщин репродуктивного возраста, при этом отсутствуют признаки эндометриоза. Это указывает на большую значимость этапов адгезии и инвазии в развитии патологического процесса, способность к которым определяется, в первую очередь, особенностями функционального слоя эндометрия. Незадолго до менструации и во время нее наблюдается повышение экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП) – ферментов, участвующих в деградации межклеточного матрикса и, следовательно, в процессе отторжения эндометрия [Freitas S. et al., 1999].

Таким образом, при наличии ретроградной менструации попавшие в брюшинную полость фрагменты эндометрия продуцируют ММП, что является молекулярным субстратом для адгезии и инвазии, происходящей за счет разрушения межклеточных и клеточно-матриксных контактов мезотелия. К эндометриозу приводят лишь единичные случаи ретроградной менструации, что может быть объяснено наличием в этих случаях повышенной активности ММП. Последняя может быть обусловлена как усилением экспрессии ММП вследствие полиморфизма их генов, или избыточного количества позитивных регуляторов, таких как, интерлейкин-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) и внеклеточных индукторов [Braundmeier A.G., Nowak R.A., 2006], так и снижением активности их тканевых ингибиторов [Cox K.E. et al., 2001].

Повышенная способность к адгезии фрагментов эндометрия также может быть связана с гиперэкспрессией фактора молекулы клеточной адгезии-1 (ICAM-1), которая обеспечивает межклеточные контактные взаимодействия [Viganò P. et al., 2003]. Тем не менее, описанных условий недостаточно для сохранения очага эндометриоза, в связи с чем он должен обладать некой стратегией уклонения от иммунного ответа. Имеются данные

о повышенной миграции макрофагов в перитонеальную жидкость у больных эндометриозом [Wu M.H. et al., 2002], но их способность к фагоцитозу снижена, что обусловлено повышенной секрецией простагландина E2 (Pg E2) эктопическими очагами эндометрия [Raiter-Tenenbaum A. et al., 1998]. Также отмечается снижение активности натуральных киллеров (NK) в брюшной полости при эндометриозе [Bohler H.C. et al., 2007]. Кроме того, в очагах эндометриоза наблюдается усиленная экспрессия ММП-7, которая обладает способностью отщеплять Fas-лиганд с поверхности Т-цитотоксических лимфоцитов, переводя его в растворимую форму [Powell W.C., 1999]. Это, с одной стороны, защищает очаг эктопического эндометрия от апоптоза, а с другой – стимулирует апоптоз самих лимфоцитов за счет воздействия на них растворимой формы Fas-лиганда.

Таким образом, занос частиц эндометрия различными путями в полость малого таза является пусковым моментом развития эндометриоза. Одним из возможных факторов подобного заноса являются хирургические манипуляции, включая диагностические выскабливания, акушерские и гинекологические операции, связанные со вскрытием полости матки и хирургической травмой слизистой оболочки матки. Ятрогенное развитие заболевания доказано ретроспективным анализом этиологии эндометриоза у женщин, которым проводились те или иные операции [Дамиров М.М., 2010; Halis G. et al., 2010].

Вместе с тем, по мнению противников имплантационной теории, результаты ряда исследований не соответствуют представлениям о подобном возникновении эндометриоза. В настоящее время показано, что регургитация менструальной крови и попадание жизнеспособных клеток эндометрия в брюшную полость имеют место у 90% женщин с проходимыми маточными трубами [Цвелёв Ю.В. и др., 2007; Halis G. et al., 2010]. Для внедрения и дальнейшего развития элементов эндометрия на брюшине и других структурах малого таза необходимо наличие не только живых и способных к

имплантации клеток, но и факторов и условий, обеспечивающих формирование эндометриоза [Вихляева Е.М., 2006; Цвелёв Ю.В. и др., 2007].

Таким образом, имплантационная теория развития эндометриоза многогранна, но не отвечает на все вопросы, касающиеся появления эндометриоидноподобных клеток вне зоны нормального расположения слизистой тела матки.

### **1.2.2. Метапластическая теория происхождения эндометриоза**

Теория была предложена Н.С. Ивановым [1897], R. Meyer [1903] [Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002]. Авторы гипотезы предполагали возможность развития очагов эндометриоза из мультипотентных клеток мезотелия брюшины [Vinatier D. et al., 2001]. Метаплазия может происходить под влиянием гормональных нарушений, в условиях хронического воспалительного процесса и механической травмы. Подтверждением метапластической гипотезы является тот факт, что эндометриоидные очаги могут находиться в мезотелии плевры, альвеолах, эпителии воздухопроводящих путей [Augoulea A. et al., 2008], сфинктере мочевого пузыря [Varcellini P. et al., 2002]. На возможность метаплазии указывает описанный факт существования переходных гистологических форм от мезотелия к очагам эндометриоза яичников, выявляемых при световой микроскопии [Zeng W. et al., 2005]. В этом случае одной из причин метаплазии является инвагинация мезотелия в кору яичника, происходящая при эволюции примордиального фолликула [Nisolle M., Donnez J., 1997].

Молекулярно-генетические доказательства метапластической теории связаны с обнаружением экспрессии генов WNT7A и фактора, содержащего парный бокс 8 (PAX8) в гистологически нормальной брюшине у пациенток с эндометриозом [Gaetje R. et al., 2007].

Данная точка зрения о происхождении эндометриоза не получила широкого признания, поскольку не имеет строгих научных доказательств.

### **1.2.3. Дизонтогенетическая (эмбриональная) теория возникновения эндометриоза**

Дизонтогенетическая теория возникновения эндометриоза в настоящее время представляет лишь исторический интерес и предполагает развитие очагов эндометриоза из остатков мюллеровых протоков [Nawroth F. et al., 2006]. В пользу данной теории свидетельствует сочетание эндометриоза с врожденными аномалиями репродуктивной системы: полной перегородкой матки [Hansen T., 2006; Nawroth F. et al., 2006], двурогой маткой [Goluda V. et al., 2006]. Имеются данные об экспрессии в мезотелии у женщин с эндометриозом генов WNT7A и PAX8, отвечающих за формирование женского полового тракта в эмбриогенезе [Gaetje R. et al., 2007].

### **1.2.4. Гормональная теория патогенеза генитального эндометриоза**

До последнего времени большинство учёных полагало, что ведущая роль в возникновении и развитии генитального эндометриоза принадлежит нейроэндокринным нарушениям в системе гипоталамус-гипофиз-яичники, приводящим к изменению в организме женщины соотношения стероидных гормонов [Баскаков В.П. и др., 2002]. Долгое время считалось, что абсолютная или относительная гиперэстрогения, особенно на фоне измененной рецепторной функции эндометрия, способствует развитию генитального эндометриоза [Колгушкина Т.Н., 2004; Ищенко А.И. и др. 2007]. Возникающие в организме женщины гормональные сдвиги создают определённые условия для возникновения и развития этой патологии. Их важность в патогенезе заболевания определяется следующими клиническими наблюдениями:

- эндометриоз редко встречается до менархе и не возникает после менопаузы;
- двухсторонняя овариэтомия обычно приводит к полному и быстрому регрессу эктопически расположенных эндометриальных желёз и стромы;

- эндометриоз стабилизируется или регрессирует во время физиологической беременности или искусственно вызванной гормональной аменореи [Баскаков В.П. и др., 2002].

У больных эндометриозом возникают хаотические пиковые выбросы фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, наблюдается снижение базального уровня прогестерона, у многих выявлены гиперпролактинемия и нарушение андрогенной функции коры надпочечников [Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2002].

Высокая концентрация прогестерона в перитонеальной жидкости у здоровых женщин может являться фактором, препятствующим выживанию, имплантации и пролиферации клеток эндометрия [Савицкий Г.А., Горбушин С.М., 2002]. Доказано также снижение концентрации прогестерона в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом [Koninckx P.R. et al., 1999].

В ряде работ отмечено, что синдром неовулировавшего фолликула способствует возникновению эндометриоза. Так, у женщин с данным синдромом, содержание 17-β-эстрадиола и прогестерона в перитонеальной жидкости после овуляции было значительно ниже, чем у здоровых [Koninckx P.R. et al., 1999].

Следует отметить, что дисфункция системы гипоталамус-гипофиз-яичники не может считаться неременным спутником эндометриоза и нередко не определяется у больных [Koninckx P.R. et al., 1999].

### **1.2.5. Иммунологическая теория происхождения эндометриоза**

Нарушение иммунного гомеостаза при эндометриозе предположили М. Jonesco и С. Popesco в 1975 г. Авторы считали, что клетки эндометрия, попадая в кровь и другие органы, представляют собой аутоантигены. Пролиферация эндометриоидных клеток в других тканях возможна в результате повышения уровня эстрогенных гормонов, которые стимулируют секрецию кортикостероидов (кортизола). Последние, в свою очередь, являясь



депрессантами, подавляют клеточный и гуморальный иммунитет, тем самым, обеспечивая благоприятные условия для инвазии и развития жизнеспособных клеток эндометрия [Ищенко А. И., Кудрина Е. А., 2002; Киселев В.И., Лященко А.А., 2005; Tempfer C.B. et al., 2009].

Дальнейшие исследования позволили обнаружить анти-эндометриальные аутоантитела у больных с эндометриозом: были выявлены IgG- и IgA-антитела к яичниковой и эндометриальной тканям, которые определяли в сыворотке крови, в секретах влагалища и шейки матки [Fernandez -Shaw S. et al., 1993; Dmowski W.P., 1995; Dmowski W.P., Braun D.P., 2004].

Многочисленные исследования достоверно доказывают, что эндометриоз развивается на фоне нарушенного иммунного равновесия, а именно: активации гиперчувствительности замедленного типа, Т-клеточного иммунодефицита, снижения активности Т-лимфоцитов и естественных киллеров (NK) при одновременной активации В-клеток [Сидорова И.С. и др., 2002; Neukomm C., Mueller M.D., 2007; García Manero M. et al., 2009].

Вследствие недостаточности иммунного надзора, мигрирующие эндометриальные клетки не элиминируются, а формируют очаг эндометриоза. При эндометриозе также обнаружено врожденное снижение функции NK. NK-клетки – эффекторы естественной цитотоксичности – выполняют в организме функцию «первой линии обороны» в системе иммунного надзора. Они непосредственно участвуют в элиминации трансформированных и опухолевых, вирусинфицированных, а также измененных другими агентами клеток [Ferlazzo, G. et al., 2003; Neukomm C., Mueller M.D., 2007].

Дефицит активности NK-клеток может способствовать имплантации и пролиферации заносимых в брюшную полость частиц эндометрия. В свою очередь развитие очагов эндометриоза повышает выработку иммуносупрессивных агентов, которые определяют дальнейшее снижение

активности NK-клеток, ухудшение иммунного контроля и прогрессирование эндометриоза [Супрун Л.Я., 1987; Neukomm C., Mueller M.D., 2007].

Таким образом, у больных с эндометриоидными поражениями наблюдаются общие признаки иммунодефицита и аутоиммунизации, приводящие к ослаблению иммунного контроля, что создаёт условия для имплантации и развития функциональных очагов эндометрия вне их нормальной локализации [Ищенко А. И., Кудрина Е. А., 2002].

### **1.2.6. Развитие эндометриоза как генетически обусловленной патологии**

Предположение о возможности генетической детерминированности развития эндометриоидных поражений высказано на основе отдельных генеалогических исследований [Kennedy S.H., 1998]. Изучение распространения эндометриоза среди монозиготных близнецов [Moен M.H., 1994] выявило у них высокую экспрессию генов человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), интегринов, гамма-интерферона (INF- $\gamma$ ) и IL-6 [Shaw R.W., 1995]. Применение обратных генетических методик так же позволило идентифицировать гены, ответственные за предрасположенность к эндометриозу. Генетический анализ 115 пар сестер и 45 пар сестер-матерей, больных эндометриозом, показал, что при эндометриозе преобладает аутосомно-доминантный тип наследования [Kennedy S.H. et al., 1995].

Соответственно, при эндометриозе нарушение функции клеток связано с экспрессией дефектных генов в результате мутации. Наблюдаемые семейные случаи заболевания указывают на возможность участия в патогенезе эндометриоза сложных генетических дефектов, предположительно касающихся нескольких генов. В силу мультифакториальной природы заболевания необходимо наличие наследственной предрасположенности, а также воздействия факторов внешней среды [Адамян Л.В., Кулаков В.И., 2006].

Интересные данные получены при изучении антигенов системы HLA при эндометриозе. Доказано, что расстройство клеточного и гуморального

иммунитета при эндометриозе ассоциировано с генами HLA, а именно HA, A10, B5, B27 [Ищенко А. И., Кудрина Е. А., 2002].

По данным J.C. Huang и J. Yeh [1994], в железистых клетках очагов эндометриоза содержится меньше матричной РНК (mRNA) для рецептора эпидермального фактора роста (EGF-R), чем во внутриматочном эндометрии тех же больных, что, по мнению авторов, является подтверждением генетической (через mRNA) обусловленности изменений EGF-R, который может иметь значение в развитии эндометриоза.

Имеется также ряд сообщений об экспрессии в тканях эндометриоидных очагов генов, ответственных за продукцию других факторов – коллаген-ламинина, альфа-1- и бета-3-интегринов, INF- $\gamma$ , IL-6 [Hammond M.G. et al., 1993; Shaw R.W., 1995; Mao T. et al., 2012].

В крови больных эндометриозом также определялись некоторые из биохимических генетических маркеров. Так, E. Koumantakis и др. [1994] сообщили о результатах исследования IL-6, IL-1a и растворимого рецептора IL-2 в сыворотке крови 10 больных эндометриозом. Средние значения содержания каждого из этих факторов оказались существенно повышенными по сравнению с группой контроля ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, ведущую роль в развитии эндометриоза играют генетические факторы, которыми могут быть обусловлены как аномалии развития, способствующие, например, ретроградным менструациям, так и прямые и опосредованные (через онкогены) нарушения иммунного гомеостаза.

### **1.3. Иммунопатогенез генитального эндометриоза**

Этиология и патогенез эндометриоза носит мультифакториальный характер, включая генетические и иммунные факторы, с большей вероятностью проявляющиеся в неблагоприятных экологических условиях. В последние годы получено достаточно данных, подтверждающих ведущую

роль генетических факторов и дисфункцию иммунной системы в возникновении эндометриоза [Адамян Л.В. и др., 2006].

Иммунологические аспекты эндометриоза интенсивно изучаются с 1978 г. Представляют интерес данные о наличии у больных эндометриозом изменений общего и местного иммунитета, которым отводится определенная роль в развитии и прогрессировании заболевания. Некоторые исследователи полагают, что эндометриоидные клетки обладают настолько мощным агрессивным потенциалом, что вызывают повреждения иммунной системы [Киселев В.И. и др., 2010].

Инфильтрация лейкоцитами сопровождает все формы эндометриоза. Иммунная система играет ключевую роль в регулировании событий, таких как клеточная адгезия, миграция, выживание трансформированных клеток. Все эти функции принимают участие в развитии эндометриоидных поражений. Последние данные свидетельствуют о том, что проникновение лейкоцитов в очаг эндометриоза является необходимым условием развития заболевания [Сотникова Н.Ю. и др., 2000; Carobianco A. et al., 2010].

Значительное место отводят макрофагам, непосредственно реагирующим на присутствие чужеродных элементов. Макрофаги «перемещают» эритроциты, поврежденные тканевые фрагменты и, возможно, эндометриальные клетки, которые попадают в брюшную полость. Установлено, что при эндометриозе общее количество и активность перитонеальных макрофагов возрастает. Отмечена зависимость между тяжестью течения эндометриоза и макрофагальной реакцией перитонеальной жидкости, а также доказано повышение содержания макрофагов в эндометриоидных очагах [Stefansson H. et al., 2002].

Показано, что кроме фагоцитарной деятельности, перитонеальные макрофаги регулируют процессы, протекающие в малом тазу, путем освобождения Pg E2, гидролитических ферментов, цитокинов, факторов роста, инициирующих тканевые повреждения. Установлено, что повышение

концентрации P<sub>g</sub> E<sub>2</sub> в плазме крови женщины предрасполагает к формированию заболевания, влияя на пролиферативную активность и дифференциацию клеток эндометриальной ткани [Gómez-Torres M.J. et al., 2002; Harada T., 2004].

### **1.3.1. Роль цитокинов в развитии генитального эндометриоза**

В последние годы большое внимание уделяется изучению роли цитокинов в патогенезе ГЭ. Система цитокинов представляет собой универсальную полиморфную, регуляторную сеть медиаторов, предназначенных для контроля процессов пролиферации, дифференцировки и функциональной активности клеточных элементов в кроветворной, иммунной и других гомеостатических системах организма [Козлов В.А., Сенникова С.В., 2004; Дамиров М.М., 2010].

Цитокины являются низкомолекулярными белковыми медиаторами, секретруемыми клетками в окружающую среду. К ним относятся простые полипептиды, более сложные молекулы и белки, состоящие из двух одинаковых или различных субъединиц с молекулярной массой от 5 до 50 кДа [Симбирцев А.С., 2004]. Влияние цитокинов распространяется паракринно (на клетки микроокружения), аутокринно (на клетки, их продуцирующие) и эндокринно (на клетки, удалённые от продуцента). Цитокины – короткоживущие соединения, что обеспечивает высокую динамичность их воздействий на клетки-мишени [Ройт А., 2000; Хаитов Р.М., 2001].

Воздействуя на клетку, цитокины связываются со специфическими рецепторами на её поверхности, вызывая этим каскадную реакцию, ведущую к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов [Фрейдлин И.С., Тотолян А.А., 2001]. На уровне организма цитокины осуществляют связь между иммунной, нервной, эндокринной и кроветворными системами и служат для их вовлечения в организацию и регуляцию единой защитной реакции [Симбирцев А.С., 2002]. В результате

сложного комплекса межклеточных взаимодействий достигается равновесная концентрация цитокинов в межклеточной среде. Смещение баланса цитокинов разнонаправленного действия приводит к изменению функциональной активности макрофагов и лежит в основе развития патологического процесса [Фрейдлин И.С., Тотолян А.А., 2001].

К цитокинам относят интерфероны, колониестимулирующие факторы, хемокины, трансформирующие ростовые факторы (TGF), фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкины с исторически сложившимися порядковыми номерами и некоторые другие. Классификация цитокинов может проводиться по строению, по их биохимическим и биологическим свойствам, а также по типам рецепторов, посредством которых цитокины осуществляют свои биологические функции [Симбирцев А.С., 2004]. Интерлейкины также можно разделить на провоспалительные и противовоспалительные, ростовые и дифференцировочные, отдельные регуляторные [Кетлинский С.А., 2008].

Несмотря на столь разнородный состав, для цитокинов характерны некоторые общие закономерности функционирования: локальность действия, зависимость их синтеза от функционального состояния клетки, тотальность действия на различные типы клеток, полифункциональность действия, условность действия цитокинов на клетки-мишени, кооперативность и избыточность действия, тотальность и избирательность продукции. Надо учитывать, что обозначенные закономерности необходимо понимать с определенной долей относительности. Так, различные цитокины, обладая широким спектром функциональной активности, могут дублировать свои эффекты по одним позициям и конкурировать по другим. Кроме того, многие цитокины проявляют свои конкретные регуляторные эффекты только в определенной дозовой зависимости и комбинации с другими регуляторными факторами [Черешнёв В.А., Гусев Е.Ю., 2001; Мейл Д. и др., 2007].

Необходимо отметить, что благодаря системе цитокинов обеспечивается кооперация клеток, участвующих в реализации иммунного ответа. Каждый участник как специфического, так и неспецифического

иммунного ответа обладает индивидуальным цитокиновым спектром. Поскольку цитокины и их рецепторы относятся к индуцибельным молекулам и синтезируются в ответ на стимуляцию клеток антигеном, то от активности цитокиновой системы во многом зависит характер ответа организма на воздействие [Ройт А., 2006].

Провоспалительные цитокины продуцируются, секретируются и действуют на иммунокомпетентные клетки через свои рецепторы на ранней стадии воспалительного ответа, участвуют в запуске специфического иммунного ответа и в эффекторной его фазе. В эту группу включают следующие цитокины: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 $\beta$ , IL-17, IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ . Альтернативную группу представляют противовоспалительные цитокины: IL-4, IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  [Фрейдлин И.С., 1998; Кетлинский С.А., 2008; Bersinger N.A. et al., 2012].

Основным источником иммунорегуляторных цитокинов в организме являются Т-хелперы (Th), отдельные субпопуляции которых принято разделять по спектру продуцируемых цитокинов. Так, Th0 лимфоциты, являясь предшественниками Th1 и Th2 клеток, синтезируют смешанный набор цитокинов: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, INF- $\gamma$  и др. Активация Th1 лимфоцитов, продуцирующих IL-2, IL-3, INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , приводит к стимуляции Т-лимфоцитов, макрофагов и реализации клеточного иммунного ответа. Формирование иммунного ответа по гуморальному типу происходит, в свою очередь, при доминирующем влиянии Th2-цитокинов – IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 и др. Согласно современным представлениям, именно нарушение баланса продукции Th1/Th2-цитокинов может иметь значение в реализации иммунопатогенеза многих заболеваний [Кетлинский С.А., 2002].

IL-2 является одним из ключевых цитокинов клеточного звена иммунного ответа. Он был открыт и клонирован в 1980 году как фактор роста Т-клеток. Продуцентами IL-2 становятся кластеры дифференцировки (CD) 4<sup>+</sup> Т-лимфоциты после дифференцировки их в Th1. Продукция этого цитокина является индуцибельной: ген IL-2 начинает активно

экспрессироваться лишь после контакта  $CD4^+$  Т-лимфоцитов с чужеродным антигеном, презентированным в комплексе с HLA II [Симбирцев А.С., 1998; Кетлинский С.А., 2008].

Секретируемый IL-2 обнаруживается в культуральной среде стимулированных лимфоцитов через 6-10 ч, достигая максимума к 24 ч. В клетке IL-2 образуется в виде предшественника, который включает в себя 153 аминокислотных остатка (а.о.), причем первые 20 являются сигнальной последовательностью. Созревание молекулы происходит путем частичного протеолиза. Таким образом, секретируемый IL-2 состоит из 133-х а.о. и имеет молекулярную массу 15 кД. Важным этапом созревания IL-2 является формирование вторичной структуры. Входящие в состав аминокислотной последовательности 2 из 3-х остатков цистеина образуют дисульфидную связь, благодаря чему IL-2 приобретает биологическую активность [Симбирцев А.С., 1998; Кетлинский С.А., 2008].

Одновременно с экспрессией гена IL-2 активируется экспрессия гена - рецептора IL-2, в результате чего образуются растворимые формы рецептора. Рецепторный комплекс IL-2 состоит из 3-х субъединиц, которые представляют собой полипептиды разного размера и обозначаются как  $\alpha$  (CD25),  $\beta$  (CD122) и  $\gamma$  (CD132) цепи. Высокоаффинное взаимодействие IL-2 со своим рецептором достигается при участии всех трех субъединиц, что ведет к фосфорилированию цитоплазматических белков при действии нескольких протеинкиназ [Gerosa F., 2002].

Покоящиеся клетки не синтезируют  $\alpha$ -цепь рецептора.  $\beta$ -цепь экспрессируют  $CD8^+$  цитотоксические Т-лимфоциты, NK-клетки и моноциты, а  $\gamma$ -цепь – цитотоксические Т-лимфоциты и моноциты.  $CD4^+$  Т-хелперы, находящиеся в покое, и  $CD20^+$  В-лимфоциты не презентуют на мембране ни одной из трех субъединиц рецептора IL-2, поэтому не способны отвечать даже на стимуляцию высокими дозами IL-2. Только стимуляция антигенами или митогенами способствует индукции экспрессии рецептора и ответа на IL-2. Т-киллеры в покое способны экспрессировать низкие



количества рецептора IL-2 [Симбирцев А.С., 1998].

Основной биологический эффект IL-2 заключается в регуляции пролиферации клеток-мишеней, с которыми он взаимодействует: Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, моноциты, макрофаги. Первоначальным эффектом IL-2 является его взаимодействие с CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитами и формирование клонов Th1. После получения активирующего сигнала в Th1-лимфоцитах начинают экспрессироваться гены *IL2*, *IFNG*, *TNFA*. Оказывая аутокринное воздействие на Th1-клетки и паракринное на субпопуляцию Th2, IL-2 вызывает смещение баланса Th1/Th2 в сторону клеточного звена. IL-2 служит ростовым и дифференцировочным фактором для CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, стимулирует их цитотоксическую активность. После первичного иммунного ответа IL-2 способствует формированию популяции Т-клеток памяти [Егорова В.Н. и др., 2004].

IL-2 стимулирует клеточное деление не только CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, но и CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов, действуя по аутокринному и паракринному типам. В CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитах под действием IL-2 происходит активация экспрессии генов, отвечающих за синтез перфоринов и гранзимов, что в конечном итоге приводит к усилению их цитотоксических свойств, в В-лимфоцитах – к стимуляции синтеза антител, в НК-клетках – к противоопухолевой активности, а в моноцитах/макрофагах – к продукции провоспалительных цитокинов, фагоцитоза и бактерицидности [Janas M.L. et al, 2005].

IL-4 – противовоспалительный цитокин. Он способен ингибировать все IFN-γ-опосредованные свойства макрофагов, путем супрессии транскрипции генов. IL-4 определяет дифференцировку Th0 в направлении Th2, а также индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов, а, следовательно, определяет развитие гуморального иммунитета [Kelly-Welch A. E. et al., 2003].

Известно, что в активации транскрипции гена *IL4* участвуют транскрипционные факторы семейства NFAT. Всего их пять: NFAT5 располагается в ядре Т-лимфоцита в зоне промотора гена *IL4*, остальные 4

белковые молекулы присутствуют в цитоплазме в неактивной дефосфорилированной форме. Связывание антигена с Т-клеточным рецептором вызывает активацию  $Ca^{2+}$ -кальмодулинзависимой фосфоорилазы, которая, в свою очередь, путем фосфорилирования активирует цитоплазматические белки ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT), что в дальнейшем приводит к инициации транскрипции через NFAT5. Некоторые иммунодепрессанты способны ингибировать этот путь трансдукции сигнала, тем самым приводя к снижению продукции ИЛ-4 [Okamura H. et al., 2000].

ИЛ-4 (гликопротеид с молекулярной массой 19-22 кДа) вырабатывается тучными клетками и Th2-лимфоцитами, однако ограниченная способность к выработке ИЛ-4 обнаружена у базофилов, В-лимфоцитов и стромальных клеток костного мозга [Фрейдлин И.С., 1998; Кадагидзе З.Г., 2003].

ИЛ-4 и ИЛ-13 имеют сходные эффекты, потому что связываются с одним и тем же рецептором – рецептором ИЛ-4 II типа, который образован  $\alpha$ -субъединицами ИЛ-4R и ИЛ-13R. Рецептор II типа экспрессируют только Т- и В-лимфоциты [Nelms K. et al., 1999]. На мембране лимфоцитов и некоторых других клеток представлен рецептор ИЛ-4 I типа, в состав которого входят  $\alpha$ - и  $\gamma$ -субъединицы ИЛ-4R. В отличие от рецепторов II типа, рецептор I типа предназначен для связи только с ИЛ-4. Внутриклеточный участок рецептора ИЛ-4 ассоциирован с тирозиновой киназой из семейства JAK1 [Kelly-Welch A. E. et al., 2003].

Как уже отмечалось, ИЛ-4 является сильным ростовым фактором для В-лимфоцитов, способствуя активации и размножению покоящихся клеток, усиливает выработку IgE и IgG1, таким образом, участвуя в аллергических и противопаразитарных реакциях, поддерживает пролиферацию серозных тучных клеток. Также этот цитокин стимулирует апоптоз опухолевых клеток и предотвращает рост опухолей посредством снижения экспрессии онкогенов, блокады клеточного цикла и усилении экспрессии молекул HLA на опухолевых клетках, активации НК- и ЛАК-клеток [Кадагидзе З.Г., 2003;

Шевченко А.В. и др., 2010].

Наиболее сильный эффект IL-4 оказывает на регуляцию образования других цитокинов при иммунном ответе: IL-4 ограничивает синтез макрофагами и моноцитами провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), образование Pg E<sub>2</sub>, метаболитов кислорода и азота. [Balasubramanian S.P. et al., 2006; Шевченко А.В. и др., 2010].

IL-10 является альтернативным противовоспалительным регуляторным цитокином, который рассматривается в последние годы как физиологический антагонист IL-12 $\beta$  и IFN- $\gamma$ , что ведет к смещению баланса в сторону Th2-пути. IL-10 является ключевым регулятором иммунного ответа, способным подавлять продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов и продукцию Th1- и Th2-лимфоцитами цитокинов IL-2 и IL-5. [Кетлинский С.А., 2008].

Белок IL-10 (с молекулярной массой 17-21 кДа) ингибирует продукцию IFN- $\gamma$  как NK-клетками, так и Th1-лимфоцитами, индуцированную любыми цитокинами или бактериальными продуктами. IL-10 ингибирует продукцию макрофагами цитокинов, активирующих NK-клетки, в частности TNF- $\alpha$  и IL-12 $\beta$  [Mason J., 1994]. Кроме того, он тормозит пролиферативный ответ T-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6. В то же время IL-10 стимулирует секрецию иммуноглобулинов B-лимфоцитами. В своем ингибирующем действии на клеточный иммунитет IL-10 синергичен с IL-4. Таким образом, IL-10 рассматривают как общий T-супрессорный цитокин [Rabinovitch A., 2003].

IL-12 $\beta$  – весьма значимый регулятор эффекторных этапов развития иммунного ответа. Именно он имеет решающее значение для проведения сигнала внутрь Th0-лимфоцита для программирования дифференцировки Th0 в направлении Th1. Основными клетками-продуцентами IL-12 $\beta$  являются антигенпредставляющие клетки, в частности, макрофаги и дендритные клетки [Кадагидзе З.Г., 2003].

TNF- $\alpha$  – один из основных провоспалительных цитокинов, главный представитель суперсемейства TNF [Herbein G. et al., 2000].

Биологическая активность TNF- $\alpha$  реализуется за счет связывания со специфическими мембранными рецепторами: TNF-R1 (CD120a), ген которого расположен на 12 хромосоме, и TNF-R2 (CD120b), ген которого локализован на 1 хромосоме. Связывание TNF- $\alpha$  с соответствующими рецепторами приводит к активации факторов транскрипции нуклеарного фактора каппа В (NF- $\kappa$ B) и активированного протеина 1 (AP-1). Эти факторы регулируют активность нескольких генов, кодирующих синтез провоспалительных цитокинов, хемокинов и других медиаторов воспаления и индуцируют апоптоз [Томова А.С., 2005; Karonis A. et al., 2012].

Белок TNF- $\alpha$  (молекулярной массой 17 кДа) продуцируется моноцитами, макрофагами, нейтрофилами и тучными клетками. TNF- $\alpha$  стимулирует адгезию нейтрофилов на эндотелиальных клетках и их экстравазацию – миграцию к очагу воспаления из сосудистого русла, способствует активации нейтрофилов, усиливая фагоцитоз и продукцию супероксидных радикалов, а также экспрессию рецепторов комплемента на нейтрофилах, индуцирует экспрессию дополнительных Fas-рецепторов на Т-лимфоцитах, экспрессию антигена HLA-DR и высокоаффинного рецептора IL-2 [Рыдловская А.В., 2005]. Т-клетки под действием TNF- $\alpha$  ускоряют свою пролиферацию в ответ на IL-2, а также увеличивают IL-2-зависимый синтез IFN- $\gamma$ . На макрофаги TNF- $\alpha$  действует как аутокринный и паракринный активатор: в его присутствии способность макрофагов убивать микроорганизмы значительно возрастает. Также TNF- $\alpha$  служит хемоаттрактантом для макрофагов, стимулирует продукцию IL-1, P<sub>g</sub> E<sub>2</sub> и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) [Зубова С.Г., Окулов В.Б., 2001].

Локальное высвобождение TNF- $\alpha$  приводит к активной миграции клеток, стимуляции фагоцитоза, продукции провоспалительных цитокинов, реэкспрессии HLA I/II, сдвигу в сторону Th1. Системное высвобождение

TNF- $\alpha$ , по аналогии с IL-1, вызывает лихорадку, тяжёлую потерю массы тела, гипотонию и шок. Это происходит при избыточной активации toll-рецепторов [Herbein H. et al., 2000; Хаитов Р.М., 2001].

TGF- $\beta$  – плеотропный и мультифункциональный цитокин – продуцируется многими клетками [Фрейдлин И.С., 1998]. TGF- $\beta$  – это семейство из нескольких близкородственных молекул: TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3 и др. Его продуцируют хондроциты, остеобласты, остеокласты, тромбоциты, фибробласты, активированные Т-лимфоциты, моноциты и макрофаги, причем, Т-лимфоциты и моноциты синтезируют главным образом TGF- $\beta$ 1 [Ройт А., 2006; Кетлинский С.А., 2008].

Этот противовоспалительный цитокин участвует в процессах воспаления, тканеобразования, репарации, усиливает рост фибробластов и синтез коллагена, обладает иммуносупрессивным и противовоспалительным действием. При развитии патологии TGF- $\beta$ 1 является основным медиатором формирования фиброза. Он ингибирует не только пролиферацию, но и функции иммунокомпетентных клеток: цитотоксических CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов (и, следовательно, синтез ими перфоринов и гранзимов), Т-хелперов 1 и 2 типа (что препятствует индукции и реализации Т-зависимых реакций), макрофагов (ингибируется продукция ими как цитокинов, так и реактивных соединений азота и кислорода), естественных киллеров и лимфокинактивированных клеток. Также TGF- $\beta$ 1 угнетает секрецию иммуноглобулинов активированными В-лимфоцитами и синтез цитокинов Т-клетками [Фрейдлин И. С., 1998; Кетлинский С.А., 2002, 2008].

Изменения соотношения про- и противовоспалительных цитокинов создает в перитонеальной полости благоприятные условия для имплантации и последующего роста жизнеспособных фрагментов эндометрия [Солодовникова Н.Г., Ниаури Д.А., 2006].

Имеются данные, указывающие на то, что измененная секреция IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, IL-18, TNF- $\alpha$ , фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), ICAM-1, и числа toll-подобных рецепторов

при эндометриозе обуславливает способность эндометриоидной стволовой клетки к миграции и имплантации в ткани [Vassiliadis S. et al., 2011]. Отмечается повышение уровней фактора TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 и IL-15 в перитонеальной жидкости больных ГЭ [Айламазяна Э.К. и др., 2006; Киселев О.И. и др., 2007].

В перитонеальной жидкости больных с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) установлено высокое содержание провоспалительного цитокина IL-1 [Sikora J. et al., 2012]. Согласно имеющимся в литературе данным, с повышением уровня этого цитокина сопряжены активация эндотелиальных клеток с увеличением экспрессии на них адгезионных молекул, активация нейтрофилов, повышенный синтез белков острой фазы [Фрейдлин И.С., Тотолян А.А., 2001]. Рядом исследователей выявлена способность IL-1 индуцировать ангиогенный фенотип эндометриальных клеток *in vitro* [Lebovis D.I., Bentzien F. et al., 2000]. Перечисленные свойства цитокина могут определять его участие в процессах имплантации эндометриальных клеток, активации ангиогенеза при наружном генитальном эндометриозе.

IL-6 относится к провоспалительным цитокинам, синтезируется активированными макрофагами и Т-клетками и стимулирует иммунный ответ. В перитонеальной жидкости больных наружным генитальным эндометриозом установлено высокое содержание IL-6 [Barcz E. et al., 2012]. Высокий уровень IL-6 выявлен в эндометриоидных гетеротопиях при тяжёлых формах НГЭ [Павлов О.В. и др., 2002].

Высокое содержание другого провоспалительного медиатора – IL-8 - в перитонеальной жидкости при эндометриозе, согласно результатам проведённых исследований, обусловлено синергичной стимуляцией IL-1 [Анциферова Ю.С., Сотникова Н.Ю. и др., 2003]. IL-8 – представитель семейства хемокинов. Основными клетками – продуцентами являются моноциты, эндотелиальные клетки. Установлено, что IL-8 выступает одним из ростовых факторов для эндометриальных клеток [Nishida M. et al., 2011].

Особый интерес вызывают полученные недавно сведения о том, что эндометриоидная ткань, как и перитонеальные макрофаги при ГЭ, продуцирует VEGF, обладающий мощными ангиогенными свойствами за счет стимуляции пролиферации эндотелиальных клеток. Это может быть одним из факторов выраженного ангиогенеза, являющегося признаком развития болезни. Возможно, заболевание изначально возникает из-за нарушения функций макрофагов, и повышенная продукция VEGF активированными макрофагами является первичным фактором возникновения ГЭ [Ярмолинская М.И., Сельков С.А., 2006; Góralczyk V. et al., 2012; Liang S. et al., 2012].

Дальнейшее изучение особенностей продукции цитокинов при ГЭ позволит расширить представления о механизмах развития заболевания. Дифференцированный подход к исследованию иммунной системы может открыть новые перспективы применения рекомбинантных цитокинов в комплексном лечении НГЭ с учётом индивидуальных особенностей иммунной системы, а также помочь в осуществлении мониторинга эффективности проводимой терапии [Солодовникова Н.Г., Ниаури Д.А., 2006].

#### **1.4. Молекулярно-генетические аспекты генитального эндометриоза**

В многочисленных исследованиях, выполненных за последние десятилетия, продемонстрировано существование новых механизмов формирования полиморфной структуры генов цитокинов. Это аллельный полиморфизм генов цитокинов и их промоторов, а так же альтернативный сплайсинг генов цитокинов и их рецепторов [Козлов В.А., Сенников С.В., 2004; Ollier W.E., 2004]. С одной стороны, такие механизмы формируют ещё более сложную полиморфную цитокиновую сеть в организме, с другой же – позволяет взглянуть на её организацию с новой позиции [Козлов В.А., Сенников С.В., 2004].

### 1.4.1. Структурные основы функционального полиморфизма генов ЦИТОКИНОВ

В результате проведения программы «Геном человека» удалось полностью расшифровать нуклеотидную последовательность ДНК. При этом выяснилось, что гены разных людей при почти полной идентичности неодинаковы. Наиболее частой причиной существования нескольких вариантов одного гена (аллелей) являются точечные мутации – замены единичных нуклеотидов, или так называемый полиморфизм единичных нуклеотидов (SNP - single-nucleotide polymorphism). Кроме того, более редко встречаются и другие генетические изменения, например, различное число повторений одинаковых коротких участков гена – тандемные повторы частей гена, а также делеции нуклеотидов или небольших фрагментов гена. Эти генетические различия и вносят важный вклад в индивидуальные особенности развития защитных реакций и предрасположенности к целому ряду заболеваний [Симбирцев А.С., 2005, 2006; Кофиади И.А., 2006].

SNP – это переменные позиции в последовательности ДНК. Полиморфными считаются только те места в последовательности ДНК, для которых частота встречаемости наименее распространенного варианта составляет не менее 1%. Распределение SNP неравномерно, однако в среднем на тысячу оснований приходится один переменный нуклеотид. Таким образом, два неродственных гаплоидных человеческого генома отличаются примерно тремя миллионами SNP [Hirakawa M. et al., 2002; Симбирцев А.С., 2005; Цыган В.Н. и др., 2010].

Аллельный полиморфизм, как результат чаще всего точечных мутаций, может быть связан как с кодирующими, так и с некодирующими районами генов цитокинов. Однако большая часть SNP в кодирующих участках генов (экзонах) элиминируется как в процессе репарации ДНК, так и в результате естественного отбора, что приводит к серьезным нарушениям кодируемого белка, поскольку затрагивает его структуру и функцию. Поэтому, полиморфизмы в экзонах, приводящие к замене аминокислоты (и, как



следствие, ассоциированные с определённым фенотипом), встречаются довольно редко и составляют примерно 5% всех выявляемых точечных мутаций [Weiner M.P., 2002; Кофиади И.А., 2006].

Большинство выявляемых SNP-замен чаще затрагивают 5'- либо 3'-концевые регуляторные участки генов, например, область промотора или располагаются в некодирующих областях (интронах) и не отражаются на аминокислотной последовательности транслируемого белка. Однако часть из них может влиять на скорость транскрипции генов, стабильность и сплайсинг мРНК, тем самым приводя к увеличению или уменьшению количества и уровня биологической активности синтезируемого пептида. Такие единичные замены нуклеотидов, т.е. SNP, называют функциональными полиморфизмами генов [Рыдловская А.В., 2005; Симбирцев А.С., 2005, 2006].

Различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут определять различный характер протекания воспалительного ответа и специфических иммунологических реакций при внедрении патогенов. В первую очередь это касается генов регуляторных молекул, обеспечивающих начальные этапы развития воспалительной реакции: распознавание патогена, проведение внутриклеточного активационного сигнала и синтез медиаторов развития воспалительной реакции, в состав которых входят и цитокины [Симбирцев А.С.; Громова А.Ю., 2005].

Известно, что практически все гены цитокинов человека являются индуцибельными, часто их индукция определяется воздействием транскрипционных факторов на энхансерную последовательность промоторного участка гена. Промоторы генов цитокинов и их рецепторов тоже полиморфны по своей структуре, и их полиморфизм оказывает влияние на количество белкового продукта генов цитокинов. Поскольку наибольшее количество аллельных вариантов генов цитокинов установлено именно для их промоторов, мутации в этих промоторах влияют на уровень экспрессии контролируемого гена, не изменяя кодируемых генами продуктов. Влияние

подобных полиморфизмов на транскрипцию осуществляется путем изменения структуры сайтов связывания транскрипционных факторов внутри промоторов генов (или структуры энхансеров и сайленсеров внутри интронов). Или такие полиморфизмы могут изменять сайты присоединения пространственных факторов транскрипции в ядерном матриксе, что приводит к изменению структуры промоторов [Коненков В.И., Смольникова М.В., 2003].

#### **1.4.2. Связь аллельных вариантов генов цитокинов с развитием заболеваний**

Исследования ассоциаций аллельных вариантов генов цитокинов с заболеваниями связаны с попытками установить иммуногенетические маркеры ряда заболеваний человека. Изолированное изучение полиморфизма того или иного цитокина или цитокинового рецептора, индивидуальные ассоциации с заболеваниями могут быть неинформативны, в то время как комбинации генотипов цитокинов служат предрасполагающими факторами восприимчивости к заболеванию или особенностей его клинического течения [Наследникова И.О. и др., 2005; Цыган В.Н. и др., 2010].

На сегодняшний день приоритетным является изучение ассоциированности того или иного заболевания с целым рядом аллельных вариантов генов цитокинов [Козлов В.А., Сенникова С.В., 2004; Ollier W.E., 2004; Hollegaard M.V., Bidwell J.L., 2006]. Поиск ассоциаций аллелей цитокинов, ответственных за повышенную или пониженную продукцию белкового продукта, с патологическим состоянием, характером и тяжестью течения ряда заболеваний человека имеет решающее значение [Наследникова И.О. и др., 2005; Ризванова Ф.Ф. и др., 2010; Цыган В.Н. и др., 2010].

Гены цитокинов – привлекательные кандидаты для рассмотрения их ассоциаций с аллергическим воспалением. Так, выявлено несколько кандидатных генов внутри участка хромосомы 5q31-33 в исследованиях, посвящённых обнаружению генов предрасположенности к атопии и

бронхиальной астме [Пузырёв В.П. и др., 2002; Parate P.N. et al., 2010].

Среди аутоиммунных заболеваний одно из первых мест в исследованиях ассоциативных связей аллельных вариантов генов цитокинов с патологией занимает ревматоидный артрит – хроническое системное воспалительное заболевание соединительной ткани [Козлов В.А., Сенников С.В., 2004; Balog A. et al., 2005]. Характерной особенностью ревматоидного артрита является дисбаланс продукции цитокинов провоспалительной природы (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, растворимые рецепторы TNF- $\alpha$ ) с преобладанием синтеза первых над вторыми.

Установлено, что все признаки прогрессирования заболевания у больных ревматоидным артритом были значительно ниже у пациентов, несущих аллель  $\alpha 1$  (-889C) гена *IL1* и, напротив, выше – у пациентов с аллельной формой гена *IL1*  $\alpha 2$  (-889T), которая, таким образом, является фактором риска для развития этой патологии [Balog A. et al., 2004].

С привлечением современных иммунологических и молекулярно-генетических методов исследования выявлен генетически детерминированный дисбаланс продукции иммунорегуляторных цитокинов мононуклеарными лейкоцитами при туберкулёзе лёгких. Установлено, что иммуногенетическим фактором, обладающим протективным эффектом в отношении подверженности туберкулёзу лёгких, является аллель *T* и генотип *TT* полиморфизма +874*A/T* гена *IFNG*. Подверженность туберкулёзной инфекции ассоциирована с аллелем *A*, а также генотипами *AA* и *AT* полиморфизма +874*A/T* гена *IFNG* и *CT* полиморфного варианта *G509T* гена *TGFB*. Максимальный риск развития туберкулёза лёгких связан с комбинацией генотипов *AA* полиморфного сайта +874*A/T* гена *IFNG* и *TT* полиморфизма *G509T* гена *TGFB* (*AA/TT*) [Никулина Е.Л. и др., 2010].

В настоящее время интенсивно исследуются генетические факторы, способствующие развитию такого заболевания, как лейомиома.

Формирование лейомиомы сопровождается некоторыми изменениями в иммунном статусе организма женщин. Это прежде всего касается синтеза интерлейкинов, интерферонов, активности системы комплемента. При интенсивном росте лейомиомы наблюдается явно выраженное снижение активности гуморального и клеточного иммунитета. Из исследуемых полиморфизмов генов интерлейкинов установлена ассоциация гена *IL4* и *TNFA* с развитием лейомиомы [Sosna O. et al., 2010].

В последние годы многими исследователями широко изучается вопрос генетической детерминированности онкологических заболеваний. L. Wang et al. [2012] показали, что полиморфизм гена *IL17A* связан с риском рака молочной железы и может использоваться с целью предсказания прогноза рака молочной железы среди китайских женщин. По данным Yi Quan et al. [2012], полиморфизм гена *IL17A* может влиять на предрасположенность к развитию рака шейки матки у китайок. Исследования K.L. He [2011] показали связь полиморфизма -572C / G гена *IL6* и риск развития рака молочной железы.

Вопрос о том, имеется ли генетическая основа индивидуальных особенностей реагирования системы иммунокомпетентных клеток крови при эндометриозе, изучен недостаточно, и имеющиеся на сегодняшний день данные весьма малочисленны и фрагментарны.

Так, Y.Y. Hsieh et al. [2005] показали связь полиморфизма -509 C/T гена *TGFB1*, полиморфизма 881 T/C гена *IL2B* и полиморфизма -627 A/C гена *IL10* с развитием эндометриоза у женщин, проживающих на территории Тайваня. F. Wieser et al. [2003] показали связь полиморфизма 174 G/C гена *IL6* к предрасположенности развития эндометриоидных кист.

В исследовании, проведенном М.И. Ярмолинской, была определена роль аллельных вариантов генов цитокинов (*IL4* и *IL4R*, *RANTES*, *TNF*) при НГЭ. Было установлено, что при наличии аллеля С гена *IL4* риск развития эндометриоза возрастает в 3 раза, причем частота носительства аллеля С по гену *IL4* достоверно выше у больных НГЭ тяжелой степени. Гомозиготность

по редкому аллелю полиморфизма *G1902A* гена рецептора интерлейкина 4 (*IL4R*) увеличивает риск развития наружного ГЭ в 16,5 раз. Носительство аллеля -308A гена *TNF*, в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития НГЭ в 7,5 раз. Наличие генотипа *A/G* гена *RANTES* (G-403A) увеличивает риск развития эндометриоза в 2,5 раза [Ярмолинская М.И., 2009].

М.М. Соновой изучены особенности генетического полиморфизма трех генов – гена ароматазы (*CYP19*) и двух генов ферментов детоксикации 2-й фазы – *GSTM1* и *GSTT1*. Сочетание полиморфных вариантов гена ароматазы (*CYP 19*) и гена глутатионтрансферазы-μ *GSTM* ассоциировано с более тяжелыми стадиями (3-4 ст.) развития эндометриоза, болевым синдромом и рецидивирующими формами заболевания. По исследованию гена глутатионтрансферазы-τ *GSTT* не обнаружено какой-либо ассоциативной связи как с другими изученными генами, так и с основными клиническими проявлениями заболевания [Сонова М.М., 2009]. Однако Н.Ю. Швед [2006] получены достоверные корреляционные связи этого гена с развитием и тяжелым течением наружного генитального эндометриоза.

Исследования последних лет доказывают, что подверженность заболеванию зависит от определенных аллельных вариантов генов, формирующих неблагоприятный наследственный фон. Поиск маркеров предрасположенности к эндометриозу среди аллелей генов цитокинов – новый, перспективный раздел исследований.

Таким образом, существующие на сегодня данные позволяют предположить, что полиморфные гены цитокинов способны принимать активное участие в формировании специфического иммунного ответа на патологические процессы и состояния человека. При этом отдельные аллельные варианты могут быть ассоциированы с уровнем продукции соответствующего белкового продукта, что также оказывает влияние на характер течения заболевания и развитие определённых осложнений.

### 1.4.3. Заключение

В настоящее время в России, как и во многих других странах мира, особую значимость приобрела проблема генитального эндометриоза. Молодой возраст больных, длительное и прогрессирующее течение заболевания, тяжесть клинических проявлений, стойкое нарушение репродуктивной функции, снижение качества жизни и ограничение трудоспособности определяют как медицинское, так и социальное значение этой патологии.

Несмотря на увеличение числа научных и клинических исследований, посвящённых различным аспектам генитального эндометриоза, многие вопросы этиологии, патогенеза, диагностики и лечения этого заболевания остаются открытыми по сей день.

В настоящее время наибольшей поддержкой пользуется гипотеза происхождения эндометриоза как результата имплантации элементов эндометрия в полости малого таза. При этом значительная роль в патогенезе заболевания отводится иммунной системе организма. Имеются данные о генетической предрасположенности к эндометриозу, особенно при наличии тяжелого рецидивирующего течения заболевания [Адамян Л.В., 2006, Zhao Z. et al., 2007, Chae S.J et al., 2008, Баранов В.С. и др., 2009, Dun E.C. et al., 2010, Lakshmi K.V. et al., 2010].

Направленность иммунных реакций в отношении эктопически локализованных клеток эндометрия в значительной мере определяются особенностями межклеточной кооперации иммуноцитов, как модулируемыми в ответ на распространение, адгезию и пролиферацию гетеротопий, так и генетически детерминированными. Это влияние может быть опосредовано через изменение продукции и связывания иммунорегуляторных цитокинов иммунокомпетентными клетками.

Гены интерлейкинов обладают высокой степенью полиморфизма – замены единичных нуклеотидов за счет формирования специфических

аллелей генов – вносят важный вклад в индивидуальные особенности развития защитных реакций, а также предрасположенность к заболеваниям.

Показано, что полиморфные сайты *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL4*, *C-592A* гена *IL10*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA*, *C-509T* гена *TGFB* ассоциированы с уровнем продукции соответствующих цитокинов [Симбирцев А.С., 1998; Козлов В.А., Сенников С.В., 2004].

Роль полиморфных генов цитокинов и их рецепторов в механизмах развития генитального эндометриоза изучена недостаточно, что подтверждает необходимость проведения настоящего исследования. Кроме того, анализ влияния полиморфных вариантов изучаемых нами генов позволит выявить группы риска развития и неблагоприятного течения эндометриоза среди женщин репродуктивного возраста.

## **Глава 2. Материал и методы исследования**

Работа выполнена в ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России на базе кафедр патологической физиологии (зав. кафедрой, академик РАМН, д-р мед. наук, профессор Новицкий В.В.) и акушерства и гинекологии (зав. кафедрой, д-р мед. наук, профессор Евтушенко И.Д.). Исследования проводились в лаборатории экспериментальной патофизиологии кафедры патофизиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории (зав. – д-р мед. наук, профессор Байков А.Н.).

### **2.1. Клиническая характеристика обследованных женщин**

Для достижения поставленной цели исследования и решения задач было обследовано 300 женщин в возрасте от 18 до 40 лет, находившихся на стационарном лечении в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (зав. – канд. мед. наук Ткачев В.Н.) с 2010 по 2012 гг., подписавших информированное согласие на участие в исследовании.

В программу исследования были включены женщины только европеоидного происхождения, проживающие на территории г. Томска и Томской области, поскольку существуют значительные межрасовые различия в распределении исследуемых генотипов и аллелей.

Все обследованные нами женщины были разделены на 2 группы: основную и группу контроля.

В основную группу были включены 200 пациенток, страдающих наружным генитальным эндометриозом.

Критерии включения:

- репродуктивный возраст 18-40 лет;
- подтверждённый диагноз «наружный генитальный эндометриоз» (лапароскопически и гистологически);



- согласие на участие в исследовании.

Согласно классификации американского общества фертильности (R-AFS, 1985 г.), обследованные женщины были распределены на две подгруппы - в зависимости от степени распространения ГЭ:

- женщины с I-II степенью распространения – 107 пациенток;
- женщины с III-IV степенью распространения – 93 пациентки.

Контрольная группа состояла из 100 женщин, которым проводилась диагностическая лапароскопия, при проведении которой не было выявлено органической патологии. Показания: хроническая тазовая боль, хирургическая стерилизация женщин с реализованной репродуктивной функцией и бесплодие.

Критерии исключения были общими для двух групп:

- возраст до 18 и после 40 лет;
- другая патология органов малого таза (воспалительные заболевания, миома матки, врождённая аномалия);
- экстрагенитальные заболевания в стадии декомпенсации;
- онкологические заболевания;
- участие в другом клиническом исследовании;
- отказ от участия в данном исследовании.

У всех женщин изучали анамнез, проводили общее и гинекологическое (бимануальное) обследование, ультразвуковое исследование органов малого таза на 5-6 день менструального цикла.

Всем женщинам была проведена лапароскопия с последующим гистологическим исследованием операционного материала.

При изучении анамнеза учитывали длительность заболевания, наследственный характер, предыдущие оперативные вмешательства на

органах малого таза. Проведён анализ менструального цикла с учетом возраста менархе, длительности и объема кровопотери, болезненности.

Репродуктивная функция оценивалась по количеству беременностей, их течению, исходу, наличию осложнений, особенностям родов.

Выясняли клинические проявления генитального эндометриоза и проводили оценку интенсивности болей согласно шкале MacLavery С.М., Shaw R.W. (табл. 1).

Таблица 1

**Система оценки интенсивности болей  
(по С.М. MacLavery, R.W. Shaw, 1995 г.)**

Причина боли	Интенсивность	Баллы
Боль в области таза, не связанная с половым актом или менструацией	Нет	0
	Слабая – временами ощущения дискомфорта или боли перед менструацией	1
	Умеренная – заметный дискомфорт в течение большей части менструального цикла	2
	Сильная – в течение всего менструального цикла; больные вынуждены применять анальгетики	3
Дисменорея	Нет	0
	Слабая – с некоторым нарушением трудоспособность	1
	Умеренная – заставляет больную оставаться в постели несколько часов в день, нарушение трудоспособности	2
	Сильная – заставляет больную оставаться в постели целый день или несколько дней	3
Диспареуния	Нет	0
	Слабая – имеется, но выносима	1
	Умеренная – настолько сильная, что вынуждает прервать сношение	2
	Сильная – настолько интенсивная, что вынуждает избегать сношений	3

## 2.2. Лапароскопия

При проведении настоящей работы лапароскопию выполняли с целью

дифференциальной диагностики эндометриоза, уточнения локализации и степени распространения процесса, определения объёма предстоящей операции, проведения лечебных мероприятий (разделение спаек, коагуляция очагов эндометриоза, удаление эндометриоидных кист яичников с использованием электрохирургии).

Лапароскопию проводили по общепринятой методике. Использовались лапароскопы фирмы «Karl Storz» (Германия). Операцию выполняли под эндотрахеальным наркозом. Для наложения пневмоперитонеума использовали CO<sub>2</sub>. После введения лапароскопа в брюшную полость производили общий осмотр органов малого таза, ревизию кишечника, сальника, аппендикулярного отростка, печени. Затем приступали к тщательному осмотру органов малого таза. Степень распространения эндометриоза оценивали в соответствии с классификацией R-AFS (Revised Classification of American Fertility Society, 1985).

### **2.3. Гистологическое исследование операционного материала**

Образцы тканей для проведения морфологического исследования были взяты во время лапароскопии до коагуляции очагов эндометриоза и доставлялись в патологоанатомическое отделение ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (зав. отделением д-р мед. наук, Вторушин С.В.). Ткань фиксировали в 10% нейтральном формалине, в дальнейшем материал обезжиривали и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином по Ван Гизону. Морфологическое исследование полученных препаратов проводилось при помощи световой микроскопии при увеличении от 40 до 250.

### **2.4. Материал исследования**

Материалом исследования служила венозная кровь, стабилизированная солями этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), взятая из локтевой

вены утром натощак в день операции в количестве 5 мл до назначения гормональной терапии, а также сыворотка крови. Сыворотку получали из 2 мл крови без антикоагулянта общепринятым методом. Забор крови производился в стерильные вакуумные пробирки системы Monovette.

## **2.5. Методы исследования**

### **2.5.1. Иммуноферментный анализ для оценки уровня цитокинов в сыворотке крови**

Для оценки уровня IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  в сыворотке крови использовали твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод (ELISA).

**Принцип метода** заключается в конъюгации одного эпитопа молекулы цитокина мышиными моноклональными антителами, сорбированными на твердой фазе микропланшета. Другой тип антител – кроличьи поликлональные, специфичные против человеческих цитокинов антитела соединяются с независимым эпитопом цитокина. Избыток кроличьих антител удаляется. К сорбированным на твердой фазе комплексам цитокин-антитела добавляется окрашивающий раствор. Оптическая плотность раствора пропорциональна концентрации определяемого вещества и регистрируется колориметрически. Калибровочная кривая строится с использованием среды, не содержащей продукты жизнедеятельности клеток («0 доза») и стандартных растворов цитокинов с известной концентрацией.

**Ход определения.** Процедура выполнения иммуноферментного анализа (ИФА) проводилась по инструкции, предлагаемой производителем тест-систем («Протеиновый контур», Россия; «Biosource», США).

Для оценки уровня IL-2, IL-4 и TNF- $\alpha$ , микропипеткой добавляли по 100 мкл «0 дозы» и стандартов данных цитокинов с известными концентрациями в соответствующие ячейки предварительно промытого буфером микропланшета. В остальные лунки вносили сыворотку крови в объеме 200 (для определения TNF- $\alpha$  и IL-4) и 100 (IL-2) мкл, инкубировали в течение 1 ч при 37°C. После нескольких циклов промывки в каждую ячейку

добавляли по 100 (для определения TNF-а и IL-4) и 200 (IL-2) мкл раствора вторых антител и проводили часовую инкубацию при 37°C. Промыв планшеты буфером и дистиллированной водой, в каждую лунку вносили по 100 (TNF-а и IL-4) и 200 (IL-2) мкл конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена и инкубировали 30 мин при 20-25°C (TNF-а и IL-4) и 1 ч при 37°C (IL-2). По окончании инкубации, промыв микропланшеты, в каждую ячейку добавляли по 100 (TNF-а и IL-4) и 200 (IL-2) мкл раствора субстрата с красителем. Через 15-20 мин в лунки вносили по 50 мкл стоп-реагента.

Для исследования уровня TGF- $\beta$  и IL-10 в сыворотке крови в лунки предварительно промытого микропланшета вносили по 200 мкл «0 дозы» и стандартов TGF- $\beta$  и IL-10 с известными концентрациями. В оставшиеся ячейки помещали по 100 мкл сыворотки крови и фосфатного буфера, инкубировали в течение 1 ч при 37°C. После трехкратного цикла промывки в лунки микропланшета добавляли по 200 мкл вторых антител и также инкубировали 1 ч при 37°C. Трижды промыв планшет буфером, в каждую ячейку вносили 200 мкл конъюгата пероксидазы хрена с антивидовыми поликлональными антителами и ставили в термостат на 1 ч. После трехкратного цикла промывки в лунки добавляли 200 мкл раствора субстрата с красителем. Через 15-20 мин инкубации в затемненном месте при комнатной температуре вносили 50 мкл стоп-реагента.

Для оценки содержания IL-12 $\beta$  в сыворотке крови микропипеткой в соответствующие ячейки микропланшета добавляли по 100 мкл «0 дозы» и стандартов IL-12 $\beta$  с известными концентрациями. В оставшиеся ячейки помещали 100 мкл сыворотки крови. Инкубировали 2 ч при комнатной температуре при постоянном встряхивании. После нескольких циклов промывки в каждую ячейку добавляли по 50 мкл поликлональных антител и инкубировали планшет 2 ч, постоянно встряхивая, при комнатной температуре. После трехкратного цикла промывки в каждую лунку добавляли 200 мкл окрашивающего раствора и инкубировали 30 мин при комнатной температуре в темном месте. По окончании фазы инкубации в

лунки вносили по 50 мкл стоп-реагента.

Учет результатов ИФА производили с помощью фотометра для микропланшетов «Multiscan EX» («ThermoLabSystems», Финляндия) при длине волны 450 (для IL-2, IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) и 490 (для IL-12 $\beta$ ) нм. Концентрацию цитокинов вычисляли по калибровочной кривой.

### 2.5.2. Выделение ДНК

Выделение ДНК из периферической крови проводили согласно инструкции, прилагаемой к набору «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия).

**Принцип метода.** ДНК осаждается на сорбент, затем отмывается буферным раствором и сорбент удаляется. Полученная ДНК используется для дальнейших определений.

**Ход работы.** Перед началом работы лизирующий раствор и раствор для отмывки 1 прогревали при 65°C до полного растворения кристаллов. Отбирали необходимое количество одноразовых пробирок. Вносили в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора и по 100 мкл венозной крови. Пробы тщательно перемешивали на вортексе.

Тщательно ресуспендировали сорбент на вортексе и добавляли в каждую пробирку отдельным наконечником по 25 мкл ресуспендированного сорбента. Пробы перемешивали на вортексе, ставили в штатив на 2 мин, затем ещё раз перемешивали и оставляли в штативе на 5 мин. Осаждали сорбент в пробирках центрифугированием при 5000 об/мин в течение 30 с. Удаляли супернатант в колбу-ловушку, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.

Добавляли в пробы по 300 мкл раствора для отмывки 1 и перемешивали на вортексе до полного ресуспендирования сорбента. Осаждали сорбент центрифугированием при 5000 об/мин на микроцентрифуге в течение 30 с. Удаляли супернатант вакуумным отсасывателем и отдельным наконечником для каждой пробы. Далее в пробы

вносили по 500 мкл раствора для отмывки 2, перемешивали до полного ресуспендирования сорбента, центрифугировали 30 с при 10000 об/мин, отбирали супернатант вакуумным отсасывателем и отдельным наконечником для каждой пробы (процедуру отмывки повторяли дважды).

Пробирки с открытыми крышками помещали в термостат при 65°C на 5-10 мин для подсушивания сорбента, после чего в пробирки добавляли по 50 мкл TE-буфера для элюции ДНК, перемешивали на вортексе и ставили в термостат при 65°C на 5 мин, периодически встряхивая на вортексе. Центрифугировали пробирки на микроцентрифуге при 12000 об/мин в течение 1 мин. Полученный супернатант содержал очищенную ДНК.

### 2.5.3. Исследование полиморфизма генов цитокинов

Исследование полиморфных участков генов цитокинов проводили с использованием аллель-специфической амплификации специфических участков генома [Кофиади И.А., 2006].

**Принцип метода.** Исследуемые аллельные варианты генов относятся к SNP-полиморфизмам, т.е. характеризуются заменой одного нуклеотида. Для детекции используется аллельспецифическая полимеразная цепная реакция (ПЦР). По наличию или отсутствию продукта амплификации делают заключение о характере полиморфизма.

**Ход работы.** Амплификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к набору «АмплиСенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф» путём ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе с применением амплификатора «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия). Было исследовано шесть полиморфных варианта шести цитокинов *T-330G* гена *IL2* (rs2069762), *C-590T* гена *IL-4* (rs2243250), *C-592A* гена *IL10* (rs1800872), *A-1188C* гена *IL12B* (rs3212227), *G-308A* гена *TNFA* (rs1800629), *C-509T* гена *TGFβ* (rs1800469).

Общая реакционная смесь для амплификации объёмом 25 мкл

содержала: «нижнюю» смесь, состоящую из смеси праймеров («Синтол», Россия) и смеси дезоксинуклеотидтрифосфатов 2мМ (dNTP-mix) в равных частях в отдельных пробирках на каждую пару праймеров; «верхнюю» смесь в конечной концентрации  $Mg^{2+}$  2,5, 10 мкл ПЦР-буфера, 2,5 мкл 50мМ  $MgSO_4$ , 6,5 мкл  $H_2O$  и 1 ед акт. Tag-полимеразы (из расчёта на одну пробирку). Раскапывали в микропробирки для ПЦР по 5 мкл «нижней» смеси и по 10 мкл «верхней» смеси. Сверху капали по 1 капле масла для ПЦР. Вносили сверху на масло по 10 мкл исследуемой ДНК.

Программа амплификации включала в себя предварительную денатурацию при 96°C в течение 1 мин, с последующими 10 циклами, каждый из которых состоял из денатурации при 96°C (15 с), отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (50 с), элонгации цепи при 72°C (40 с). Затем 20 циклов, состоящих из денатурации при 96°C (10 с), отжиг при 60°C (50 с) и элонгации при 72°C (40 с). Программу завершала финальная элонгация при 72°C в течение 1 мин (табл. 2) [Howell W.M. et al., 2003; И.А. Кофиади, Д.В. Ребриков, 2006; M.V. Hollegaard, J.L.Bidwell, 2006; Д. Д. Абрамов и др., 2011].

Анализ продуктов амплификации проводили разделением фрагментов ДНК в 2% агарозном геле: 2 г агарозы смешивали с 2 мл 50xТАЕ буфера (242 г трисаминометана, 37,2 г ЭДТА, 57,1 мл ледяной уксусной кислоты, довести до 1 л  $H_2O$ , рН 8,0) и нагревали в микроволновой печи до полного расплавления агарозы. Охлаждали раствор до 50-60° С и заливали в камеру для электрофореза, в которой предварительно устанавливали гребенку для формирования лунок. Для формирования геля оставляли его на 20-30 мин, затем камеру заполняли 1xТАЕ буфером (10 мл 50xТАЕ буфера, 490 мл  $H_2O$ ) так, чтобы он слегка покрывал гель и убирали гребенку.

После проведения ПЦР 5 мкл амплификата разделяли в агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидиум бромид, при напряжении 150 В в течение 3 мин для последующей визуализации в УФ-свете, подтверждающей наличие продукта амплификации.





**Характеристика исследованных полиморфных вариантов генов  
ЦИТОКИНОВ**

Ген, полиморфный сайт	Структура праймеров	Длина продукта амплификации	Температура отжига праймеров (°C)	Ссылка
<i>IL2 T-330G</i>	IL2 common: 5'-ACG CCT TCT GTA TGA AAC-3' IL2 T: 5'-TCA CAT GTT CAG TGT AGT TTT AT-3' IL2 G: 5'-TCA CAT GTT CAG TGT AGT TTT AG-3'	104 п.о.	55	Howell W.M. et al., 2003; Кофиади И.А., Ребриков Д.В., 2006; Hollegaard M.V., Bidwell J.L., 2006; Абрамов Д.Д. и др., 2011.
<i>IL4 C-590T</i>	IL4 common: 5'-AGT ACAGGT GGC ATC TTG GGA A- 3' IL4 C: 5'-CTA ACC TTG GGA GAA CAT TGT C- 3' IL4 T: 5'-CTA ACC TTG GGA GAA CAT TGT T- 3'	131 п.о.	64	
<i>IL10 C-592A</i>	IL10 common: 5'- TAA CTT AGG CAG TCA CCT TAG G- 3' IL10 C: 5'-ACA TCC TGT GAC CCC GCC TGT C- 3' IL10 A: 5'-ACA TCC TGT GAC CCC GCC TGT A- 3'	151 п.о.	65,5	
<i>IL12B A-1188C</i>	IL12B-common: 5'-GAC ACA ACG GAA TAG ACC-3' IL12B-A: 5'-AAT GAG CAT TTA GCA TCT-3' IL12B-C: 5'- AAT GAG CAT TTA GCA TCG-3'	116 п.о.	55	
<i>TNFA G-308A</i>	TNFA common: 5'-TCT CGGTTT CTT CTC CAT CG- 3' TNFA A: 5'-ATA GGT TTT GAG GGG CAT GA- 3' TNFA G: 5'-ATA GGT TTT GAG GGG CAT GG- 3'	184 п.о.	65	
<i>TGFB C-509T</i>	TGFB common: 5'-CTA CGG CGT GGA CTG AG-3' TGFB C: 5'-AAG GGG CAA CAG GAC TGG G-3' TGFB T: 5'-AAG GGG CAA CAG GAC ACC TGG A- 3'	349 п.о.	61	

В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду pUC19, расщепленную рестриктазой MspI («Сибэнзим», Россия).

## 2.6. Статистическая обработка результатов

Результаты исследования обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel (2007), стандартного пакета программ SPSS® 17.0 for Windows.

Статистическую обработку данных проводили с использованием общепринятых подходов, результаты представлены в виде выборочного среднего ( $M$ ) и стандартной ошибкой среднего ( $m$ ); медианы ( $Me$ ), характеризующей центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующих разброс значений показателя у 50% респондентов ( $Q1$ — $Q3$ ), где  $Q1$  — 25% перцентиль,  $Me$  — 50% перцентиль,  $Q3$  — 75% перцентиль.

Для определения соответствия распределения количественных признаков нормальному закону использовали критерий Шапиро-Уилка.

Проверку статистической значимости равенства выборочных средних, имеющих ненормальный закон распределения, проверяли с помощью  $U$ -критерия Манна-Уитни для двух групп и с помощью критерия Крускала-Уолиса для трех групп. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  и  $p < 0,001$ .

Для анализа качественных независимых данных использовали хи-квадрат Пирсона либо точный критерий Фишера [Гланц С., 1998; Гмурман В.Е., 2006].

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью точного теста Фишера [Вейр Б., 1995]. Рассчитывали ожидаемую гетерозиготность полиморфизма исследуемых генов. Относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой ( $D$ ) рассчитывали по формуле:

$$D=(hobs-hexp)/hexp,$$

где hobs и hexp – ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность соответственно.

Для анализа ассоциации маркеров исследуемых генов с эндометриозом, а также с качественными патогенетически важными признаками заболевания, сравнивали частоты аллелей и генотипов в группах больных и здоровых индивидов, используя критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. При численностях генотипов менее пяти использовали точный тест Фишера. В дополнение к этому об ассоциации разных генотипов (или их комбинаций) с заболеванием судили по величине отношения шансов (odds ratio (OR)), которая показывает, во сколько раз выше вероятность заболеть для индивида с определенным генотипом (или комбинацией генотипов) [Pearce N., 1993].

$$OR= (A/B)/(C/D), \text{ где}$$

A – число (процент) людей с данным генотипом (комбинацией генотипов) в группе больных;

C - число (процент) людей с данным генотипом (комбинацией генотипов) в группе здоровых;

B – число (процент) индивидов, не имеющих данного генотипа (комбинации генотипов) в группе больных;

D - число (процент) индивидов, не имеющих данного генотипа (комбинации генотипов) в группе здоровых.

Значения  $OR>1$  указывают на возможную положительную ассоциацию с заболеванием. Обсуждение величин OR проводили при уровне значимости не более 5% [Флейс Дж., 1989].

### Глава 3. Результаты собственных исследований

#### 3.1. Анализ клинических данных обследованных женщин

В результате анализа возрастного состава женщин между группами статистически значимые различия выявлены не были ( $p > 0,05$ ), в связи с чем группы были сопоставимы по возрастному составу (табл.3).

Таблица 3

#### Возрастной состав обследованных женщин

Показатель	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом
	<b>n=100</b>	<b>n=200</b>
Возраст, <b>M ± m, (мин.-макс.)</b>	30,26 ± 0,406 (от 19 до 38)	30,33 ± 0,334 (от 18 до 39)

**Примечание:** здесь и в табл. 4 данные представлены в виде средней (M) и ошибки средней (m).  
Статистически значимые различия не найдены ( $p > 0,05$ ).

При анализе возрастного состава женщин без эндометриоза и с эндометриозом различной степени распространения статистически значимые различия так же выявлены не были ( $p > 0,05$ ) (табл. 4).

Таблица 4

#### Возрастной состав женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985г.)

Показатель	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	<b>n=100</b>	<b>n=107</b>	<b>n=93</b>
Возраст, <b>M ± m, (мин.-макс.)</b>	30,26 ± 0,406 (от 19 до 38)	30,15 ± 0,48 (от 18 до 39)	30,53 ± 0,463 (от 23 до 39)

При анализе социального статуса обследованных женщин статистически значимые различия выявлены не были ( $p > 0,05$ ). Обращало на себя внимание то, что основную массу составили социально активные работающие женщины (табл.5).

Таблица 5

### Социальный статус обследованных женщин (абс., %)

Социальный статус	Женщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом		$\chi^2$ , p
	n=100		n=200		
	абс.	%	абс.	%	
<b>Работающие</b>	86	86,0	163	81,5	1,55 p>0,05
<b>Студентки</b>	5	5,0	9	4,5	
<b>Домохозяйки</b>	9	9,0	28	14,0	

**Примечание:** здесь и в табл. 6,7 n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера. p– уровень статистической значимости между группами. Статистически значимые различия считали при p<0,05.

Анализ социального статуса по трём группам статистически значимые различия не выявил (p>0,05) (табл.6).

Таблица 6

### Социальный статус женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) (абс., %)

Социальный статус	Женщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом 1-2 ст.		Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		$\chi^2$ , p
	n=100		n=107		n=93		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<b>Работающие</b>	86	86,0	85	79,4	78	83,9	2,423 p>0,05
<b>Студентки</b>	5	5,0	5	4,7	4	4,5	
<b>Домохозяйки</b>	9	9,0	17	15,9	11	11,8	

Особое внимание уделялось выяснению наследственного анамнеза по наличию эндометриоза в первом и (или) во втором поколении (сестра, при ее наличии, мать и бабушка). Наследственный анамнез по эндометриозу представлен в таблице 7.

При анализе наследственного анамнеза было обнаружено, что женщины с эндометриозом имели отягощенный семейный анамнез по сравнению с группой контроля (p<0,05) (табл. 7).

Таблица 7

**Наследственный анамнез по эндометриозу у обследованных женщин  
(абс., %)**

Наследственный анамнез	Женщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом		$\chi^2$ , Р
	n=100		n=200		
	абс.	%	абс.	%	
<b>Не отягощен</b>	100	100,0	191	95,5	7,437 Р<0,05
<b>Отягощен</b>	0	0	9	4,5	

Кроме того, были выявлены статистически значимые различия при сравнительном анализе данных наследственного анамнеза женщин без эндометриоза и женщин, имеющих разную степень распространения ГЭ согласно классификации R-AFS, 1985 г. ( $p < 0,05$ ).

Наследственный анамнез был отягощён у женщин с эндометриозом, независимо от степени распространения процесса. Данные представлены в таблице 8.

Таблица 8

**Наследственный анамнез по эндометриозу женщин с эндометриозом  
различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) (абс., %)**

Наследственный анамнез	Женщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом 1-2 ст.		Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		$\chi^2$ р м/гр.	Р пар.
	n=100		n=107		n=93			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
<b>Не отягощен</b>	100	100,0	101	94,4	90	96,8	5,997 р<0,05	р <sub>1,2</sub> <0,05 р <sub>1,3</sub> >0,05 р <sub>2,3</sub> >0,05
<b>Отягощен</b>	0	0	6	5,6	3	3,2		

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера. р м/гр – уровень статистической значимости различий между группами, р пар. – уровень статистической значимости различий попарно между группами: р<sub>1,2</sub>- между женщинами с эндометриозом 1-2 ст. и группой контроля; р<sub>1,3</sub> - между женщинами с эндометриозом 3-4 ст. и группой контроля; р<sub>2,3</sub>- между женщинами с эндометриозом разной степени тяжести. Статистически значимые различия считали при  $p < 0,05$ .

Возраст наступления менархе во всех группах был одинаковый 13 лет (12-14 лет) (Me(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)) ( $p > 0,05$ ). Менструальный цикл у женщин с

эндометриозом в среднем составил 28 дней (27-29 дней), у женщин без эндометриоза – 30 дней (29-31 день). Выявлены статистически значимые различия между группами ( $p < 0,05$ ). Менструальный цикл у женщин в 97% случаев был регулярный, менструации были умеренные, статистически значимые различия выявлены не были ( $p > 0,05$ ). У женщин с эндометриозом менструации были более длительными – 7 дней (6-8 дней), у женщин без эндометриоза – 5 дней (4-5 дней) ( $p < 0,05$ ).

У женщин с эндометриозом роды были у 51 (25,5%) пациентки; у женщин без эндометриоза – у 31 (31,0%), статистически значимые различия выявлены не были ( $\chi^2=1,015$ ,  $p > 0,05$ ).

Искусственные абортс встречались у 35 (17,5%) женщин с эндометриозом и у 29 (29,0%) женщин без эндометриоза, при этом выявлены статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ). Количество самопроизвольных выкидышей наблюдалось у 17 (8,5%) пациенток основной группы, в контрольной группе у 9 (9,0%), при этом статистически значимые различия выявлены не были ( $\chi^2=0,021$ ,  $p > 0,05$ ). Замершие беременности в группе женщин с эндометриозом составили 4 (2,0%) случая; в группе женщин без эндометриоза – 5 (5,0%), статистически значимые различия выявлены не были ( $\chi^2=1,927$ ,  $p > 0,05$ ).

Частота встречаемости в анамнезе оперативных вмешательств на органах малого таза в исследованных группах представлена в таблице 9.

Таблица 9

**Частота встречаемости в анамнезе других операций у обследованных женщин (абс., %)**

Другие операции	Женщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом		$\chi^2$ , p
	n=100		n=200		
	абс.	%	абс.	%	
<b>Отсутствие</b>	90	90	162	81	3,122, p>0,05
<b>Наличие</b>	10	10	38	19	

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. p – уровень статистической значимости между группами. Статистически значимые различия считали при  $p < 0,05$ .



При анализе частоты встречаемости в анамнезе других операций в исследуемых группах статистически значимые различия выявлены не были ( $p > 0,05$ ).

При анализе частоты встречаемости в анамнезе других оперативных вмешательств на органах малого таза в трех группах были выявлены статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ): у женщин с эндометриозом 3-4 степени в анамнезе другие операции были чаще по сравнению с женщинами без эндометриоза ( $p < 0,05$ ). Данные представлены в таблице 10.

Таблица 10

**Частота встречаемости в анамнезе других операций у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) (абс., %)**

Другие операции	Женщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом 1-2 ст.		Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		$\chi^2$ рм/гр.	Р пар.
	n=100		n=107		n=93			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
<b>Отсутствие</b>	90	90,0	92	86	70	75,3	7,427 $p < 0,05$	$p_{1,2} > 0,05$
<b>Наличие</b>	10	10,0	15	14	23	24,7		$p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} > 0,05$

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия хи-квадрата Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера. р м/гр – уровень статистической значимости различий между группами, , р пар. – уровень статистической значимости различий попарно между группами:  $p_{1,2}$ - между женщинами с эндометриозом 1-2 ст. и группой контроля;  $p_{1,3}$  - между женщинами с эндометриозом 3-4 ст. и группой контроля;  $p_{2,3}$ - между женщинами с эндометриозом разной степени тяжести. Статистически значимые различия считали при  $p < 0,05$ .

Частота встречаемости в анамнезе оперативных вмешательств по поводу эндометриоза у женщин с разной степенью распространения эндометриоза (R-AFS, 1985 г.) представлена в таблице 11.

При анализе частоты встречаемости оперативных вмешательств по поводу эндометриоза у данных групп были выявлены статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ). Было обнаружено, что у женщин с эндометриозом 3-4 степени рецидив заболевания встречался чаще (19,4%), чем у женщин с 1-2 степенью распространения процесса (6,5%).

Таблица 11

**Частота встречаемости в анамнезе других операций и рецидива у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) (абс., %)**

Показатель		Женщины с эндометриозом 1-2 ст.		Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		$\chi^2$ , р
		n=107		n=93		
		абс.	%	абс.	%	
Другие операции	Отсутствие	92	86,0	70	75,3	3,71 p>0,05
	Наличие	15	14,0	23	24,7	
Рецидив	Отсутствие	100	93,5	75	80,6	7,468 p<0,05
	Наличие	7	6,5*	18	19,4	

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера.

\* – статистически значимые различия по сравнению с группой женщин с 3-4 ст. при p<0,05.

Анализ длительности ГЭ у обследованных женщин статистически значимых различий не показал (p>0,05) (табл.12). Было установлено, что вне зависимости от распространения процесса длительность заболевания в среднем составила 2 года (табл.12).

Таблица 12

**Длительность ГЭ у женщин с различной степенью распространения процесса (R-AFS, 1985 г.), (Me(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>))**

Показатель	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.	р
	n=107	n=93	
Длительность ГЭ, г.	2 (1,5 – 4)	2 (1 – 4)	p>0,05

**Примечание:** n – количество человек в группе. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующие разброс значений показателя у 50% респондентов (Q<sub>1</sub> – Q<sub>3</sub>), где Q<sub>1</sub> – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль, Q<sub>3</sub> – 75% перцентиль. Анализ количественных данных, не имеющих нормальное распределение, проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимые различия не найдены (p>0,05).

Частота встречаемости симптомов у женщин с эндометриозом представлена в таблице 13. Женщины с эндометриозом значимо чаще предъявляли жалобы на тазовую боль и дисменорею (p<0,001 и p<0,05, соответственно). Было обнаружено, что у 72,9% женщин с эндометриозом 1-2 степени распространения жалобы на тазовую боль отсутствовали по

сравнению с женщинами с 3-4 степенью распространения заболевания – 35,5% (табл. 13).

Таблица13

**Частота симптомов у женщин с эндометриозом с различной степенью распространения (R-AFS, 1985 г.) (абс., %)**

Показатель симптома		Женщины с эндометриозом 1-2 ст.		Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		p
		n=107		n=93		
		абс.	%	абс.	%	
Тазовая боль	Отсутствует	78	72,9	33	35,5	p<0,001
	Слабая	14	13,1	20	21,5	
	Умеренная	12	11,2	32	34,4	
	Сильная	3	2,8	8	8,6	
Дисменорея	Отсутствует	76	71,0	47	50,5	p<0,05
	Слабая	29	27,1	39	41,9	
	Умеренная	2	1,9	7	7,5	
Диспареуния	Отсутствует	88	82,2	68	73,1	p>0,05
	Слабая	18	16,8	20	21,5	
	Умеренная	0	0	4	4,3	
	Сильная	1	0,9	1	1,1	

**Примечание:** n – количество человек в группе. p – уровень статистической значимости различий между группами, достигнутый с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера. Статистически значимые различия считали при p<0,05.

У женщин с 3-4 степенью распространения ГЭ чаще встречалась умеренная (34,4%) и слабая (21,5%) тазовая боль, а у 8,6% женщин – сильная по сравнению с женщинами с 1-2 степенью распространения заболевания – 11,2, 13,1 и 2,8%, соответственно (p<0,001). Жалобы на дисменорею в группе женщин с 3-4 степенью распространения эндометриоза отсутствовали у 50,5% , а у женщин с 1-2 степенью распространения процесса - у 71%. У 27,1% женщин с 1-2 степенью распространения ГЭ и у 41,9% женщин с тяжёлым течением заболевания наблюдалась слабая дисменорея. Сильная же встречалась у 1,9 и у 7,5% женщин - соответственно. Жалобы на диспареунию предъявляло одинаковое количество пациенток в сравниваемых

группах ( $p > 0,05$ ). Однако наблюдалась тенденция преобладанию жалоб на диспареунию у женщин с 3-4 степенью распространения эндометриоза по сравнению с женщинами с 1-2 степенью распространения процесса.

Частота встречаемости первичного и вторичного бесплодия у женщин с эндометриозом представлена в таблице 14.

Первичное бесплодие встречалось у 48,6% женщин с 1-2 степенью распространения ГЭ и у 45,2% пациенток с 3-4 степенью распространения процесса. Достоверных различий частоты встречаемости первичного бесплодия в сравниваемых группах выявлено не было ( $p > 0,05$ ) (табл. 14).

Таблица 14

**Частота встречаемости первичного и вторичного бесплодия у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) (абс., %)**

Бесплодие		Женщины с эндометриозом 1-2 ст.		Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		$\chi^2$ , p
		n=107		n=93		
		абс.	%	абс.	%	
<b>Первичное бесплодие</b>	<b>Отсутствие</b>	55	51,4	51	54,8	0,236 p>0,05
	<b>Наличие</b>	52	48,6	42	45,2	
<b>Вторичное бесплодие</b>	<b>Отсутствие</b>	75	70,1	78	83,9	5,254 p<0,05
	<b>Наличие</b>	32	29,9	15	16,1	

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Статистически значимые различия считали при  $p < 0,05$ .

Было обнаружено, что у женщин с 1-2 степенью распространения эндометриоза вторичное бесплодие встречалось у 29,9%, а с 3-4 степенью распространения заболевания – у 16,1% ( $p < 0,05$ ).

### **3.2. Содержание цитокинов в сыворотке крови у женщин с эндометриозом**

Проведённый иммуноферментный анализ у обследованных женщин показал изменение содержания провоспалительных (IL-2, IL-12 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10 и TGF- $\beta$ ) цитокинов в сыворотке крови. В ходе наших исследований было зарегистрировано, что у женщин без

эндометриоза уровень IL-2 составил 35,5 пг/мл, IL-4 и IL-10 – 11 пг/мл; IL12β – 86,24 пг/мл; TNF-α – 47,88 и TGF-β – 605,89 пг/мл.

У женщин, больных эндометриозом, был значимо повышен уровень IL-4, IL-10, TNF-α и TGF-β и, напротив, снижена концентрация IL-2 и IL-12β в сыворотке крови по сравнению с соответствующими показателями в группе женщин без эндометриоза (табл. 15).

Таблица 15

**Содержание цитокинов в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом (Me(Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>))**

Исследуемый показатель	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом	p
	n=100	n=200	
<b>IL-2</b>	35,50 (27,18 – 49,05)	14,00 (11,00 – 18,015)	p<0,001
<b>IL-4</b>	11,00 (8,50 – 16,00)	59,64 (44,83 – 85,34)	p<0,001
<b>IL-10</b>	11,00 (7,89 – 14,00)	28,85 (20,00 – 44,07)	p<0,001
<b>IL-12 β</b>	86,24 (76,03 – 92,03)	62,00 (55,00 – 71,21)	p<0,05
<b>TNF-α</b>	47,88 (38,7 – 58,9)	71,85 (55,675 – 90,35)	p<0,05
<b>TGF-β</b>	605,89 (511,08 – 688,4)	911,94 (776,30 – 1087,755)	p<0,05

**Примечание:** n – количество человек в группе. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующих разброс значений показателя у 50% респондентов (Q<sub>1</sub> – Q<sub>3</sub>), где Q<sub>1</sub> – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль, Q<sub>3</sub> – 75% перцентиль. Анализ количественных данных, не имеющих нормальное распределение, проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при p<0,05.

Так у женщин с эндометриозом было выявлено снижение уровня IL-2 в 2,5 раза по сравнению с таковым у женщин без ГЭ. При этом содержание IL-4 в 4 раза, а IL-10 - в 2 раза превышало соответствующий показатель у здоровых женщин (p<0,001) (табл. 15).

Сравнительная оценка содержания цитокинов в сыворотке крови у женщин с эндометриозом в зависимости от степени распространения

процесса (R-AFS, 1985 г.) показала, что у женщин с 1-2 степенью распространения ГЭ концентрация IL-4 была в 5 раз выше, чем у женщин без эндометриоза ( $p < 0,001$ ). А у женщин с 3-4 степенью распространения ГЭ уровень IL-4 в сыворотке крови оказался в 7 раз выше, IL-10 – в 4 раза, TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  – в 1,5-2 раза по сравнению с аналогичными показателями у женщин без заболевания ( $p < 0,001$ ) (табл. 16).

Таблица 16

**Содержание цитокинов в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985г.), (Me (Q1-Q3))**

Исследуемый показатель	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.	$p_{м/гр}$	$p_{пар.}$
	<b>n=100</b>	<b>n=107</b>	<b>n=93</b>		
<b>IL-2</b>	35,50 (27,18 – 49,05)	14,56 (11,00 – 19,01)	13,40 (11,00 – 16,02)	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,05$
<b>IL-4</b>	11,00 (8,50 – 16,00)	56,00 (43,00 – 76,41)	70,83 (50,07 – 92,98)	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$
<b>IL-10</b>	11,00 (7,89 – 14,00)	21,00 (17,9 – 26,9)	44,76 (32,78 – 52,84)	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$
<b>IL-12 <math>\beta</math></b>	86,24 (76,03 – 92,03)	58,11 (54,00 – 67,565)	65,07 (58,00 – 78,65)	$p < 0,05$	$p_{1,2} < 0,05$ $p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,05$
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	47,88 (38,70 – 58,90)	66,00 (49,70 – 77,455)	87,62 (65,45 – 108,50)	$p < 0,05$	$p_{1,2} < 0,05$ $p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,05$
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	605,89 (511,08 – 688,4)	782,60 (723,735 – 868,55)	1089,37 (987,00 – 1286,32)	$p < 0,05$	$p_{1,2} < 0,05$ $p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,05$

**Примечание:** n – количество человек в группе. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующих разброс значений показателя у 50% респондентов ( $Q_1 - Q_3$ ), где  $Q_1$  – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль,  $Q_3$  – 75% перцентиль. Анализ количественных данных 3-х групп, не имеющих нормальное распределение, проводили с помощью критерия Крускала-Уолиса, 2-х групп – с помощью U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферонни.  $p_{м/гр}$  – уровень статистической значимости различий между группами,  $p_{пар.}$  – уровень статистической значимости различий попарно между группами:  $p_{1,2}$ - между женщинами с эндометриозом 1-2 ст. и группой контроля;  $p_{1,3}$  - между женщинами с эндометриозом 3-4 ст. и группой контроля;  $p_{2,3}$ - между женщинами с эндометриозом разной степени тяжести. Статистически значимые различия считали при  $p < 0,05$ .

Таким образом, у женщин, страдающих эндометриозом, было зарегистрировано повышение уровня противовоспалительных цитокинов IL-

4, IL-10, TGF- $\beta$  и снижение уровня IL-2 в сыворотке крови по сравнению с аналогичными показателями у женщин без эндометриоза.

### **3.3. Анализ распределения генотипов и аллельных вариантов генов цитокинов у женщин с эндометриозом**

Для исследуемых полиморфных вариантов генов частоты генотипов соответствовали ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга в группе контроля ( $p > 0,05$ ).

При анализе распределения частот генотипов полиморфного сайта *T-330G* гена *IL2* было выявлено, что в группе женщин без эндометриоза гомозиготный по аллелю *T* (60%) и гетерозиготный (30%) генотипы преобладали над гомозиготным по аллелю *G* генотипом (10%) (табл.17).

При этом у больных ГЭ частота генотипов *TT* встречалась в 47% и *TG* в 37,5% случаев, полиморфизма *T-330G* гена *IL2*. Среди больных ГЭ чаще встречался гомозиготный по аллелю *G* (*T-330G*) вариант гена *IL2* (15,50%) (табл.17).

Статистический анализ выявил также значимые различия по частоте встречаемости отдельных аллелей между женщинами без эндометриоза и женщинами с ГЭ: аллель *G* достоверно чаще обнаруживался у женщин с эндометриозом ( $\chi^2=5,32$ ,  $p < 0,05$ ) (табл.17).

Была зарегистрирована ассоциация заболевания с аллелем *G* (OR=1,56) и генотипом *GG* (OR=1,65) полиморфизма *T-330G* гена *IL2*. Гомозиготный же генотип *TT* (OR=0,59) обладал протективным эффектом в отношении ГЭ (табл.17).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *T-330G* гена *IL2*  
(абс., %) у женщин с эндометриозом**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>T-330G</i> гена <i>IL2</i>	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2$ , p	OR (95% CI)
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом		
	n=100	n=200		
<i>TT</i>	60 (60,00)	94* (47,00)	6,042 p<0,05	0,59 (0,36-0,96)
<i>TG</i>	30 (30,00)	75 (37,50)		1,40 (0,84-2,34)
<i>GG</i>	10 (10,00)	31 (15,50)		1,65 (0,77-3,52)
<i>G</i>	25 (25,00)	69 (34,30)	5,32 p<0,05	1,56 (1,07 – 2,29)

**Примечание:** здесь и в табл. 19, 21, 23, 25, 27. n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. p – уровень статистической значимости различий между группами. \* - статистически значимые различия по данному генотипу между группами. Статистически значимые различия считали при p<0,05. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению с группой контроля с 95% доверительным интервалом.

В ходе сравнительной оценки распределения аллелей и генотипов изучаемого нами полиморфного сайта *T-330G* гена *IL2* в зависимости от степени распространения эндометриоза, согласно классификации R-AFS (1985 г.), были выявлены статистически значимые различия (табл. 18).

Так, было отмечено, что у женщин с 1-2 степенью распространения заболевания генотип *TT* значимо реже встречался, чем у женщин контрольной группы. К тому же у этих женщин статистически достоверно чаще определялся редкий аллель *G* полиморфизма *T-330G* гена *IL2* ( $\chi^2=9,01$ , p<0,05) (табл. 18).

При исследовании полиморфизма *C-590T* гена *IL4* у женщин без эндометриоза было выявлено преобладание генотипа *CC* (70%) над *CT* (30%), при этом гомозиготный генотип по аллелю *T* выявлен не был (табл. 19).



**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *T-330G* гена *IL2*  
(абс., %) у женщин с эндометриозом различной степени  
распространения (R-AFS, 1985 г.)**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>T-330G</i> гена <i>IL2</i>	Характеристика обследованных лиц		
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	<b>n=100</b>	<b>n=107</b>	<b>n=93</b>
<b><i>TT</i></b>	60 (60,00)	45* (42,10)	49 (52,70)
OR (95% CI)		0,48 (0,28 – 0,84)	не определяется
<b><i>TG</i></b>	30 (30,00)	41 (38,30)	34 (36,60)
OR (95% CI)		1,45 (0,81 – 2,59)	не определяется
<b><i>GG</i></b>	10 (10,00)	21 (19,60)	10 (10,80)
OR (95% CI)		2,20 (0,98 – 4,94)	не определяется
$\chi^2$ , p		7,52 p<0,05	1,11 p>0,05
<b><i>G</i></b>	25 (25,00)	41 (38,80)	27 (29,00)
$\chi^2$ , p		9,01 p<0,05	0,80 p>0,05
OR (95% CI)		1,90 (1,25 – 2,90)	не определяется

**Примечание:** здесь и в табл. 20, 22, 24, 26, 28. n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. p – уровень статистической значимости различий между группой женщин с эндометриозом и здоровыми донорами. \* - статистически значимые различия относительно здоровых доноров по данному генотипу. Статистически значимые различия считали при p<0,05. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом.

У женщин с ГЭ преобладал генотип *CC* (55%), реже встречался генотип *CT* (35%) полиморфного сайта *C-590T* гена *IL4*. Однако, обращало на себя внимание, что редкий генотип *TT* был выявлен у 10% женщин с НГЭ (табл. 19).

При сравнительной оценке генотипов и аллелей полиморфного участка *C-590T* гена *IL4* у женщин с эндометриозом наблюдалось снижение частоты генотипа *CC* и появление генотипа *TT* ( $\chi^2=10,90$ , p<0,05) и преобладание редкого аллеля *T* ( $\chi^2=11,65$ , p<0,05) (табл. 19).

Была показана положительная ассоциация НГЭ с аллелем *T* (OR=2,50) и генотипом *TT* (OR=22,83) полиморфизма *C-590T* гена *IL4*. Генотип *CC* (OR=0,52) обладал протективным эффектом в отношении НГЭ (табл. 19).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма C-590T гена IL4  
(абс., %) у женщин с эндометриозом**

Генотипы и аллели полиморфизма C-590T гена IL4	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2$ , p	OR (95% CI)
	Женщины без эндометриоза n=100	Женщины с эндометриозом n=200		
<i>CC</i>	70 (70,00)	110* (55,00)	10,90 p<0,05	0,52 (0,31-0,87)
<i>CT</i>	30 (30,00)	70 (35,00)		1,26 (0,75-2,11)
<i>TT</i>	0 (0,00)	20* (10,00)		22,83 (1,37-381,47)
<i>T</i>	15 (15,00)	55 (27,50)	11,65 p<0,05	2,50 (1,38-3,36)

При анализе иммуногенетических особенностей женщин с эндометриозом различной степени распространения процесса было выявлено следующее: среди пациенток, страдающих ГЭ 3-4 степени распространения процесса, имелись значимые различия в распределении аллелей ( $\chi^2=20,67$ ,  $p<0,001$ ) и генотипов ( $\chi^2=21,61$ ,  $p<0,05$ ) данного полиморфного сайта относительно группы контроля (табл. 20). Было отмечено значительное снижение частоты встречаемости генотипа *CC* и повышение генотипа *TT* полиморфного сайта C-590T гена IL4 - сравнивались женщины без ГЭ и с ГЭ 1-2 степени распространения ( $p<0,05$ ) (табл. 20).

Выявлена так же положительная ассоциация тяжёлого течения эндометриоза с аллелем *T* (OR=3,04) и генотипом *TT* (OR=39,69) полиморфизма C-590T гена IL4. Генотип *CC* имел протективное значение в отношении 3-4 степени распространения НГЭ (OR=0,37) (табл. 20).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма C-590T гена IL4  
(абс., %) у женщин с эндометриозом различной степени  
распространения (R-AFS, 1985 г.)**

Генотипы и аллели полиморфизма C-590T гена IL4	Характеристика обследованных лиц		
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	n=100	n=107	n=93
<b>CC</b>	70(70,00)	67 (62,60)	43*† (46,20)
OR (95% CI)		не определяется	0,37 (0,20 – 0,67)
<b>CT</b>	30 (30,00)	35 (32,7)	35 (37,60)
OR (95% CI)		не определяется	1,41 (0,77 – 2,56)
<b>TT</b>	0(0,00)	5 (4,70)	15*† (16,10)
OR (95% CI)		не определяется	39,69 (2,34-673,64)
$\chi^2$ , p		5,22 p>0,05	21,61 p<0,05
<b>T</b>	15 (15,00)	22 (21,00)	32 (34,90)
$\chi^2$ , p		2,53 p> 0,05	20,67 p<0,001
OR (95% CI)		не определяется	3,04 (1,86 – 4,98)

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона, или точного критерия Фишера. p – уровень статистической значимости различий между группой женщин с эндометриозом и без эндометриоза. \* - статистически значимые различия относительно здоровых женщин по данному генотипу, † - статистически значимые различия между группами больных эндометриозом. Статистически значимые различия считали при p<0,05. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом.

Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма C-592A промоторного участка гена IL10 позволил установить, что среди здоровых женщин преобладал гомозиготный генотип CC (80%) над гетерозиготным CA (20%), а гомозиготный генотип по аллелю A не встречался (0%) (табл. 21).

Распределение аллелей ( $\chi^2=31,02$ , p<0,001) и генотипов ( $\chi^2=25,38$ , p<0,001) данного полиморфизма гена IL10 у женщин основной группы значительно отличалось от аналогичных показателей группы контроля (табл. 21).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма C-592A гена *IL10*  
(абс.,%) у женщин с эндометриозом**

Генотипы и аллели полиморфизма C-592A гена <i>IL10</i> (rs1800872)	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2$ , P	OR (95% CI)
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом		
	n=100	n=200		
CC	80 (80,00)	105* (52,50)	25,38 p<0,001	0,28 (0,16-0,49)
CA	20 (20,00)	68* (34,00)		2,06 (1,16-3,65)
AA	0 (0,00)	27* (13,50)		31,86 (1,92-527,96)
A	10 (10,00)	61 (30,50)	31,02 p<0,001	3,95 (2,37 – 6,57)

В основной группе обращало на себя внимание снижение частоты генотипа *CC* (52,5%), значимо чаще встречались носители гетерозиготного генотипа *CA* (34%), к тому же были обнаружены носители редкого гомозиготного генотипа *AA* (13,50%) промоторного участка C-592A гена *IL10*. Редкий аллель *A* так же статистически значимо был выше, чем аналогичный показатель у женщин без ГЭ.

Исследование распределения аллелей и генотипов полиморфного сайта C-592A гена *IL10* в зависимости от степени распространения эндометриоза, согласно классификации R-AFS (1985 г.), позволило установить значимые их различия: у женщин с разной степенью эндометриоза была снижена частота встречаемости генотипа *CC* и повышена - генотипа *AA* (p<0,05). При этом значимых различий в распределении генотипов и аллелей между больными женщинами с разной степенью распространения процесса обнаружено не было (табл. 22).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма C-592A гена *IL10***  
**(абс.,%) у женщин с эндометриозом различной степени**  
**распространения (R-AFS, 1985г.)**

Генотипы и аллели полиморфизма C-592A гена <i>IL10</i>	Характеристика обследованных лиц		
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	n=100	n=107	n=93
<i>CC</i>	80 (80,00)	55* (58,80)	50* (46,5)
OR (95% CI)		0,22 (0,12 – 0,41)	0,36 (0,19 – 0,69)
<i>CA</i>	20 (20,00)	45 (48,15)	31 (29,3)
OR (95% CI)		2,00 (1,04 – 3,84)	2,11 (1,12 – 3,98)
<i>AA</i>	0 (0,00)	7* (7,50)	12* (11,16)
OR (95% CI)		17,43 (0,98 – 309,58)	36,09 (2,81 – 790,09)
$\chi^2$ , P		13,77 p<0,05	31,79 p<0,001
<i>A</i>	10 (10,00)	22 (24,20)	38 (36,00)
$\chi^2$ , P		13,86 p<0,05	38,90 p<0,001
OR (95% CI)		2,87 (1,62 – 5,08)	5,06 (2,95 – 8,68)

Была показана положительная ассоциация заболевания с аллелем *A* и генотипом *AA* полиморфизма C-592A гена *IL10*. Гомозиготный генотип *CC* обладал протективным эффектом в отношении НГЭ (табл. 21, 22).

Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма A-1188C промоторного участка гена *IL12B* не установил статистически значимых различий между группами (табл. 23, 24).

Так, у женщин без эндометриоза генотип *AA* встречался в 76%, *AC* - в 21%, а генотип *CC* - в 13,5% случаев. У женщин с эндометриозом носителями гомозиготного генотипа по аллелю *A* являлись 76%, гетерозиготного генотипа *AC* – 21,5% и гомозиготного по аллелю *C*- 13,3% пациенток (табл. 23).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *A-1188C* гена *IL12B*  
(абс.,%) у женщин с эндометриозом**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>A-1188C</i> гена <i>IL12B</i>	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2$ , p	OR (95% CI)
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом		
	n=100	n=200		
<i>AA</i>	76 (76,00)	152 (76,00)	0,072 p>0,05	не определяется
<i>AC</i>	21 (21,00)	43 (21,50)		не определяется
<i>CC</i>	3 (3,00)	5 (2,50)		не определяется
<i>C</i>	13 (13,00)	27 (13,30)	0,01 p>0,05	не определяется

Носителями редкого аллеля *C* полиморфного сайта *A-1188C* гена *IL12B* были 13,5% женщин обеих групп (p>0,05) (табл. 23).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *A-1188C* гена *IL12B*  
(абс.,%) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.)**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>A-1188C</i> гена <i>IL12B</i>	Характеристика обследованных лиц		
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	n=100	n=107	n=93
<i>AA</i>	76 (76,00)	90 (84,10)	62 (66,70)
OR (95% CI)		не определяется	не определяется
<i>AC</i>	21 (21,00)	17 (15,90)	26 (28,00)
OR (95% CI)		не определяется	не определяется
<i>CC</i>	3 (3,00)	0 (0,00)	5 (5,40)
OR (95% CI)		не определяется	не определяется
$\chi^2$ , p		4,37 p>0,05	2,20 p>0,05
<i>C</i>	13 (13,00)	8 (7,90)	18 (19,40)
$\chi^2$ , p		3,36 p>0,05	2,42 p>0,05
OR (95% CI)		не определяется	не определяется

показало, что в контрольной группе наиболее распространенным генотипом являлся гомозиготный по аллелю *G* (75%), а наиболее редким генетическим вариантом данного полиморфизма был генотип *AA* (2%) (табл. 25).

Среди обследованных женщин с эндометриозом чаще встречались носители гомозиготного генотипа *GG* (62,50%), реже - гетерозиготного *GA* (27,5%), а так же носители гомозиготного генотипа *AA* (10%) полиморфного участка *G-308A* гена *TNFA* ( $p < 0,05$ ) (табл. 25).

У обследованных женщин имелись значимые различия в распределении аллелей ( $\chi^2=8,65$ ,  $p < 0,05$ ) и генотипов ( $\chi^2=8,12$ ,  $p < 0,05$ ) полиморфного сайта *G-308A* гена *TNFA* (табл. 25). У женщин с НГЭ снижалась частота гомозиготного по аллелю *G* генотипа (62,5%), и повышалась частота гомозиготного генотипа *AA* (10%). Была выявлена положительная ассоциация аллеля *A* (OR=2,00) и генотипа *AA* (OR=5,44) (*G-308A*) гена *TNFA* с риском развития НГЭ и протективный эффект генотипа *GG* (OR=0,56) в отношении подверженности эндометриозу (табл. 25).

Таблица 25

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* (абс.,%) у женщин с эндометриозом**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>G-308A</i> гена <i>TNFA</i>	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2$ , p	OR (95% CI)
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом		
	n=100	n=200		
<b><i>GG</i></b>	75 (75,00)	125* (62,50)	8,12 $p < 0,05$	0,56 (0,33-0,95)
<b><i>GA</i></b>	23 (23,00)	55 (27,50)		1,27 (0,73-2,22)
<b><i>AA</i></b>	2 (2,00)	20* (10,00)		5,44 (1,25-23,78)
<b><i>A</i></b>	13 (13,00)	48 (23,80)	8,65 $p < 0,05$	2,00 (1,25 – 3,18)

При изучении распределения генотипов промоторного участка *G-308A* гена *TNFA* у женщин с разной степенью распространения генитального эндометриоза определялось значимое различие в распределении аллелей: у

пациенток с 3-4 степенью распространения процесса достоверно снижалась частота генотипа *GG* и повышалась частота встречаемости генотипа *AA* (табл. 26).

Таблица 26

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* (абс.,%) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985г.)**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>G-308A</i> гена <i>TNFA</i>	Характеристика обследованных лиц		
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	n=100	n=107	n=93
<b><i>GG</i></b>	75 (75,0)	72 (67,3)	53* (57,0)
OR (95% CI)		не определяется	0,41 (0,22 – 0,76)
<b><i>GA</i></b>	21 (21,0)	25 (23,4)	30 (32,3)
OR (95% CI)		не определяется	1,75 (0,91 – 3,34)
<b><i>AA</i></b>	2 (2,0)	10 (9,3)	10* (10,8)
OR (95% CI)		не определяется	5,78 (1,23 – 27,15)
$\chi^2$ , p		5,36 p>0,05	10,58 p<0,05
<b><i>A</i></b>	13 (13,0)	22 (21,0)	18 (26,9)
$\chi^2$ , p		4,95 p<0,05	12,07 p<0,05
OR (95% CI)		1,82 (1,07 – 3,10)	2,51 (1,48 – 4,27)

Была показана положительная ассоциация степени распространения НГЭ с аллелем *A* (OR=1,82 и OR=2,51- соответственно) полиморфизма *G-308A* гена *TNFA*. Отмечено, что генотип *GG* (OR=0,63 и OR=0,41 - соответственно) полиморфного сайта *G-308A* гена *TNFA* обладал протективным эффектом в отношении заболевания (табл. 26).

При исследовании распределения генотипов полиморфного сайта *C-509T* гена *TGFB* значимых различий выявлено не было ( $\chi^2=5,55$ , p>0,05) (табл. 27). Анализ частоты встречаемости аллельных вариантов гена *TGFB* показал, что редкий аллель *T* значимо чаще встречался у женщин с ГЭ относительно аналогичного параметра у женщин контрольной группы ( $\chi^2=6,45$ , p<0,05) (табл. 27).



Представленные данные указывают на положительную ассоциацию аллеля *T* (OR=1,66) полиморфизма *C-509T* гена *TGFB* с НГЭ (табл. 27).

Таблица 27

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма *C-509T* гена *TGFB* (абс., %) у женщин с эндометриозом**

Генотипы и аллели полиморфизма <i>C-509T</i> гена <i>TGFB</i>	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2$ , p	OR (95% CI)
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом		
	n=100	n=200		
<i>CC</i>	62 (62,0)	100 (50,0)	5,55 p>0,05	не определяется
<i>CT</i>	31 (31,0)	70 (35,0)		не определяется
<i>TT</i>	7 (7,0)	30 (15,0)		не определяется
<i>T</i>	23 (23,0)	65 (32,5)	6,45 p<0,05	1,66 (1,12 – 2,46)

При исследовании распределения генотипов полиморфного сайта *C-509T* гена *TGFB* у женщин, страдающих ГЭ (в зависимости от его степени распространения) выявлено, что у женщин с разной степенью распространения НГЭ редкий аллель *T* значимо чаще встречается по сравнению с соответствующими показателями пациенток без ГЭ ( $\chi^2=4,06$ , p<0,05 и  $\chi^2=6,18$ , p<0,05 - соответственно) (табл. 28).

Несмотря на то, что среди обследуемых групп женщин не было выявлено достоверных различий по частоте встречаемости генотипов, нами была отмечена тенденция к снижению частоты генотипа по аллелю *C* полиморфного сайта *C-509T* гена *TGFB* и повышению распространённости генотипа *TT* у женщин с 3-4 степенью распространения генитального эндометриоза, согласно классификации R-AFS, 1985 г. (табл. 28).

**Распределение генотипов и аллелей полиморфизма C-509T гена *TGF $\beta$*  (абс.,%) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.)**

Генотипы и аллели полиморфизма C-509T гена <i>TGF<math>\beta</math></i>	Характеристика обследованных лиц		
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.
	n=100	n=107	n=93
<b>CC</b>	62 (62)	55 (51,4)	45 (48,4)
OR (95% CI)		не определяется	не определяется
<b>CT</b>	31 (31)	37 (34,6)	33 (35,5)
OR (95% CI)		не определяется	не определяется
<b>TT</b>	7 (7)	15 (14)	15 (16,1)
OR (95% CI)		не определяется	не определяется
$\chi^2$ , p		3,62 p>0,05	5,43 p>0,05
<b>T</b>	23 (23)	33 (31,3)	31 (33,9)
$\chi^2$ , p		4,06 p<0,05	6,18 p<0,05
OR (95% CI)		1,57 (1,01 – 2,44)	1,76 (1,13 – 2,77)

**3.4. Связь аллельного полиморфизма иммунорегуляторных генов с уровнем содержания цитокинов в сыворотке крови у женщин с эндометриозом**

В исследовании нами была предпринята попытка найти ассоциации аллельных вариантов полиморфных сайтов *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL4*, *C-592A* гена *IL10*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA* и *C-509T* гена *TGF $\beta$*  с уровнем соответствующих цитокинов в сыворотке крови.

При анализе содержания IL-2 в сыворотке крови в зависимости от аллельного варианта полиморфизма *T-330G* гена *IL2* среди здоровых женщин было обнаружено, что уровень IL-2 у носителей гомозиготного генотипа *TT* и гетерозиготного генотипа *TG* был практически одинаков (35,04 и 38,54 пг/мл, соответственно,  $p_{TG/TT} > 0,05$ ), и низкий уровень отмечен у носителей гомозиготного генотипа по аллелю *G* ( $p_{TT/GG} < 0,05$ ,  $p_{GG/TG} < 0,05$ ) (табл. 29).

**Концентрация ИЛ-2 в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса *T-330G* гена *IL2*, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц		p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом	
	n=100	n=200	
<b><i>TT</i></b>	35,04 (28,51 – 54,87) $p_{TT/GG} < 0,05$	17,17 (14,49 – 23,00) $p_{TT/GG} < 0,05$	p<0,05
<b><i>TG</i></b>	38,54 (29,87 – 61,85) $p_{TG/TT} > 0,05$	12,08 (11,00 – 15,00) $p_{TG/TT} < 0,05$	p<0,05
<b><i>GG</i></b>	18,65 (18,07 – 21,09) $p_{GG/TG} < 0,05$	10,00 (8,51 – 11,40) $p_{GG/TG} < 0,05$	p<0,05

**Примечание:** здесь и в табл. 31, 33, 35, 37, 39. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующих разброс значений показателя у 50% респондентов ( $Q_1 - Q_3$ ), где  $Q_1$  – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль,  $Q_3$  – 75% перцентиль. Анализ количественных данных, не имеющих нормальное распределение, проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при  $p < 0,05$ .

Следует отметить, что у больных ГЭ уровень исследуемого цитокина по всем генотипам локуса *T-330G* гена *IL2* оказался значимо ниже такового у женщин контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Самая низкая концентрация ИЛ-2 зарегистрирована у носителей редкого генотипа *GG* среди женщин, больных эндометриозом (табл. 29).

Интересным является и тот факт, что в группе женщин с ГЭ 3-4 степени распространения процесса уровень ИЛ-2 у носителей генотипа *TT* и *TG* (*T-330G*) гена *IL2* оказался значимо ниже как по сравнению с группой контроля ( $p_{1,3} < 0,05$ ), так и по сравнению с женщинами с 1-2 степенью распространения заболевания ( $p_{2,3} < 0,05$ ) (табл. 30).

Статистический анализ выявил значимое снижение уровня ИЛ-2 в зависимости от генотипа полиморфизма *T-330G* гена *IL2* у женщин с разной степенью распространения ГЭ ( $p_{TT/GG} < 0,001$ ;  $p_{TG/TT} < 0,001$  и  $p_{GG/TG} < 0,001$ , соответственно) (табл. 30).

**Концентрация IL-2 в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса T-330G гена IL2, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц			p	p пар.
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		
	n=100	n=107	n=93		
<b>TT</b>	35,04 (28,51 – 54,87) $p_{TT/GG}<0,001$	19,02 (15,00 – 23,90) $p_{TT/GG}<0,001$	15,55 (13,65 – 19,65) $p_{TT/GG}<0,001$	$p<0,05$	$p_{1,2}<0,05$ $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}<0,05$
<b>TG</b>	38,54 (29,87 – 61,85) $p_{TG/TT}>0,05$	13,26 (11,00 – 15,50) $p_{TG/TT}<0,001$	11,55 (10,06 – 14,0) $p_{TG/TT}<0,001$	$p<0,05$	$p_{1,2}<0,05$ $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}<0,05$
<b>GG</b>	18,65 (18,07 – 21,09) $p_{GG/TG}<0,001$	9,36 (8,23 – 11,60) $p_{GG/TG}<0,001$	10,26 (9,00 – 11,20) $p_{GG/TG}<0,001$	$p<0,05$	$p_{1,2}<0,05$ $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}>0,05$

**Примечание:** здесь и в табл. 32, 34, 36, 38, 40. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующих разброс значений показателя у 50% респондентов ( $Q_1 - Q_3$ ), где  $Q_1$  – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль,  $Q_3$  – 75% перцентиль. p – уровень статистической значимости различий между группами, достигнутый с помощью U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферони. p пар. – уровень статистической значимости различий попарно между группами:  $p_{1,2}$ -между женщинами с эндометриозом 1-2 ст. и группой контроля;  $p_{1,3}$  – между женщинами с эндометриозом 3-4 ст. и группой контроля;  $p_{2,3}$  – между женщинами с эндометриозом разной степени распространения, достигнутый с помощью критерия Крускала-Уолиса. Статистически значимые различия считали при  $p<0,05$ .

Анализ уровня IL-4 в зависимости от аллельного варианта полиморфизма C-590T гена IL4 представлен в таблице 31.

Среди женщин основной группы был зарегистрирован значимо высокий уровень исследуемого цитокина у носителей всех генотипов (C-590T) гена IL4 ( $<0,001$ ) по сравнению с аналогичными показателями группы контроля (табл. 31).

Так же обращало на себя внимание то, что в основной группе зафиксировано статистически значимое увеличение концентрации IL-4 у пациентов с генотипом TT по сравнению с носителями генотипа CT ( $p_{TT/CT}<0,05$ ) и CC ( $p_{CC/TT}<0,001$ ) полиморфного сайта C-590T гена IL4 (табл. 31).

В группе женщин без эндометриоза значимых различий в уровне IL-4 у носителей гетерозиготного генотипа CT и гомозиготного генотипа C (C-590T) гена IL4 выявлено не было ( $p>0,05$ ). В данной группе носителей аллеля T полиморфного сайта C-590T гена IL4 не оказалось (табл. 31).

**Концентрация IL-4 в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса C-590T гена IL4, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц		p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом	
	n=100	n=200	
<i>CC</i>	11,00 (8,00 – 16,00) $p_{CC/TT} < 0,001$	50,75 (40,00 – 71,00) $p_{CC/TT} < 0,001$	$p < 0,001$
<i>CT</i>	11,50 (9,00 – 15,76) $p_{CT/CC} > 0,05$	66,94 (50,00 – 85,00) $p_{CT/CC} < 0,05$	$p < 0,001$
<i>TT</i>	0 $p_{TT/CT} < 0,001$	100,15 (89,06 – 103,73) $p_{TT/CT} < 0,05$	$p < 0,001$

В ходе сравнительной оценки концентрации IL-4 в сыворотке крови в зависимости от степени распространения эндометриоза (R-AFS , 1985г.) и от генотипа полиморфного сайта C-590T гена IL4 были выявлены статистически значимые различия. Так, у женщин вне зависимости от степени распространения процесса выявлена высокая концентрации IL-4 в сыворотке крови у носителей гомозиготного аллеля C, повышение её у женщин с гетерозиготным генотипом CT, и самая высокая концентрация у женщин с гомозиготным генотипом аллеля C (C-590T) гена IL4 ( $p_{CC/TT} < 0,001$ ;  $p_{CT/CC} < 0,001$  и  $p_{TT/CT} < 0,001$ ) (табл. 32).

Самые высокие показатели уровня данного интерлейкина обнаружены нами у женщин с 3-4 степенью распространения эндометриоза по сравнению с женщинами контрольной группы ( $p < 0,001$ ) и отмечено достоверное повышение по сравнению с аналогичными показателями у носителей генотипа CC и TT среди женщин с 1-2 степенью заболевания ( $p < 0,001$ ). Значимых различий по уровню IL-4 в сыворотке крови между подгруппами женщин, болеющих ГЭ, носителей генотипа CT локуса C-590T гена IL4 не наблюдалось ( $p_{2,3} > 0,05$ ) (табл. 32).

Таблица 32

**Концентрация IL-4 в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса C-590T гена IL4, Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц			P	P
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		
	n=100	n=107	n=93		
<b>CC</b>	11,00 (8,00 – 16,00) p <sub>CC/TT</sub> <0,001	45,89 (39,77 – 64,97) p <sub>CC/TT</sub> <0,001	58,00 (44,95 – 85,25) p <sub>CC/TT</sub> <0,001	p<0,001	p <sub>1,2</sub> <0,001 p <sub>1,3</sub> <0,001 p <sub>2,3</sub> <0,001
<b>CT</b>	11,50 (9,00 – 15,76) p <sub>CT/CC</sub> >0,05	67,00 (48,0 0– 86,56) p <sub>CT/CC</sub> <0,001	66,84 (44,95 – 82,15) p <sub>CT/CC</sub> >0,05	p<0,001	p <sub>1,2</sub> <0,001 p <sub>1,3</sub> <0,001 p <sub>2,3</sub> >0,05
<b>TT</b>	0 p <sub>TT/CT</sub> <0,001	83,87 (77,12 – 88,00) p <sub>TT/CT</sub> <0,001	101,00 (99,54 – 104,84) p <sub>TT/CT</sub> <0,001	p<0,001	p <sub>1,2</sub> <0,001 p <sub>1,3</sub> <0,001 p <sub>2,3</sub> <0,001

Проведенное нами исследование концентрации IL-10 в сыворотке крови в зависимости от аллельного полиморфизма C-592A гена IL10 показало, что у женщин, больных эндометриозом, по всем генотипам уровень данного цитокина значительно превышал его содержание у женщин без эндометриоза (p<0,001) (табл. 33).

Таблица 33

**Концентрация IL-10 в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса C-592A гена IL10, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц		P
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом	
	n=100	n=200	
<b>CC</b>	11,00 (8,17 – 14,58) p <sub>CC/AA</sub> <0,001	32,15 (24,00 – 45,67) p <sub>CC/AA</sub> <0,001	p<0,001
<b>CA</b>	9,00 (6,00 – 12,00) p <sub>CA/CC</sub> >0,05	30,5 (19,0 0– 44,84) p <sub>CA/CC</sub> >0,05	p<0,001
<b>AA</b>	0 p <sub>AA/CA</sub> <0,001	17,24 (15,00 – 19,50) p <sub>AA/CA</sub> <0,001	p<0,001

Среди пациенток с ГЭ, несущих генотип AA (C-592A) гена IL10, отмечалось статистически значимое снижение уровня IL-10 по сравнению с

женщинами этой же группы, имеющими генотип *CA* ( $p_{CA/CC} < 0,05$ ) и *CC* ( $p_{CC/AA} < 0,05$ ). У женщин с разной степенью распространения процесса отмечалась сходная картина (табл. 33, табл. 34).

В общей группе больных ГЭ, а также у женщин с разной степенью распространения ГЭ, несущих генотипы *CC*, *CA* и *AA* (*C-592A*) гена *IL10*, отмечалось статистически значимое ( $p < 0,001$ ) увеличение концентрации IL-10 по сравнению с женщинами без эндометриоза, а также между подгруппами, имеющими соответствующие генотипы (табл. 33, табл. 34).

Таблица 34

**Концентрация IL-10 в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса *C-592A* гена *IL10*, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц			P	P
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		
	n=100	n=107	n=93		
<i>CC</i>	11,00 (8,17 – 14,58) $p_{CC/AA} < 0,001$	24,00 (21,00 – 28,00) $p_{CC/AA} < 0,001$	45,00 (34,83 – 54,74) $p_{CC/AA} < 0,001$	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$
<i>CA</i>	9,00 (6,00 – 12,00) $p_{CA/CC} > 0,05$	19,00 (17,89 – 28,99) $p_{CA/CC} > 0,05$	44,90 (35,50 – 50,11) $p_{CA/CC} > 0,05$	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$
<i>AA</i>	0 $p_{AA/CA} < 0,001$	15,82 (14,93 – 17,58) $p_{AA/CA} < 0,001$	28,00 (27,91 – 30,10) $p_{AA/CA} < 0,001$	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$

По данным нашего исследования, концентрация IL-12 $\beta$  у женщин, больных эндометриозом, носителей генотипа *AA*, *AC* и *CC* полиморфного сайта *A-1188C* гена *IL12B* была статистически значимо ниже таковой у женщин без эндометриоза. Обращал на себя внимание и тот факт, что уровень исследуемого цитокина был статистически значимо выше у носителей гомозиготного генотипа *CC* относительно носителей гомозиготного генотипа *AA* и гетерозиготного *AC* в обеих группах ( $p_{AA/CC} < 0,05$ ;  $p_{AC/AA} < 0,05$  и  $p_{CC/CA} < 0,05$ ) (табл. 35).

Таблица 35

**Концентрация IL-12 $\beta$  в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса A-1188C гена IL12B, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц		p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом	
	n=100	n=200	
<i>AA</i>	82,13 (72,00 – 88,80) $p_{AA/CC} < 0,05$	58,79 (52,45 – 69,00) $p_{AA/CC} < 0,05$	$p < 0,05$
<i>AC</i>	94,00 (89,37 – 98,64) $p_{AC/AA} < 0,05$	78,00 (70,12 – 87,03) $p_{AC/AA} < 0,05$	$p < 0,05$
<i>CC</i>	105,25 (104,93 – 114,65) $p_{CC/CA} < 0,05$	97,05 (86,36 – 99,0) $p_{CC/CA} < 0,05$	$p < 0,05$

У женщин с НГЭ не зависимо от степени распространения процесса (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса A-1188C гена IL12B концентрация IL-12 $\beta$  была статистически значимо ниже по сравнению с аналогичными показателями женщин без заболевания (табл. 36).

Таблица 36

**Концентрация IL-12 $\beta$  в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса A-1188C гена IL12B, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц			p	p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		
	n=100	n=107	n=93		
<i>AA</i>	82,13 (72,00 – 88,80) $p_{AA/CC} < 0,001$	56,82 (51,06 – 67,06) $p_{AA/CC} < 0,001$	62,00 (55,87 – 78,00) $p_{AA/CC} < 0,001$	$p < 0,05$	$p_{1,2} < 0,05$ $p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} > 0,05$
<i>AC</i>	94,00 (89,37 – 98,64) $p_{AC/AA} < 0,05$	78,00 (70,12 – 86,17) $p_{AC/AA} < 0,05$	79,00 (72,00 – 87,06) $p_{AC/AA} < 0,05$	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} > 0,05$
<i>CC</i>	105,25 (104,93 – 114,65) $p_{CC/CA} < 0,001$	0,00 $p_{CC/CA} < 0,001$	97,05 (86,36 – 99,0) $p_{CC/CA} < 0,001$	$p < 0,001$	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} > 0,05$ $p_{2,3} < 0,001$

Проведенные нами исследования показали, что в контрольной группе максимальная концентрация TNF- $\alpha$  регистрировалась у женщин с генотипом



*AA* (*G-308A*) гена *TNFA* по сравнению с другими вариантами сочетаний аллелей исследуемого гена ( $p_{AA/GA} < 0,001$ ;  $p_{GG/AA} < 0,001$ ) (табл. 37).

Таблица 37

**Концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса *G-308A* гена *TNFA*, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц		p
	Женщины без эндометриоза n=100	Женщины с эндометриозом n=200	
<b>GG</b>	43,60 (36,94 – 52,04) $p_{GG/AA} < 0,001$	59,25 (47,82 – 77,25) $p_{GG/AA} < 0,001$	$p < 0,001$
<b>GA</b>	60,00 (57,06 – 64,52) $p_{GA/GG} < 0,001$	92,65 (77,45 – 106,80) $p_{GA/GG} < 0,001$	$p < 0,001$
<b>AA</b>	72,5 (70,50 – 74,50) $p_{AA/GA} < 0,001$	121,72 (90,82 – 157,91) $p_{AA/GA} < 0,001$	$p < 0,001$

Что касается женщин, страдающих эндометриозом, то минимальная концентрация исследуемого цитокина регистрировалась у лиц, имеющих гомозиготный генотип *GG* (*G-308A*) гена *TNFA*, по сравнению с женщинами, несущими *GA* и *AA* генотипы ( $p_{GA/GG} < 0,001$  и  $p_{GG/AA} < 0,001$ ) (табл. 37).

У женщин с разной степенью распространения ГЭ были получены сходные результаты (табл. 38). Следует отметить, что концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у больных с разной степенью распространения процесса была значимо выше, чем у женщин без эндометриоза ( $p < 0,05$ ) (табл. 38).

Таблица 38

**Концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса *G-308A* гена *TNFA*, (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц			p	p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		
	n=100	n=107	n=93		
<b>GG</b>	43,60 (36,94 – 52,04) $p_{GG/AA}<0,001$	57,16 (44,90 – 67,52) $p_{GG/AA}<0,001$	68,78 (49,79 – 81,80) $p_{GG/AA}<0,001$	p<0,05	$p_{1,2}<0,05$ $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}>0,05$
<b>GA</b>	60,00 (57,06 – 64,52) $p_{GA/GG}<0,001$	77,11 (71,07 – 84,30) $p_{GA/GG}<0,001$	106,03 (96,58 – 114,70) $p_{GA/GG}<0,001$	p<0,05	$p_{1,2}<0,05$ $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}<0,05$
<b>AA</b>	72,50 (70,50 – 74,50) $p_{AA/GA}<0,001$	90,82 (88,62 – 94,76) $p_{AA/GA}<0,001$	157,91 (144,45 – 189,40) $p_{AA/GA}<0,001$	p<0,05	$p_{1,2}<0,05$ $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}<0,05$

Нами был проведен анализ уровня TGF- $\beta$  в зависимости от аллельного варианта полиморфизма *C-509T* гена *TGF $\beta$* , который показал, что у носителей генотипа *CC* и *TT* среди здоровых женщин статистически значимых различий выявлено не было ( $p>0,05$ ), самый высокий уровень TGF- $\beta$  зафиксирован у носителей гетерозиготного генотипа *CT* ( $p_{CT/CC}<0,001$ ;  $p_{TT/CT}<0,001$ ) (табл. 39).

Таблица 39

**Концентрация TGF- $\beta$  в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом в зависимости от генотипа локуса *C-509T* гена *TGF $\beta$* , (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц		p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом	
	n=100	n=200	
<b>CC</b>	575,45 (520,00 – 686,57) $p_{CC/TT}>0,05$	875,55 (751,25 – 998,25) $p_{CC/TT}<0,001$	p<0,05
<b>CT</b>	820,00 (660,00 – 936,52) $p_{CT/CC}<0,001$	908,55 (777,00 – 1088,30) $p_{CT/CC}>0,05$	p<0,05
<b>TT</b>	605,89 (481,79 – 680,37) $p_{TT/CT}<0,001$	1113,45 (860,00 – 1365,42) $p_{TT/CT}<0,001$	p<0,05

В группе женщин с НГЭ у гомозигот по аллелю *T* отмечалась максимальная, а у гомозигот по аллелю *C* – минимальная концентрация TGF- $\beta$  ( $p_{CC/TT}<0,001$ ;  $p_{TT/CT}<0,05$  и  $p_{CT/CC}<0,05$ ) (табл. 39).

У женщин с ГЭ разной степени распространения, несущих генотип *TT* (*C-509T*) гена *TGF $\beta$* , уровень TGF- $\beta$  в сыворотке крови был значимо выше, чем при альтернативном генотипе *CC* ( $p_{CC/TT}<0,001$ ) (табл. 40).

Таблица 40

**Концентрация TGF- $\beta$  в сыворотке крови (пг/мл) у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса *C-509T* гена *TGF $\beta$* , (Me (Q1-Q3))**

Генотип	Характеристика обследованных лиц			p	p
	Женщины без эндометриоза	Женщины с эндометриозом 1-2 ст.	Женщины с эндометриозом 3-4 ст.		
	n=100	n=107	n=93		
<b>CC</b>	575,45 (520,00 – 686,57) $p_{CC/TT}>0,05$	764,20 (720,00 – 855,95) $p_{CC/TT}<0,001$	998,75 (965,34 – 1145,00) $p_{CC/TT}<0,001$	$p<0,001$	$p_{1,2}<0,001$ $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$
<b>CT</b>	820 (660,00 – 936,52) $p_{CT/CC}<0,001$	806,41 (724,00 – 875,56) $p_{CT/CC}>0,05$	1089,30 (996,31 – 1286,32) $p_{CT/CC}>0,05$	$p<0,001$	$p_{1,2}>0,05$ $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$
<b>TT</b>	605,89 (481,79 – 680,37) $p_{TT/CT}<0,001$	860,00 (807,00 – 996,99) $p_{TT/CT}<0,05$	1365,42 (1231,94 – 1600,50) $p_{TT/CT}<0,001$	$p<0,001$	$p_{1,2}<0,001$ $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$

Самая высокая концентрация TGF- $\beta$  отмечалась у женщин с 3-4 степенью распространения заболевания вне зависимости от генотипа как по отношению к здоровым женщинам, так и по отношению к женщинам с 1-2 степенью распространения ГЭ ( $p<0,001$ ) (табл. 40).

У женщин с 1-2 степенью распространения заболевания группы так же отмечалось статистически значимое повышение уровня исследуемого цитокина у носителей гомозиготных генотипов *CC* и *TT* локуса *C-509T* гена *TGF $\beta$*  по сравнению с таковым у женщин без эндометриоза ( $p<0,001$ ) (табл.40).

### 3.5. Комбинации полиморфных вариантов генов цитокинов у женщин с эндометриозом

Для комплексной оценки влияния полиморфных вариантов *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL-4*, *C-592A* гена *IL10*, *G-308A* гена *TNFA* на развитие ГЭ мы провели анализ распространенности их комбинаций. Результатом проведенного исследования явились выявленные сочетания генотипов трех групп: предрасполагающие, протекторные и интактные.

К комбинациям, обладающим предрасполагающими свойствами, были отнесены следующие комплексы генотипов: *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGG* (частота встречаемости у больных ГЭ составила 18 случаев (9%), но вовсе не обнаруживалась у женщин без эндометриоза ( $p < 0,005$ )); *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGA* (была выявлена у 9 женщин (4,5%),  $p < 0,05$ ); *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGG* (обнаружена у 14 женщин (7%),  $p < 0,005$ ); *IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGG* (зафиксирована у 9 женщин (4,5%),  $p < 0,05$ ); *IL2TG/IL4TT/IL10AC/TNFAGG* (зарегистрирована у 10 женщин (5%),  $p < 0,05$ ). Риск развития ГЭ у женщин, носителей данного сочетания вариантных генов был равен 1,09, 1,04, 1,07, 1,04 и 1,05 - соответственно. Было установлено протективное влияние следующих сочетаний полиморфных вариантов: *IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGG* (частота встречаемости данной комбинации у женщин без эндометриоза составила 21%, а у больных ГЭ 1%); *IL2TT/IL4CC/IL10AC/TNFAGG* (8 и 0,5 % - соответственно); *IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGA* (соответственно 11 и 0,5%); *IL2TG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG* (15 и 2% - соответственно); *IL2TG/IL4CC/IL10AC/TNFAGG* (соответственно 3 и 0%) для всех комбинаций  $p < 0,05$  (табл. 41). Протективную роль перечисленных выше сочетаний полиморфных маркеров подтверждает то, что коэффициент OR для данных комбинаций находился в диапазоне 0,03-0,97 (табл. 41, 42).

Обращало на себя внимание то, что характерной особенностью предрасполагающих комбинаций полиморфных генов цитокинов оказалось наличие в них гомозиготного генотипа *TT* промоторного региона *C-590T*

гена *IL4*, отсутствовавшего в протективной комбинации вариантных генотипов (табл. 41). Все остальные комбинации генов оказались интактными к развитию НГЭ (табл.41, табл.42).

Таблица 41

**Комбинации полиморфных вариантов генов *T-330G* гена *IL2*,  
*C-590T* гена *IL-4*, *C-592A* гена *IL10*, *G-308A* гена *TNFA*  
у женщин с эндометриозом (абс., %)**

Комбинации генотипов	Жнщины без эндометриоза		Женщины с эндометриозом		$\chi^2$ , P	OR (CI95%)
	n=100		n=200			
	n	%	n	%		
1	2	3	4	5	6	7
* <i>IL2TT+IL4TT+IL10CC+TNFAGG</i>	0	0,00	18	9,00	15,16 p<0,05	1,09 (1,05-1,14)
* <i>IL2TT+IL4TT+IL10CC+TNFAGA</i>	0	0,00	9	4,50	7,43 p<0,05	1,04 (1,01-1,07)
<i>IL2TT+IL4CC+IL10CC+TNFAAA</i>	0	0	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10CC+TNFAGG</i>	9	9,00	17	8,50	6,12 p>0,05	не определяется
# <i>IL2TT+IL4CC+IL10CC+TNFAGG</i>	21	21,00	2	1,00	37,14 p<0,05	0,03 (0,01 – 0,16)
* <i>IL2TT+IL4TT+IL10CA+TNFAGG</i>	0	0,00	14	7,00	11,69 p<0,05	1,07 (1,03 – 1,12)
<i>IL2TT+IL4CC+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	4	2,00	3,27 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CC+IL10CA+TNFAGA</i>	0	0,00	5	2,50	4,09 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CC+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	4	2,00	3,27 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CC+IL10AA+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CC+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10AC+TNFAGG</i>	2	2,00	9	4,50	1,30 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10CC+TNFAGA</i>	4	4,00	4	2,00	0,97 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10CC+TNFAAA</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	2	0,90	1,32 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10AC+TNFAGA</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4CT+IL10AA+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется

## Продолжение таблицы 41

1	2	3	4	5	6	7
# <i>IL2TT+IL4CC+IL10AC+TNFAGG</i>	8	8,00	1	0,50	12,5 p<0,05	0,06 (0,01 – 0,47)
# <i>IL2TT+IL4CC+IL10CC+TNFAGA</i>	11	11,00	1	0,50	18,87 p<0,05	0,04 (0,01 – 0,32)
<i>IL2TT+IL4TT+IL10AC+TNFAAA</i>	1	1,00	1	0,50	0,23 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4TT+IL10AC+TNFAGA</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2TT+IL4TT+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
* <i>IL2TG+IL4TT+IL10CC+TNFAGG</i>	0	0,00	9	4,50	7,43 p<0,05	1,04 (1,01 – 1,07)
# <i>IL2TG+IL4CC+IL10CC+TNFAGG</i>	15	15,00	4	2,00	17,86 p<0,05	0,12 (0,03 - 0,35)
<i>IL2TG+IL4TT+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4TT+IL10AC+TNFAAA</i>	1	1,00	2	1,00	0,0 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4TT+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4TT+IL10CC+TNFAGA</i>	2	2,00	0	0,00	4,42 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4TT+IL10AC+TNFAGA</i>	2	2,00	0	0,00	4,42 p>0,05	не определяется
# <i>IL2TG+IL4CC+IL10AC+TNFAGG</i>	3	3,00	0	0,00	6,65 p<0,05	0,97 (0,93 -1,01)
<i>IL2TG+IL4CT+IL10CC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10AC+TNFAGA</i>	1	1,00	2	1,00	0,00 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10CC+TNFAGA</i>	0	0,00	5	2,50	4,09 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10CC+TNFAGG</i>	6	6,00	10	5,00	0,13 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10AC+TNFAGG</i>	0	0,00	5	2,50	4,09 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CT+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CC+IL10CC+TNFAGA</i>	0	0,00	8	4,00	6,59 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CC+IL10AC+TNFAGA</i>	0	0,00	6	3,00	4,92 p>0,05	не определяется
* <i>IL2TG+IL4TT+IL10AC+TNFAGG</i>	0	0,00	10	5,00	8,28 p<0,05	1,05 (1,02 – 1,08)
<i>IL2TG+IL4CC+IL10CC+TNFAAA</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CC+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2TG+IL4CC+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	4	2,00	3,27 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CC+IL10AC+TNFAGA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CC+IL10AC+TNFAGG</i>	0	0,00	3	1,50	2,44 p>0,05	не определяется

## Продолжение таблицы 41

1	2	3	4	5	6	7
<i>IL2GG+IL4CC+IL10AA+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,5	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CC+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CC+IL10CC+TNFAGA</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AC+TNFAGG</i>	1	1,00	1	0,50	0,23 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CT+IL10CC+TNFAGA</i>	1	1,00	0	0,00	2,20 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CT+IL10CC+TNFAGG</i>	0	0,00	6	3,00	4,92 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	2	1,00	1,63 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4TT+IL10CC+TNFAGG</i>	3	3,00	2	1,00	1,51 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4TT+IL10AC+TNFAGG</i>	2	2,00	0	0,00	4,42 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4TT+IL10CC+TNFAGA</i>	2	2,00	0	0,00	4,42 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4TT+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется
<i>IL2GG+IL4TT+IL10AC+TNFAGA</i>	0	0,00	1	0,50	0,81 p>0,05	не определяется

**Примечание:** n- количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона или точного критерия Фишера. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при p<0,05. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом. \* - предрасполагающие комбинации. # - протективные комбинации.

Интересные особенности были выявлены при анализе комбинаций генов в зависимости от степени распространения ГЭ (R-AFS,1985 г.). Так, у женщин с 1-2 степенью распространения заболевания достоверно чаще встречались следующие комбинации: *IL2TT/IL4TT/IL10AA/TNFAGG* и *IL2TT/IL4TT/IL10AA/TNFAGA* – у 2,8% женщин, страдающих эндометриозом; *IL2TG/IL4TT/IL10AC/TNFAGG* – у 5,6% (p<0,05). Риск развития заболевания при носительстве данного сочетания генов у здоровых женщин был равен 1,03 и 1,05, соответственно. У женщин с 3-4 степенью распространения ГЭ частота встречаемости комбинаций *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGA* и *IL2TG/IL4CT/IL10AC/TNFAGG* составила 3,2%; сочетания

*IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGA* – 5,4% ( $p<0,05$ ). При этом OR для носителей данных комбинаций составил 1,02 и 1,03 - соответственно (табл. 42).

Таблица 42

**Комбинации полиморфных вариантов генов *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL4*, *C-592A* гена *IL10*, *G-308A* гена *TNFA* у женщин с эндометриозом различной степени распространения (R-AFS, 1985г.)**

Комбинации генотипов	Женщины без эндометриоза, n=100		Женщины с эндометриозом 1-2 ст. n=107		Женщины с эндометриозом 3-4 ст. n=93	
	n	%	n	%	n	%
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<i>IL2TT+IL4CC+IL10CC+TNFAGG</i>	0	0,00	9	8,40	9	9,70
$\chi^2, p$			12,26 $p<0,05$		13,61 $p<0,05$	
OR (CI95%)			1,09 (1,03-1,15)		1,11 (1,04-1,18)	
<i>IL2TT+IL4CC+IL10CC+TNFAGA</i>	0	0,00	4	3,70	5	5,40
$\chi^2, p$			5,35 $p<0,05$		7,44 $p<0,05$	
OR (CI95%)			1,04 (1,01-1,07)		1,05(1,01-1,11)	
<i>IL2TT+IL4CC+IL10CC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2, p$			1,32 $p>0,05$		1,46 $p>0,05$	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<i>IL2TT+IL4CT+IL10CC+TNFAGG</i>	9	9,00	8	7,40	9	9,60
$\chi^2, p$			6,54 $p>0,05$		3,043 $p>0,05$	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<i>IL2TT+IL4TT+IL10CC+TNFAGG</i>	21	21,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2, p$			26,08 $p<0,05$		23,09 $p<0,05$	
OR (CI95%)			0,03 (0,01 – 0,27)		0,04 (0,01 – 0,31)	
<i>IL2TT+IL4CC+IL10CA+TNFAGG</i>	0	0,00	7	6,50	7	7,50
$\chi^2, p$			9,46 $p<0,05$		10,50 $p<0,05$	
OR (CI95%)			1,07 (1,01 – 1,12)		1,08 (1,02 – 1,15)	
<i>* IL2TT+IL4TT+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	3	2,80	1	1,10
$\chi^2, p$			4,00 $p<0,05$		1,46 $p>0,05$	
OR (CI95%)			1,03 (0,99 – 1,06)		не определяется	
<i>*IL2TT+IL4TT+IL10CA+TNFAGA</i>	0	0,00	2	1,90	3	3,20
$\chi^2, p$			2,65 $p>0,05$		4,43 $p<0,05$	
OR (CI95%)			не определяется		1,03 (0,99 – 1,07)	



Продолжение таблицы 42

1	2	3	4	5	6	7
<b>*IL2TT+IL4TT+IL10AA+TNFAGA</b>	0	0,00	3	2,80	1	1,10
$\chi^2, p$			4,00 p<0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			1,03 (0,99 – 1,06)		не определяется	
<b>IL2TT+IL4CC+IL10AA+TNFAAA</b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2, p$			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2TT+IL4CC+IL10AC+TNFAAA</b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2, p$			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2TT+IL4CT+IL10AC+TNFAGG</b>	2	2,00	4	3,70	5	5,40
$\chi^2, p$			0,56 p>0,05		1,61 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2TT+IL4CT+IL10CC+TNFAGA</b>	4	4,00	0	0,00	4	4,30
$\chi^2, p$			5,90 p>0,05		0,01 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2TT+IL4CT+IL10CC+TNFAAA</b>	0	0,00	0	0,00	2	2,20
$\chi^2, p$			0		2,94 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b>IL2TT+IL4CT+IL10AC+TNFAAA</b>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2, p$			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b>IL2TT+IL4CT+IL10AA+TNFAGA</b>	0	0,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2, p$			1,32 p>0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2TT+IL4CT+IL10AC+TNFAGA</b>	0	0,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2, p$			1,32 p>0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2TT+IL4CT+IL10AA+TNFAAA</b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2, p$			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2TT+IL4TT+IL10AC+TNFAGG</b>	8	8,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2, p$			11,98 p<0,05		5,94 p<0,05	
OR (CI95%)			0,92 (0,86 – 0,97)		0,12 (0,01 – 1,02)	

Продолжение таблицы 42

1	2	3	4	5	6	7
<b><i>IL2TT+IL4TT+IL10CC+TNFAGA</i></b>	11	11,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2, p$			16,66 p<0,05		9,54 p<0,05	
OR (CI95%)			0,89 (0,83 – 0,95)		0,08 (0,01 – 0,69)	
<b><i>IL2TT+IL4TT+IL10AC+TNFAAA</i></b>	1	1,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2, p$			0,002 p>0,05		1,32 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TT+IL4CC+IL10AC+TNFAGA</i></b>	0	0,00	0	0,00	2	2,20
$\chi^2, p$			0		2,94 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b><i>IL2TT+IL4CC+IL10AA+TNFAGG</i></b>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2, p$			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CC+IL10CC+TNFAGG</i></b>	0	0,00	5	4,70	4	4,30
$\chi^2, p$			6,71 p>0,05		5,93 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4TT+IL10CC+TNFAGG</i></b>	15	15,00	2	1,90	2	2,20
$\chi^2, p$			13,12 p<0,05		11,20 p<0,05	
OR (CI95%)			1,10 (0,02 - 0,48)		1,12 (0,02 – 0,56)	
<b><i>IL2TG+IL4TT+IL10AA+TNFAGA</i></b>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2, p$			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4TT+IL10AC+TNFAAA</i></b>	1	1,00	0	0,00	2	2,20
$\chi^2, p$			1,46 p>0,05		0,42 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4TT+IL10AA+TNFAGG</i></b>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2, p$			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CC+IL10CC+TNFAGA</i></b>	2	2,00	0	0,00	0	0,00
$\chi^2, p$			2,93 p>0,05		2,65 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CC+IL10AC+TNFAGA</i></b>	2	2,00	0	0,00	0	0,00
$\chi^2, p$			2,93 p>0,05		2,65 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	

## Продолжение таблицы 42

1	2	3	4	5	6	7
<b><i>IL2TG+IL4TT+IL10AC+TNFAGG</i></b>	3	3,00	0	0,00	0	0,00
$\chi^2$ , p			4,41 p>0,05		3,98 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10CC+TNFAAA</i></b>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2$ , p			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10AC+TNFAGA</i></b>	1	1,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2$ , p			0,002 p>0,05		0,003 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10CC+TNFAGA</i></b>	0	0,00	3	2,80	2	2,20
$\chi^2$ , p			4,00 p>0,05		2,94 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10CC+TNFAGG</i></b>	6	6,00	5	4,70	5	5,40
$\chi^2_2$ , p			0,18 p>0,05		0,035 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b><i>*IL2TG+IL4CT+IL10AC+TNFAGG</i></b>	0	0,00	2	1,90	3	3,20
$\chi^2$ , p			2,65 p>0,05		4,43 p<0,05	
OR (CI95%)			не определяется		1,03 (0,99 – 1,07)	
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10AC+TNFAAA</i></b>	0	0,00	2	1,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			2,65 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10AA+TNFAGG</i></b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b><i>IL2TG+IL4CT+IL10AA+TNFAGA</i></b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b><i>*IL2TG+IL4TT+IL10CC+TNFAGA</i></b>	0	0,00	3	2,80	5	5,40
$\chi^2$ , p			4,00 p>0,05		7,44 p<0,05	
OR (CI95%)			не определяется		1,05 (1,01 – 1,11)	
<b><i>IL2TG+IL4CC+IL10AC+TNFAGA</i></b>	0	0,00	5	4,70	1	1,10
$\chi^2$ , p			6,71 p>0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	

## Продолжение таблицы 42

1	2	3	4	5	6	7
<b>*IL2TG+IL4TT+IL10AC+TNFAGG</b>	0	0,00	6	5,60	4	4,30
$\chi^2$ , p			8,08 p<0,05		5,93 p>0,05	
OR (CI95%)			1,05 (1,01 – 1,11)		не определяется	
<b>IL2TG+IL4CC+IL10CC+TNFAAA</b>	0	0,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2TG+IL4CC+IL10AC+TNFAAA</b>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2_2$ , p			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b>IL2TG+IL4CC+IL10AA+TNFAGA</b>	0	0,00	4	3,70	0	0,00
$\chi^2$ , p			5,35 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2GG+IL4CC+IL10AC+TNFAGA</b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2GG+IL4CC+IL10AC+TNFAGG</b>	0	0,00	3	2,80	0	0,00
$\chi^2$ , p			4,00 p>0,05			
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2GG+IL4CC+IL10AA+TNFAAA</b>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<b>IL2GG+IL4CC+IL10AA+TNFAGG</b>	0	0,00	1	0,90	1	1,10
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2GG+IL4CC+IL10CC+TNFAGA</b>	0	0,00	0	0,00	2	2,20
$\chi^2$ , p			0		2,94 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<b>IL2GG+IL4CT+IL10AC+TNFAGG</b>	1	1,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2$ , p			1,46 p>0,05		2,94 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<b>IL2GG+IL4CT+IL10CC+TNFAGA</b>	1	1,00	0	0,00	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,46 p>0,05		1,32 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	

Продолжение таблицы 42

1	2	3	4	5	6	7
<i>IL2GG+IL4CT+IL10CC+TNFAGG</i>	0	0,00	5	4,70	1	1,10
$\chi^2$ , p			6,71 p>0,05		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AA+TNFAGA</i>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AA+TNFAGG</i>	0	0,00	2	1,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			2,65 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<i>IL2GG+IL4CT+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2$ , p			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	
<i>IL2GG+IL4TT+IL10CC+TNFAGG</i>	3	3,00	0	0,00	2	2,20
$\chi^2$ , p			4,41 p>0,05		0,14 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<i>IL2GG+IL4TT+IL10AC+TNFAGG</i>	2	2,00	0	0,00	0	0,00
$\chi^2$ , p			2,93 p>0,05		2,65 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<i>IL2GG+IL4TT+IL10CC+TNFAGA</i>	2	2,00	0	0,00	0	0,00
$\chi^2$ , p			2,93 p>0,05		2,65 p>0,05	
OR (CI95%)			не определяется		не определяется	
<i>IL2GG+IL4TT+IL10AC+TNFAAA</i>	0	0,00	1	0,90	0	0,00
$\chi^2$ , p			1,32 p>0,05		0	
OR (CI95%)			не определяется			
<i>IL2GG+IL4TT+IL10AC+TNFAGA</i>	0	0,00	0	0,00	1	1,10
$\chi^2$ , p			0		1,46 p>0,05	
OR (CI95%)					не определяется	

**Примечание:** n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона или точного критерия Фишера. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при p<0,05. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом.

\* - рискованные комбинации

В своей работе с целью обнаружения взаимосвязи неблагоприятного течения заболевания с комбинациями полиморфных вариантов генов мы

также проанализировали иммуногенетические особенности женщин с рецидивирующим генитальным эндометриозом.

По поводу рецидива генитального эндометриоза было прооперировано 25 пациенток с разной степенью распространения генитального эндометриоза. У 5 (20%) женщин достоверно чаще встречалась комбинация *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGG* ( $p < 0,05$ ), одинаково часто наблюдаемая вне зависимости от степени распространения патологического процесса. OR составил 1,25. Среди пациенток с 3-4 степенью распространения заболевания прооперированными повторно оказались 18 человек. У 4 женщин была отмечена тенденция к носительству комбинации полиморфных маркеров – *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGA*.

Таким образом, наличие в генотипе женщины данных сочетаний полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов следует расценивать как предрасполагающий фактор возникновения и рецидивирующего течения ГЭ.

#### Глава 4. Обсуждение результатов исследования

Эндометриоз – болезнь-загадка XX века, которая и в настоящее время вызывает множество вопросов и затруднений в диагностике и лечении. Разнообразие клинических признаков и топографии этого заболевания (от бессимптомных форм до весьма выраженных и тяжёлых состояний) предопределяет широкий диапазон терапевтических алгоритмов у российских и зарубежных гинекологических школ и практическую значимость поиска общего, максимально эффективного подхода к ведению пациенток [Адамян Л.В. и др., 2006; Дамиров М.М., 2010; Леваков С.А., Хамошина М.Б., 2012].

В настоящее время эндометриоз рассматривают как доброкачественное гормонозависимое состояние, при котором за пределами границ нормального расположения слизистой оболочки матки происходит разрастание ткани, по морфологическим и функциональным свойствам идентичной эндометрию («эндометриоидные очаги», «эндометриоидные гетеротопии»), что индуцирует хроническую воспалительную реакцию и приводит к появлению клинических симптомов, которые могут оказывать влияние на физическое состояние, психологический статус и социальное благополучие пациенток [Sinaii N. et al., 2002; Kennedy S. et al., 2005; Hummelshoj L. et al., 2006].

Хотя точная оценка на основании эпидемиологических исследований затруднена, установлено, что эндометриоз поражает до 5–10% женской популяции [Mounsey A.L., 2006]. Медико-социальная значимость заболевания обусловлена преимущественным поражением женщин репродуктивного возраста (наиболее часто диагноз устанавливают в возрасте от 25 до 34 лет). Эндометриоз выявляется у 50% женщин с дисменореей, в том числе у половины подростков, страдающих тяжелой дисменореей, у 75% пациенток с хронической тазовой болью и у 25–40% женщин с бесплодием [Ballweg M.L., 2003; Hummelshoj L. et al., 2006]. По данным официальной статистики [www.gks.ru], показатель заболеваемости эндометриозом неуклонно растёт и в России: за период 1999–2009 годов его

прирост составил 72,9% (1999 год – 218 случаев на 100 000 женского населения, 2009 год - 377).

Сроки постановки диагноза в среднем составляют 7 лет: от момента первого проявления симптомов до первой консультации проходит в среднем один год, а от первой консультации до окончательного установления диагноза – шесть лет. Согласно проведенному исследованию Global Study of Women's Health (GSWH), только шестой визит к гинекологу сопровождается постановкой диагноза «эндометриоз» [Noaham K.E. et al., 2011].

При изучении клиники и диагностики эндометриоза большинство авторов предлагают обращать внимание на возраст больных, социальный статус, на данные семейного анамнеза и данные о начале и становлении менструальной функции, о беременностях, перенесенных гинекологических операциях, предшествующем лечении, и его эффективности [Стрижаков А.Н., 1996; Баскаков В.П. и др., 2002; Дамиров М.М., 2010].

Было обследовано 300 женщин репродуктивного возраста, находившихся на стационарном лечении в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, подписавших информированное согласие на участие в исследовании.

При анализе социального статуса обследованных женщин статистически значимые различия выявлены не были ( $p > 0,05$ ). Основную массу составили социально активные, работающие женщины (табл.5). По данным литературы, отмечается повсеместный рост ГЭ среди населения всего мира, причём, как правило, это «болезнь интеллектуальных, активных и деловых женщин» [Баскаков В.П. и др., 2003; Дамиров М.М., 2010].

Изучение наследственного анамнеза больных ГЭ показало, что 4,5% из них имели отягощённую наследственность по эндометриозу (табл.7). Причём у женщин с 1-2 степенью распространения процесса анамнез был отягощен в 5,6% случаев, а у женщин с 3-4 степенью распространения заболевания в 3,2% (табл. 8).



У обследованных женщин первая менструация появилась в возрасте 12-14 лет. Менструальный цикл у женщин с эндометриозом в среднем составил 28 дней (27 – 29 дней) и был значимо короче цикла женщин без эндометриоза – 30 дней (29– 31 день) ( $p < 0,05$ ). Менструальный цикл у женщин в 97% случаев был регулярный, менструации были умеренные, статистически значимые различия выявлены не были ( $p > 0,05$ ). У женщин с эндометриозом менструации были более длительными – 7 дней (6– 8 дней), у женщин без эндометриоза – 5 дней (4 – 5 дней) ( $p < 0,05$ ).

Полученные нами результаты подтверждаются данными литературы, убеждающими в том, что факторами риска развития эндометриоза являются короткий менструальный цикл (28 дней и менее), обильные и длительные менструации, наличие эндометриоза у ближайших родственников, отягощённый гинекологический анамнез [Адамян Л.В., Андреева Е., 2011; Чернуха Г.Е., 2011].

При изучении гинекологического анамнеза женщин было выявлено, что искусственные абортс встречались у пятой части пациенток с эндометриозом, количество самопроизвольных выкидышей наблюдалось у 17 женщин, замершие беременности были зарегистрированы только у 4-х из 200 женщин. У 19% женщин, больных эндометриозом, отмечались в анамнезе другие оперативные вмешательства на органах малого таза, в группе контроля этот показатель составил 10% (табл.9). При этом у женщин с 3-4 степенью распространения эндометриоза значимо чаще встречались оперативные вмешательства на органах малого таза по сравнению с данным показателем у женщин с 1-2 степенью распространения процесса и у женщин без эндометриоза (табл.10). Кроме того, практически все женщины с тяжёлым течением эндометриоза были повторно прооперированы по поводу рецидива ГЭ (табл.11).

По данным Л.В. Адамян и др. [2006], рецидив эндометриоза обнаруживается у 20,5% пациенток только после хирургического лечения, тогда как после комбинированного лечения – у 16,2% больных.

Возникновение рецидива всегда связано с неполным устранением причин болезни в процессе её лечения, что при определённых неблагоприятных условиях приводит к повторному развитию патологического процесса. Н.В. Ермолова и соавт. [2009], изучая патогенез рецидивирующего ГЭ, выявили повышение в сыворотке крови фактора роста фибробластов, сосудисто-эндотелиального фактора роста, эпидермального фактора роста и напротив снижение уровня рецептора эпидермального фактора роста и IL-6. Поскольку рецидивирование данного заболевания может наблюдаться после каждой стадии НГЭ, то это диктует необходимость проведения дополнительных исследований и поиска новых диагностических маркеров.

Проявления эндометриоза разнообразны: от бессимптомного течения до дисменореи, хронической тазовой боли, диспареунии, нарушения менструальной функции, бесплодия и других. Основной жалобой большинства пациенток является боль. Интенсивность боли различна: от незначительной до сильной, нарушающей привычный образ жизни женщины, вплоть до временной потери трудоспособности. Клинические проявления болевого синдрома разнообразны и включают спазмы (до и во время менструации), болезненные менструации, хроническую тазовую боль, болезненный коитус, болезненную дефекацию. С.М. Mac Lavery, R.W. Shaw [1995] описывают следующий механизм болей при эндометриозе:

- имплантация в брюшину вызывает воспалительную реакцию с выделением химических медиаторов боли;
- глубокая инфильтрация может привести к поражению тканей, в том числе и нервов;
- разрыв эндометриом может вызвать острую боль;
- образование рубцов и спаек приводит к деформации, натяжению тканей и органов.

Редко встречается один симптом заболевания, чаще всего они сочетаются между собой. Наиболее часто (в 34,4% случаев) встречается сочетание диспареунии, тазовой боли и дисменореи. Второе место занимает

сочетание тазовой боли и дисменореи (25,5%), гораздо реже пациентки обращаются с жалобами на один какой-либо симптом [Sinaii N. et al., 2008]. По данным Mac Lavery С.М., R.W. Shaw [1995] дисменорея встречается у 60-80%, боль в области таза у 30-50%, диспареуния у 25-40%, бесплодие у 30-40% женщин больных эндометриозом. Л.В. Адамян [2006] описывает, что жалобы на диспареунию предъявляют 26-70% пациенток, страдающих ГЭ, на бесплодие – 46-50%.

В нашем исследовании больные эндометриозом женщины предъявляли жалобы на тазовую боль, дисменорею, диспареунию и бесплодие. Оценку интенсивности болей проводили согласно шкале MacLavery С.М., Shaw R.W. (табл. 1). Так, на тазовую боль жаловались 27,1% пациенток с 1-2 степенью процесса и 88% с 3-4 степенью распространения процесса. При этом боль была слабой у 13,1 и у 21,5% женщин - соответственно; умеренной - у 11,2 и 34,4%; сильной - у 2,8 и 8,6%. На дисменорею жаловалось 28,9% женщин с 1-2 степенью распространения эндометриоза, при этом у 27,1% дисменорея оценивалась как слабая и у 1,9% - умеренная. У женщин с 3-4 степенью распространения процесса дисменорея встречалась у 50%; у 41,9% зарегистрирована слабая, а у 7,5% - умеренная дисменорея. Частота встречаемости такого симптома как диспареуния зарегистрирована у 17,7% женщин с 1-2 степенью распространения заболевания и у 26,8% женщин с тяжёлым течением ГЭ и, в основном, слабой степени (табл.13). 141 женщина предъявляла жалобы на бесплодие. Первичное бесплодие практически одинаково часто встречалось у женщин с разной степенью распространения заболевания (табл. 14). Вторичное бесплодие у женщин с 1-2 степенью распространения ГЭ встречалось в 29,9%, а с 3-4 степенью распространения процесса - в 16,1% случаев.

Анализируя всё многообразие теорий возникновения эндометриоза, приходится признать, что причины заболевания до настоящего момента окончательно не выявлены. Важную роль в этиопатогенезе эндометриоза имеют иммуногенетические факторы. Вместе с тем нельзя не признать, что

на сегодняшний день данные литературы, касающиеся изучения иммунных и генетических аспектов эндометриоза, немногочисленны и дают противоречивую информацию [Адамян и др., 2006; Баранов В.С. и др., 2009, Dun E.C. et al., 2010, Lakshmi K.V. et al., 2010].

Нарушения в иммунной системе занимают одно из ведущих мест в патогенезе эндометриоза, которые способствуют имплантации, пролиферации эндометриоидных очагов. Причём особое место отводится нарушению клеточного иммунитета, поэтому изучение особенностей иммунного ответа при данном заболевании является актуальной задачей для разработки новых патогенетически обоснованных методов лечения с применением иммуномодулирующих препаратов [Ярмолинская М.И., 2008].

Многими исследователями обнаружено повышение числа и функциональной активности макрофагов в перитонеальной жидкости у женщин с НГЭ. При активации макрофаги секретируют цитокины, простагландины, компоненты комплимента и гидролитические ферменты, регулирующие события в перитонеальной полости. Макрофаги удаляют эритроциты, повреждённые тканевые фрагменты и, вероятно, эндометриальные клетки из перитонеальной полости. Система моноцит-макрофаг в перитонеальной полости является частью «системы очистки», и имеет значение первой линии клеточного иммунного ответа на присутствие эндометриальных клеток. Очевидно, эндометриоз может развиваться тогда, когда «система очистки» подавлена высоким уровнем ретроградной менструации или когда её повреждение даёт возможность имплантации и росту эндометриальных клеток или фрагментам ткани [Ярмолинская М.И., 2007].

В последние годы большое внимание уделяется изучению роли цитокинов в патогенезе генитального эндометриоза [Адамян и др., 2006; Ярмолинская М.И., 2007, Podgaec S. et al., 2007; Лысенко М.А., 2008; Dun E.C. et al., 2010]. Сложные взаимоотношения иммунокомпетентных клеток при возникновении и развитии патологических процессов опосредуются

универсальными молекулами межклеточных взаимодействий – цитокинами. В иерархии уровней специфического действия цитокинов наибольшее значение имеют паракринный, аутокринный и гораздо меньше эндокринный эффекты. Клеточный иммунитет, включая Т-клеточно-опосредованную цитотоксичность, активируется или подавляется цитокинами, продуцируемыми Т-хелперами 1-го (Th1) и 2-го (Th2) типа соответственно. В нормальных условиях существует механизм контроля баланса между Th1 и Th2. Например, Th1 секретируют IL-12, который активирует цитотоксичную активность НК-клеток благодаря образованию IL-10, INF- $\gamma$ , продуцируемый Th1, подавляет активность Th2, а IL-4 и IL-10, синтезируемые Th2, снижают активность Th1. Иммунный ответ при эндометриозе поляризован по Th2 пути, что обусловлено повышением продукции следующих цитокинов: IL-4, IL-6, IL-10, IL-18 [Antsiferova Y.S. et al., 2005; Podgaec S. et al., 2007]. Несомненно, важной задачей является выявление взаимосвязи между показателями концентрации цитокинов в сыворотке крови и заболеванием НГЭ, что позволит охарактеризовать системные механизмы иммунорегуляции.

Исходя из вышеизложенного, в настоящей работе нами была определена концентрация провоспалительных (IL-2, IL-12 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10 и TGF- $\beta$ ) цитокинов в сыворотке крови женщин с эндометриозом. Так у женщин с эндометриозом было выявлено снижение в 2,5 раза уровня IL-2, по сравнению с женщинами без ГЭ (табл. 15).

IL-2 продуцируется Th1 и является фактором роста и дифференцировки Т-лимфоцитов, НК-клеток, обеспечивает дифференцировку Т-киллеров и способствует проявлению функциональной активности Т-хелперов. Выявленное снижение уровня IL-2 в сыворотке крови больных эндометриозом, вероятно, связано с уменьшением содержания активированных Т- лимфоцитов и НК-клеток в перитонеальной жидкости. Такая взаимосвязь представлена в работах М. Gogacz et al. [2007].

У больных содержание IL-4 оказалось в 4 раза, а IL-10 – в 2 раза выше соответствующих показателей у здоровых женщин ( $p < 0,001$ ) (табл.16). Было установлено, что у женщин с 1-2 степенью распространения ГЭ концентрация IL-4 была в 5 раз выше, чем у женщин без эндометриоза ( $p < 0,001$ ). У женщин с 3-4 степенью распространения ГЭ уровень IL-4 в сыворотке крови оказался в 7 раз, а IL-10 – в 4 раза выше соответствующих показателей женщин контрольной группы ( $p < 0,001$ ) (табл.16).

IL-4 продуцируется Th2-клетками и действует преимущественно на В- и Т-лимфоциты, макрофаги и тучные клетки. IL-4 является ключевым цитокином Th2-типа ответа. Он индуцирует активацию и созревание В-клеток, а также дифференцировку Th0 в Th2-типа. И, кроме того, IL-4 ингибирует дифференцировку и функцию Th1. IL-10, являясь так же противовоспалительным цитокином, продуцируемый моноцитами и макрофагами, снижает синтез провоспалительных медиаторов, таких как IL-1, TNF- $\alpha$  и угнетает продукцию IL-12 [Cupta S. Et al., 2006]. Обращает на себя внимание способность самих макрофагов продуцировать этот цитокин, являющийся ингибитором их функции. Избыток IL-10 ведет к неадекватному иммунному ответу на эктопированный эндометрий.

Концентрация TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  была почти в 2 раза выше соответствующих показателей у женщин без заболевания ( $p < 0,001$ ) (табл.15). TNF- $\alpha$  – цитокин, секретируемый нейтрофилами, активированными макрофагами, эндотелиальными клетками. Он участвует в реакциях воспаления, ангиогенеза и обеспечивает цитотоксический эффект в отношении клеток-мишеней, являясь эффектором Th1-ответа. Вместе с активированными макрофагами вышеуказанный цитокин играет центральную роль в патогенезе эндометриоза и его эффекты усиливают местные и системные проявления заболевания [Cupta S. Et al., 2006]. TGF- $\beta$  – противовоспалительный цитокин – 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 [Omwantho C.O. et al., 2010]. Повышение в крови концентрации TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ , обнаруженное нами у женщин с НГЭ, может лежать в основе избыточной пролиферации фрагментов эктопированного эндометрия и формирования спаечного процесса, способствующего развитию бесплодия и хронических тазовых болей.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что при НГЭ иммунный ответ развивается по Th2-типу и, следовательно, снижены клеточно-опосредованные реакции, необходимые для эффективной элиминации атипично локализованных эндометриоидных элементов.

В последние годы значительная роль в генезе эндометриоидной болезни отводится так же генетической предрасположенности. В настоящее время проблема изучения генетических факторов эндометриоза является дискуссионной и продолжает оставаться в центре внимания отечественных и зарубежных исследователей [Адамян Л.В. и др., 2006, Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2007; Wenger J.M. et al., 2009; Бурлев В.А. и др., 2010; McLeod B.S. et al., 2010].

В обширном исследовании «The Oxford Endometriosis Gene Study», запланированном на многие годы, продолжается поиск конкретных генов, ответственных за развитие эндометриоза [Kennedy S., 1999, 2001; Lin J. et al., 2011].

Наиболее глубоко и всесторонне генетические аспекты эндометриоза изучены коллективом под руководством Л.В. Адамян [2006]. По данным этих авторов, гомозиготный фенотип эритроцитарной эстеразы 5-5 (ESD) и гетерозиготный фенотип ESD 7-1 встречаются только у женщин, страдающих ГЭ, и не встречаются в контрольной группе. У пациенток с ГЭ ген трансферрина C2 (TF\*C2) встречается в 2,2 раза, третьего компонента комплемента (C3\*F) - в 2,9 раза, а ген псевдохолинэстеразы \*+ (E2\*+) - в 9 раз чаще по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы.

И наоборот, при наличии гена третьего компонента комплемента \*S (C'3\*S) или псевдохолинестеразы \*- (E2\*-) предрасположенность к эндометриозу относительно более низкая.

О.В. Голубева [2007] в своей работе продемонстрировала ассоциацию аденомиоза с наличием в генотипе делеций в генах ферментов биотрансформации ксенобиотиков *CYP19*, *GSTM1*, *GSTT1*. Гетерозиготное носительство аллеля *del(TCT)* в гене *CYP19* повышает риск развития аденомиоза в 2,5 раза, а сочетание нулевых вариантов по генам *GSTM1*, *GSTT1* - в 3,5 раза. Развитие эндометриом яичников ассоциировано с *ins/del* полиморфизмом гена клеточного цикла *p53*. Гетерозиготное носительство инсерции в гене *p53* увеличивает риск развития эндометриом яичников в 3 раза, тогда как гомозиготное - в 10 раз.

М.М. Соновой [2009] было доказано, что сочетание полиморфных вариантов гена ароматазы (*CYP19*) и гена детоксикации *GSTM* ассоциировано с более тяжелыми стадиями (3-4 ст.) развития эндометриоза, болевым синдромом и рецидивирующими формами заболевания. По исследованию гена детоксикации *GSTT* не обнаружено какой-либо ассоциативной связи как с другими изученными генами, так и с основными клиническими проявлениями заболевания.

О.А. Конева [2011] в своей работе показала связь генетического полиморфизма TNFA (-308 G/A TNFA), лимфотоксина а (+250 A/G Lta), рецептора фактора некроза опухоли 1-го типа (+36 A/G TNFR1) с формированием генитального эндометриоза, возрастом манифестации заболевания и особенностями его клинического проявления.

Таким образом, большинство исследований посвящено поиску генетических маркеров эндометриоза среди генов системы детоксикации ксенобиотиков, свертывающей системы, клеточного цикла. Итак, выявление иммуногенетических маркеров эндометриоза и их корреляций с формами течения заболевания является важной научно-практической задачей, решение которой позволит использовать их при оценке предрасположенности к



эндометриозу, выборе тактики терапии и прогнозирования отдалённых результатов лечения.

Роль полиморфных маркеров генов цитокинов в отношении генитального эндометриоза в нашей стране изучена крайне слабо, что диктует необходимость проведения данных исследований в Российской Федерации. В нашем исследовании мы решили провести поиск SNP в промоторах генов кандидатов про- и противовоспалительных цитокинов, которые могут быть связаны с развитием НГЭ. Данные литературы свидетельствуют о том, что изученные нами полиморфные маркеры могут влиять на уровень экспрессии генов соответствующих цитокинов [Smith A.J., Humphries S.E., 2009].

В связи с изложенным выше актуальным явилось изучение взаимосвязи аллельного полиморфизма генов *IL2*, *IL4*, *IL10*, *IL12B*, *TNFA*, *TGFB* с развитием и тяжестью течения наружного генитального эндометриоза.

В ходе проведенного нами исследования было показано, что у женщин с эндометриозом распределение аллелей и генотипов исследуемых полиморфных сайтов генов цитокинов значительно отличается от таковых группы контроля.

Так, было установлено, что у женщин с эндометриозом достоверно реже встречается гомозиготный генотип *TT* и отмечается увеличение частоты встречаемости гомозиготного генотипа *GG* полиморфного сайта *T-330G* гена *IL2* по сравнению с таковыми у женщин без эндометриоза ( $p < 0,05$ ). Редкий аллель *G* так же достоверно чаще обнаруживался у больных ГЭ (табл. 17). В ходе сравнительной оценки распределения аллелей и генотипов изучаемого нами полиморфного сайта *T-330G* гена *IL2* в зависимости от степени распространения эндометриоза, согласно классификации R-AFS (1985 г.) были выявлены статистически значимые различия: у женщин с 1-2 степенью распространения ГЭ генотип *TT* встречался значительно реже, чем у женщин контрольной группы. Так же у этих

женщин статистически достоверно чаще определялся редкий аллель *G* полиморфизма *T-330G* гена *IL2* ( $p < 0,05$ ) (табл. 18).

Таким образом, проведенный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфного сайта *T-330G* гена *IL2* у больных ГЭ позволил установить положительную ассоциацию редкого аллеля *G* и, соответственно, протективный эффект генотипа *TT* и аллеля *T* в отношении развития НГЭ и тяжести течения данного заболевания (табл. 17,18).

Бесспорным является тот факт, что изменения в промоторной области влекут за собой изменение активности контролируемого гена. Поскольку известно, что полиморфизм *T-330G* расположен в области промотора гена *IL2*, то теоретически замена тимина на гуанин в позиции -330 п.н. относительно стартовой точки транскрипции, должна быть связана с уровнем экспрессии гена, а соответственно, и с уровнем синтеза кодируемого продукта [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

У женщин с ГЭ уровень исследуемого цитокина по всем генотипам локуса *T-330G* гена *IL2* оказался значимо ниже такового у женщин контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Самая низкая концентрация *IL-2* зарегистрирована у носителей редкого генотипа *GG* среди женщин больных эндометриозом (табл. 29).

Интересным является и тот факт, что в группе женщин с ГЭ 3-4 степени распространения процесса уровень *IL-2* у носителей генотипа *TT* и *TG* (*T-330G*) гена *IL2* оказался значимо ниже, как по сравнению с группой контроля ( $p_{1,3} < 0,05$ ), так и по сравнению с женщинами с 1-2 степенью распространения заболевания ( $p_{2,3} < 0,05$ ) (табл. 30).

В литературе не представлены данные о связи полиморфизма гена *IL2* (*T-330G*) с развитием данной патологии. Изучение G.H. Lee et al. [2009] полиморфизма *C627T* гена *IL-2RB* с заболеванием ГЭ среди женщин корейской популяции не выявило положительной ассоциации.

Иммуногенетическое исследование полиморфизма *C-590T* гена *IL4* показало, что у женщин с эндометриозом достоверно чаще встречается

гомозиготный генотип *TT* и редкий аллель *T*, отмечено снижение частоты встречаемости генотипа *CC* (табл. 19). У женщин с 3-4 степенью распространения ГЭ отмечено значительное снижение частоты встречаемости генотипа *CC* и повышение генотипа *TT* полиморфного сайта *C-590T* гена *IL4* как по сравнению с женщинами без ГЭ, так и с женщинами с ГЭ 1-2 степени распространения ( $p < 0,05$ ) (табл. 20). Таким образом, показана положительная ассоциация НГЭ с аллелем *T* ( $OR=2,50$ ) и генотипом *TT* ( $OR=22,83$ ) полиморфизма *C-590T* гена *IL4*. Генотип *CC* ( $OR=0,52$ ) обладал протективным эффектом в отношении НГЭ. Выявлена так же положительная ассоциация тяжёлого течения эндометриоза с аллелем *T* ( $OR=3,04$ ) и генотипом *TT* ( $OR=39,69$ ) полиморфизма *C-590T* гена *IL4*. (табл. 19,20).

Полиморфизм *C-590T* гена *IL4* находится в промоторном участке на пятой хромосоме (5q31.1) и контролирует уровень экспрессии соответствующего цитокина [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

Среди женщин основной группы был зарегистрирован значимо высокий уровень исследуемого цитокина у носителей всех генотипов (*C-590T*) гена *IL4* ( $< 0,001$ ) по сравнению с аналогичными показателями группы контроля (табл. 31). Так же обращало на себя внимание то, что в основной группе зафиксировано статистически значимое увеличение концентрации IL-4 у пациентов с генотипом *TT* по сравнению с носителями генотипа *CT* ( $p_{TT/CT} < 0,05$ ) и *CC* ( $p_{CC/TT} < 0,05$ ) полиморфного сайта *C-590T* гена *IL4* (табл. 31). Самые высокие показатели уровня данного интерлейкина обнаружены нами у женщин с 3-4 степенью распространения эндометриоза по сравнению с женщинами группы контроля ( $p < 0,001$ ) и отмечено достоверное повышение по сравнению с аналогичными показателями у женщин - носителей генотипа *CC* и *TT* женщин с 1-2 степенью заболевания ( $p < 0,001$ ) (табл. 32).

В литературе встречается противоречивая информация о положительной ассоциации полиморфизма гена *IL4* с развитием НГЭ. Так, в своей работе, Козловская М.А. и др. [2007] отмечают ассоциацию полиморфизма *A1902G* гена *IL4R* (аллель Arg551) с ГЭ и сообщают, что

тестирование этого полиморфизма наряду с полиморфизмами генов системы детоксикации открывает реальные возможности для досимптоматического выявления женщин групп высокого риска развития ЭМ. По данным М.И. Ярмолинской [2009], при наличии аллеля *C* гена *IL4* риск развития эндометриоза возрастает в 3 раза, причем частота носительства аллеля *C* по гену *IL4* (-590*C/T*) достоверно выше у больных НГЭ тяжелой степени. В свою очередь Y.Y. Hsieh et al. [2002] не выявили положительной ассоциации с ГЭ среди китайских женщин.

Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма *C-592A* промоторного участка гена *IL10* позволил установить, что у женщин основной группы обращало на себя внимание снижение частоты генотипа *CC* (52,5%), значимо чаще встречались носители гетерозиготного генотипа *CA* (34%) и были обнаружены носители редкого гомозиготного генотипа *AA* (13,50%) промоторного участка *C-592A* гена *IL10*. Редкий аллель *A* так же статистически значимо был выше, чем аналогичный показатель у женщин без ГЭ. У женщин с разной степенью распространения ГЭ была снижена частота встречаемости генотипа *CC* и повышена генотипа *AA* ( $p < 0,05$ ) (табл. 22).

Показана положительная ассоциация генотипа *AA* ( $OR=31,86$ ) и аллеля *A* ( $OR=3,95$ ) с заболеванием и защитная роль генотипа *CC* ( $OR=0,28$ ) в отношении НГЭ (табл. 21).

Для гена *IL10*, который находится в промоторном участке первой хромосомы человека (1q31-q32), также существует функциональный полиморфизм *C-592A* [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

Проведенное нами исследование определения концентрации IL-10 в сыворотке крови в зависимости от аллельного полиморфизма *C-592A* гена *IL10* показало, что у женщин, больных эндометриозом, независимо от степени распространения заболевания, по всем генотипам уровень данного цитокина значимо превышал его содержание у женщин без эндометриоза ( $p < 0,001$ ) (табл. 33).

По данным литературы, так же отмечается положительная ассоциация полиморфизма *C-592A* гена *IL10* с заболеванием НГЭ. В своём исследовании Zhang X. et al. [2007] показал, что среди женщин с эндометриозом достоверно чаще встречаются носители гетерозиготного генотипа *CA* и гомозиготного *AA* *C-592A* гена *IL10* по сравнению с группой контроля. В данной работе также представлена связь аллельного полиморфизма с уровнем содержания цитокинов в перитонеальной жидкости. Было установлено, что концентрация IL-10 значительно выше была у женщин с эндометриозом по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы. В своей работе датские исследователи представили аналогичные данные [Riiskjaer M. et al., 2011]. He P. et al. [2009] установили не только положительную ассоциацию полиморфизма *C-592A* гена *IL10* с возникновением заболевания среди женщин китайской популяции, но и выявили, что у женщин с 3-4 степенью распространения процесса значимо чаще встречаются носители гетерозиготного генотипа *CA* и редкого аллеля *A* по сравнению с женщинами с 1-2 степенью распространения ГЭ и женщинами группы контроля.

Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма *A-1188C* промоторного участка гена *IL12B* не установил статистически значимых различий между женщинами без эндометриоза и с эндометриозом (табл. 23, 24).

Генотип локуса *A-1188C* гена *IL12B* находится в промоторном участке пятой хромосомы человека 5q31-33, и теоретически замена аденина на цитозин (относительно стартовой точки транскрипции) должна быть связана с уровнем экспрессии гена, а соответственно и с уровнем синтеза кодируемого продукта [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

Нами было обнаружено, что концентрация IL-12 $\beta$  у женщин, больных эндометриозом, носителей генотипа *AA*, *AC* и *CC* полиморфного сайта *A-1188C* гена *IL12B* была статистически значимо ниже таковой у женщин без эндометриоза. Обращал на себя внимание и тот факт, что уровень исследуемого цитокина был статистически значимо выше у носителей

гомозиготного генотипа *CC* относительно носителей гомозиготного генотипа *AA* и гетерозиготного *AC* в обеих группах ( $p_{AA/CC} < 0,05$ ;  $p_{AC/AA} < 0,05$  и  $p_{CC/CA} < 0,05$ ) (табл. 35).

В литературе не представлены данные о связи полиморфизма *A-1188C* промоторного участка гена *IL12B* с развитием заболевания НГЭ и уровнем соответствующего цитокина.

Изучение распределения генотипов промоторного участка *G-308A* гена *TNFA* показало, что у женщин с НГЭ снижалась частота гомозиготного по аллелю *G* генотипа (62,5%), и повышалась частота гомозиготного генотипа *AA* (10%) по сравнению с показателями контрольной группы. У женщин с тяжёлым течением эндометриоза значимо реже встречались носители генотипа *GG* и чаще – носители генотипа *AA* *G-308A* гена *TNFA* (табл. 26). Была показана положительная ассоциация распространения НГЭ с аллелем *A* ( $OR=1,82$  и  $OR= 2,51$ - соответственно) полиморфизма *G-308A* гена *TNFA*. Отмечено, что генотип *GG* полиморфного сайта *G-308A* гена *TNFA* обладал протективным эффектом в отношении заболевания (табл. 26).

Ген фактора некроза опухолей альфа (*TNFA*) находится в шестой хромосоме (6p21.3) и имеет функциональный полиморфизм *G-308A* [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

Изучая уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у обследуемых женщин в зависимости от генотипа локуса *G-308A* гена *TNFA* мы выявили, что женщины с эндометриозом имеют достоверно высокие показатели этого медиатора по сравнению с таковыми показателями у женщин без эндометриоза (табл. 37). Также была зарегистрирована максимальная концентрация TNF- $\alpha$  у женщин, больных ГЭ, и у здоровых, носителей генотипов *GA* и *AA* полиморфного сайта *G-308A* гена *TNFA*. При сравнительной оценке концентрации данного цитокина в зависимости от степени распространения эндометриоза (R-AFS, 1985 г.) и от генотипа локуса *G-308A* гена *TNFA* уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови был значимо выше у женщин с 3-4 степенью распространения процесса как по сравнению с

показателями женщин с 1-2 степенью распространения, так и здоровых (табл. 38).

Проведённое австрийскими учёными исследование не установило связи распределения генотипов и аллелей полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* с эндометриозом у европеоидного населения [Wieser F. et al., 2002]. Аналогичные данные представлены Y.Y. Hsieh [2002]. Однако K.V. Lakshmi et al. [2010] изучая полиморфизм *850C/T* гена *TNFA*, показали положительную ассоциацию аллеля *T* (OR=1,95) и генотипа *TT* с развитием ГЭ у женщин Индии. Генотип *TT* увеличивает риск развития эндометриоза в четыре раза (OR=4,55). Исследование полиморфизма *-C850T* гена *TNFA* может быть использовано в качестве молекулярных маркеров эндометриоза в популяции Индии.

В нашей стране изучением связи полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* занималась О.А. Конева [2011], которая установила ассоциацию данного полиморфизма с формированием генитального эндометриоза, возрастом манифестации заболевания и особенностями его клинического проявления. А так же сообщила, что формирование бесплодия у женщин, больных ГЭ, ассоциировано с *-308 A TNFA* (OR=1,6). Ранее М.И. Ярмолинская [2009] продемонстрировала в своей работе, что носительство аллеля *-308A* гена *TNFA*, в гомо- или гетерозиготном состоянии повышает риск развития НГЭ в 7,5 раз.

При исследовании распределения аллелей и генотипов полиморфного сайта *C-509T* гена *TGFB* было выявлено, что у женщин с ГЭ существуют значимые различия в распределении аллеля *T* относительно аналогичного параметра у женщин контрольной группы ( $\chi^2=6,45$ ,  $p<0,05$ ). Однако достоверно значимых различий по распределению генотипов выявлено не было ( $\chi^2=5,55$ ,  $p>0,05$ ) (табл. 27). Представленные данные указывают на положительную ассоциацию аллеля *T* (OR=1,66) полиморфизма *C-509T* гена *TGFB* с НГЭ (табл. 27). При исследовании распределения генотипов полиморфного сайта *C-509T* гена *TGFB* у женщин, страдающих ГЭ, в

зависимости от его степени распространения выявлено, что редкий аллель *T* значительно чаще встречается по сравнению с показателем группы контроля ( $\chi^2=4,06$ ,  $p<0,05$  и  $\chi^2=6,18$ ,  $p<0,05$  - соответственно) (табл. 28). Несмотря на то, что не было выявлено достоверных различий по частоте встречаемости генотипов среди обследованных групп женщин, была отмечена тенденция к снижению частоты генотипа по аллелю *C* полиморфного сайта *C-509T* гена *TGF $\beta$*  и повышению распространённости генотипа *TT* у женщин с 3-4 степенью распространения генитального эндометриоза, согласно классификации R-AFS (табл. 28).

Аллельные варианты полиморфизма *C-509T* гена *TGF $\beta$* , находящегося в девятнадцатой хромосоме (19q31.1), могут вызывать разные фенотипические эффекты [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

Нами был проведен анализ уровня TGF- $\beta$  в зависимости от аллельного варианта полиморфизма *C-509T* гена *TGF $\beta$* , который показал, что у женщин с НГЭ, гомозигот по аллелю *T*, отмечалась максимальная, а у гомозигот по аллелю *C* – минимальная концентрация TGF- $\beta$  ( $p_{CC/TT}<0,001$ ;  $p_{TT/CT}<0,05$  и  $p_{CT/CC}<0,05$ ). Уровень данного цитокина в сыворотке крови независимо от генотипа был значимо выше у женщин с НГЭ по сравнению с показателями у женщин без эндометриоза (табл. 39). Самая высокая концентрация TGF- $\beta$  отмечалась у женщин с 3-4 степенью распространения заболевания, и это вне зависимости от генотипа как по отношению к здоровым женщинам, так и по отношению к женщинам с 1-2 степенью распространения ГЭ ( $p<0,001$ ). У женщин с 1-2 степенью распространения заболевания так же отмечалось статистически значимое повышение уровня исследуемого цитокина у носителей гомозиготных генотипов *CC* и *TT* локуса *C-509T* гена TGF $\beta$  по сравнению с таовым у женщин без эндометриоза ( $p<0,001$ ) (табл.40).

В литературе также накоплены весьма противоречивые сведения о роли полиморфизма *C-509T* гена *TGF $\beta$*  в развитии НГЭ. Проводя исследование связи полиморфизма *C-509T* гена *TGF $\beta$*  с эндометриозом, H.J. Lee et al. [2011] выявили, что гетерозиготный генотип *CT* встречается в 4,5 раза чаще у



женщин с ранней стадией заболевания в корейской популяции. Исследование уровня TGF- $\beta$  в сыворотке крови этих женщин показало значимо высокий уровень данного цитокина по сравнению с его концентрацией у женщин контрольной группы. В более ранних работах Y.Y. Hsieh et al. [2005] так же показана положительная ассоциация с заболеванием генитальным эндометриозом среди женщин, проживающих на территории Китая, носителей генотипа *TT* и редкого аллеля *T -509C/T*.

F. Zhang et al. [2012], проводя мета-анализ полученных данных, показали, что связь между полиморфизмом *-509C/T* гена *TGFB* с восприимчивостью к эндометриозу незначительна и требуются дополнительные исследования, чтобы выяснить его роль в развитии ГЭ.

Для комплексной оценки предрасполагающего влияния полиморфных вариантов *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL-4*, *C-592A* гена *IL10*, *G-308A* гена *TNFA* к развитию ГЭ мы провели анализ распространенности их комбинаций. В связи с тем, что статистически значимых различий в распределении генотипов полиморфных вариантов *A-1188C* и *C-509T* генов *IL12B* и *TGFB* у обследованных нами женщин получено не было, мы не включили в анализ сочетаний полиморфных маркеров данные показатели.

К комбинациям, обладающим предрасполагающими свойствами, были отнесены следующие комплексы генотипов: *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGA*, *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGG*, *IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TG/IL4TT/IL10AC/TNFAGG*. Риск развития ГЭ у здоровых женщин, носителей данного сочетания вариантных генов, находился в диапазоне 1,04 - 1,09 (табл. 41).

Было установлено протективное влияние следующих сочетаний полиморфных вариантов: *IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TT/IL4CC/IL10AC/TNFAGG*, *IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGA*, *IL2TG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG*, *IL2TG/IL4CC/IL10AC/TNFAGG* (табл. 41). Протективную роль перечисленных выше сочетаний полиморфных маркеров

подтверждает то, что коэффициент OR для данных комбинаций находился в диапазоне 0,03-0,97 (табл. 41, 42).

Обращало на себя внимание то, что характерной особенностью предрасполагающих комбинаций полиморфных генов цитокинов оказалось наличие в них гомозиготного генотипа *TT* промоторного региона *C-590T* гена *IL4*, отсутствовавшего в протективной комбинации вариантных генотипов (табл. 41). Все остальные комбинации генов оказались интактными к развитию НГЭ (табл. 41, табл. 42).

Интересные особенности были выявлены при анализе комбинаций генов в зависимости от степени распространения ГЭ (R-AFS, 1985 г.). Так, у женщин с 1-2 степенью распространения заболевания достоверно чаще встречались следующие комбинации: *IL2TT/IL4TT/IL10AA/TNFAGG*, *IL2TT/IL4TT/IL10AA/TNFAGA* и *IL2TG/IL4TT/IL10AC/TNFAGG*. Риск развития заболевания при носительстве данного сочетания генов у здоровых женщин был равен 1,03, 1,03 и 1,05, соответственно. У женщин с 3-4 степенью распространения ГЭ значимо чаще встречались комбинации *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGA*, *IL2TG/IL4CT/IL10AC/TNFAGG* и *IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGA*. При этом OR для носителей данных комбинаций составил 1,02, 1,02 и 1,03 соответственно (табл. 42).

К тому же нами был проведён анализ комбинаций генотипов у женщин с рецидивирующим течением генитального эндометриоза. 12,5% женщин, больных эндометриозом были повторно прооперированы по поводу рецидива (табл. 11). У 20% этих женщин достоверно чаще встречалась комбинация *IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGG* ( $p < 0,05$ ). Риск развития рецидивирующего течения НГЭ у носителей данного генотипа составляет 1,25.

У 16% женщин была отмечена тенденция к носительству комбинации полиморфных маркеров – *IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGA*, которая встречалась среди пациенток с 3-4 степенью распространения заболевания.

Таким образом, наличие в генотипе женщины данных сочетаний полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов следует расценивать

как предрасполагающий фактор возникновения и рецидивирующего течения ГЭ.

В настоящее время в литературе нет данных о роли комбинаций генов цитокинов в развитии и характере течения эндометриоза. Имеются данные о связи генов детоксикации и их комбинации с развитием НГЭ [Ярмолинская М.И., 2009]. Так, сочетание GSTM1 0/0 + GSTT1 0/0 увеличивает риск развития НГЭ почти в 5, а генотип GSTM1 0/0+GSTT1 0/0+NAT2 S/S - в 10 раз. Носительство сочетанного генотипа GSTM1 0/0 + GSTT1 0/0 и GSTT1 0/0 + NAT2 S/S увеличивает риск развития более тяжелых степеней заболевания.

Подводя итог нашего исследования, ещё раз хочется упомянуть, что эндометриоз на протяжении многих лет является актуальной проблемой. До сих пор вопрос о происхождении и патогенезе этого заболевания остаётся спорным.

Ключевым фактором в формировании эндометриозной болезни является ретроградная менструация. Отторгнутые фрагменты функционального слоя эндометрия попадают через маточные трубы в перитонеальную полость. Далее происходит адгезия фрагментов эндометрия к поверхности брюшины. Завершающим этапом является васкуляризация очага эндометриоза [Wu M.H. et al., 2004; Barcz E. et al., 2012].

Повышенная способность к адгезии фрагментов эндометрия может быть связана с гиперэкспрессией молекулы ICAM-1, присутствующей на мембранах лейкоцитов и эндометриальных клетках. При стимуляции цитокинами экспрессия ICAM-1 на цитоплазматической мембране резко увеличивается [Viganò P. et al., 2003]. Одновременно ускоряется миграция макрофагов в перитонеальную жидкость и снижается активность натуральных киллеров. При активации макрофаги секретируют цитокины – IL-10, IL-12 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , регулирующие события в перитонеальной полости. Система моноцит-макрофаг в перитонеальной полости является частью «системы очистки», и имеет значение первой линии клеточного

иммунного ответа на присутствие эндометриальных клеток. Становится очевидным, что эндометриоз может развиваться тогда, когда «система очистки» не справляется с высоким уровнем ретроградной менструации или когда её повреждение даёт возможность имплантации и росту эндометриальных клеток или фрагментам ткани [Цвелёв Ю.В. и др., 2007; Guo S. et al., 2012; Veillat V. et al., 2012].

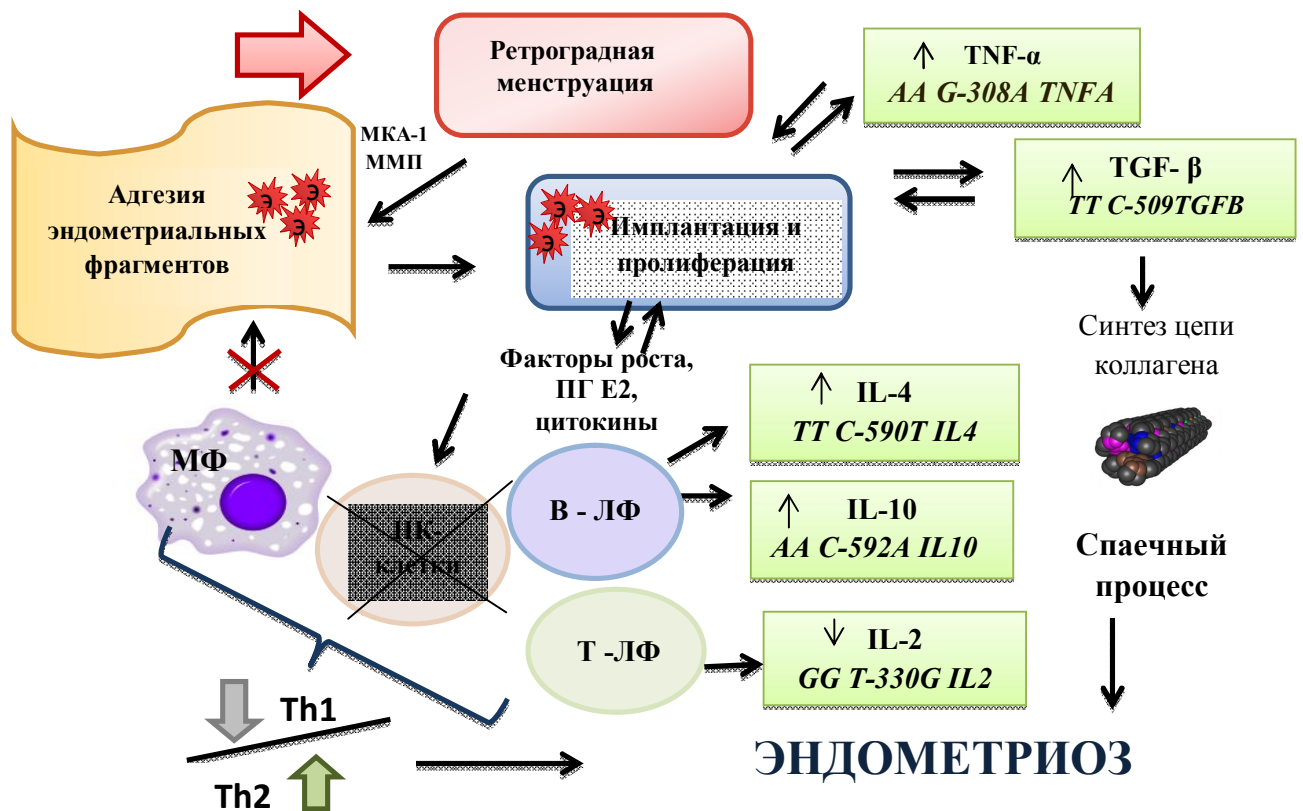


Рис. 1. Иммунопатогенез эндометриоза (по данным литературы и результатам собственных исследований). В зелёных рамках приведены результаты собственных исследований.

Противовоспалительный цитокин IL-4 индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов и, следовательно, определяет развитие иммунного ответа по Th2 пути. Кроме того, IL-4 ограничивает синтез макрофагами и моноцитами провоспалительных цитокинов. IL-10 так же способен подавлять продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов и угнетать клеточный иммунитет [Кадагидзе З.Г., 2003; Кетлинский С.А., 2008]. Их повышенная

концентрация в сыворотке крови больных ГЭ может быть генетически детерминированной. Как показало наше исследование, высокий уровень IL-4 в сыворотке крови отмечен у носителей *TT* генотипа полиморфизма *C-590T* гена *IL4*, а IL-10 – у носителей генотипов *CA* и *AA* полиморфизма *C-592A* гена *IL10*.

TNF- $\alpha$  продуцируется моноцитами, макрофагами и другими клетками. Локальное высвобождение этого медиатора приводит к активной миграции клеток, продукции провоспалительных цитокинов и сдвигу иммунного ответа в сторону Th1. TGF- $\beta$  активируют многие клетки, включая макрофаги. Этот цитокин участвует в процессе воспаления, репарации, усиливает рост фибробластов и синтез коллагена. Обладает иммуносупрессорным действием и является основным медиатором формирования фиброза [Кетлинский С.А., 2008].

Повышение в крови концентрации TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ , обнаруженное нами у женщин с НГЭ, может лежать в основе избыточной пролиферации фрагментов эктопированного эндометрия и формирования спаечного процесса, способствующего развитию бесплодия и хронических тазовых болей [Кетлинский С.А., 2008; Kim J.J. et al., 2010]. Высокая концентрация соответствующих цитокинов отмечена у женщин, носителей генотипов *AA* полиморфизма *G-308A TNFA* и *TT* полиморфизма *C-509T TGFB*.

Основной биологический эффект IL-2 заключается в регуляции пролиферации клеток-мишеней, с которыми он взаимодействует: Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток, макрофагов. Оказывая аутокринное воздействие на Th1-клетки и паракринное – на субпопуляцию Th2, IL-2 вызывает смещение баланса Th1/Th2 в сторону клеточного иммунного ответа [Егорова В.Н. и др., 2004]. У женщин с ГЭ в нашем исследовании была обнаружена низкая концентрация IL-2, которая была ассоциирована с *GG* генотипом полиморфизма *T-330G* гена *IL2*.

В результате всего вышеизложенного происходит поляризация иммунного ответа по Th2 типу, неэффективного в отношении

эктопированных эндометриоидных клеток, способных распространяться, адгезировать и избыточно пролиферировать, вызывая нарушение функционирования органов репродуктивной системы.

Таким образом, проведенное исследование распределения аллелей и генотипов полиморфных генов цитокинов у больных генитальным эндометриозом с разной степенью распространения патологического процесса выявило значимость вариантных генотипов в формировании предрасположенности к развитию данного заболевания. Позволило оценить также вклад, как отдельных генных полиморфизмов, так и их сочетаний в увеличение рисков возникновения и прогрессирующего течения генитального эндометриоза.

### Выводы:

1. Течение наружного генитального эндометриоза сопровождается повышением концентрации IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  при снижении содержания IL-2 и IL-12 $\beta$  в сыворотке крови. При этом у пациенток с тяжелым течением наружного генитального эндометриоза (3-4 степень распространения) содержание IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  в сыворотке крови выше, чем у женщин с легким течением заболевания (1-2 степень распространения).
2. Частота встречаемости генотипов GG полиморфизма T-330G гена IL2, TT полиморфного региона C-590T гена IL4, AA промоторного региона C-592A гена IL10 и AA G-308A гена TNFA у больных наружным генитальным эндометриозом выше, чем у женщин без эндометриоза.
3. У женщин с наружным генитальным эндометриозом повышенное содержание IL-4 в сыворотке крови ассоциировано с генотипом TT (C-590T) гена IL4; IL-10 – с CC (C-592A) гена IL10; TNF- $\alpha$  – с AA (G-308A) гена TNFA; TGF- $\beta$  – с TT (C-509T) гена TGFB; при этом низкая концентрация IL-2 – GG (T-330G) гена IL2; IL-12 $\beta$  – AA (A-1188C) гена IL12B.
4. Подверженность тяжелому течению наружного генитального эндометриоза (3-4 степень распространения) ассоциирована с носительством аллеля T (OR=3,04) и генотипа TT (OR=39,69) полиморфизма C-590T гена IL4.
5. Развитие наружного генитального эндометриоза статистически ассоциировано с комбинациями полиморфных вариантов генов IL2TT/IL4TT/IL10CC /TNFAGG, IL2TT/IL4TT/IL10CC/TNFAGA, IL2TT/IL4TT/IL10CA/TNFAGG, IL2TG/IL4TT/IL10CC/TNFAGG, IL2TG/IL4TT/IL10AC/TNFAGG, оказывающих более выраженный предрасполагающий эффект. Характерной особенностью «рисковых» сочетаний является наличие генотипа TT промоторного региона C-590T гена IL4.

6. Рискovou значимостью для рецидивирующего течения наружного генитального эндометриоза имеет носительство комбинации генотипов *TT(T-330G)IL2/ TT(C-590T)IL4/CC(C-592A)IL10/GG(G-308A)TNFA*.



### **Практические рекомендации**

1. На основании комплексного иммуногенетического исследования можно диагностировать, прогнозировать развитие и течение наружного генитального эндометриоза.
2. Женщинам с отягощенным семейным анамнезом по генитальному эндометриозу и хроническими тазовыми болями целесообразно рекомендовать определять рискованные комбинации полиморфных вариантов генов цитокинов для прогнозирования развития наружного генитального эндометриоза.
3. Наличие в генотипе женщины, страдающей генитальным эндометриозом, сочетания генотипов ТТ(Т-330G) гена IL2 / СС(С-590Т) гена IL4 / СС(С-592А) гена IL10 / GG(G-308А) гена TNFA может служить основанием для назначения противорецидивного лечения.

**Список литературы:**

1. Адамян, Л.В. Генитальный эндометриоз: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение: методическое пособие для врачей / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева. – М., 2001. – 35 с.
2. Адамян, Л.В. Эндометриозы / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. – М.: Медицина, 2006. – 416 с.
3. Аллельный полиморфизм генов IFNG и TGFB как фактор модуляции секреции цитокинов и подверженности туберкулёзу лёгких / Е.Л. Никулина, И.О. Наследникова, О.И. Уразова и др. // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2010. – № 6. – С. 15-19.
4. Баскаков, В.П. Эндометриозы / В.П. Баскаков. – Л.: Медицина, 1966. – 225 с.
5. Баскаков, В.П. Эндометриоидная болезнь / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелёв, Е.Ф. Кира. – СПб.: Н-Л, 2002. – 452 с.
6. Вейр, Б. Анализ генетических данных: дискретные генетические признаки / Б. Вейр; пер. с англ. Д.В. Зайкина, А.И. Пудовкина, А.Н. Татаренкова. – М.: Мир, 1995. – 400 с.
7. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов с астмой / В.П. Пузырёв, М.Б. Фрейдин, Л.М. Огородова, О.С. Кобякова // Медицинская генетика. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 86-92.
8. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов / Ф.Ф. Ризванова, О.И. Пикуза, Р.А. Файзуллина и др. // Практическая медицина. – 2010. – № 6. – С. 41-43.
9. Генетические аспекты профилактики и лечения эндометриоза: пособие для врачей / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, Н.Ю. Швед и др. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2004. – 24 с.
10. Генетические факторы предрасположенности к аденомиозу / О.В. Голубева, Т.Э. Иващенко, Д.А. Ниаури и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. 56, № 2. – С. 24-30.

11. Генетический паспорт основа индивидуальной и предиктивной медицины / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, Е.В. Баранова; под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 527 с.
12. Генетический полиморфизм цитокинов / В.Н. Цыган, А.М. Иванов, Т.А. Камилова и др. // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2010. – № 2. – С. 211-219.
13. Гинекология от пубертата до постменопаузы / под ред. Э.К. Айламазяна. – М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 512 с.
14. Гинекология: Национальное руководство / под ред. В.И. Кулакова, И.Б. Манухина, Г.М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1072 с.
15. Гиперпластические процессы органов женской репродуктивной системы: теория и практика / В.И. Киселев, И.С. Сидорова, А.Л. Унанян, Е.Л. Муйжнек. – М.: МЕДПРАКТИКА-М, 2010. – 469 с.
16. Гланц, С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
17. Гмурман, В.Е. Теория вероятности и математическая статистика / В.Е. Гмурман. – М.: Высшая школа, 2006. – 284 с.
18. Дамиров, М.М. Генитальный эндометриоз – болезнь активных и деловых женщин / М.М. Дамиров. – М.: БИНОМ-Пресс, 2010. – 192 с.
19. Зубова, С.Г. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухолей  $\alpha$  и трансформирующего фактора роста  $\beta$  в процессе ответа макрофага на активацию / С.Г. Зубова, В.Б. Окулов // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 18-22.
20. Иммунология: пер. с англ. / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д. Б. Рот, А. Ройтт. – М.: Логосфера, 2007. – 568 с.
21. Интерлейкин-2: обобщённый опыт клинического применения / В.Н. Егорова, А.М. Попович, И.В. Бабаченко. – СПб.: Ультра Принт, 2012. – 98 с.
22. 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. 89–92.

23. Ищенко, А.И. Эндометриоз: диагностика и лечение / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 104 с.
24. Ищенко, А.И. Эндометриоз: современные аспекты / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина. – М.: МИА, 2008. – 176 с.
25. Кадагидзе, З.Г. Цитокины / З.Г. Кадагидзе // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 131-139.
26. Кетлинский, С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета / С.А. Кетлинский // Иммунология. – 2002. – Т. 23, № 2. – С. 77-79.
27. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
28. Кира, Е.Ф. Эндометриозная болезнь / Е.Ф. Кира, Ю.В. Цвелёв // Гинекология: руководство для врачей / под ред. В.Н. Серова, Е.Ф. Кира. – М.: Литера, 2008. – 840 с.
29. Киселев, В.И. Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов / В.И. Киселев, А.А. Лященко. – М., 2005. – 348 с.
30. Киселев, О.И. Гамма-интерферон: новый цитокин в клинической практике / О.И. Киселев, Ф.И. Ершов, Э.Г. Деева. – М.: Димитрэйд График Групп, 2007. – 364 с.
31. Козловская, М.А. Поиск ассоциации полиморфизма генов IL4 и IL4R с эндометриозом/ М.А. Козловская, Г.С. Демин, М.И. Ярмолинская, Т.Э. Иващенко, В.С. Баранов // Медицинская генетика. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 48-51.
32. Колгушкина, Т.Н. Практическая гинекология / Т.Н. Колгушкина. – Минск, 2004. – 173 с.
33. Коненков, В.И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В.И. Коненков, М.В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 11-28.

34. Кофиади, И.А. Методы детекции однонуклеотидных полиморфизмов: аллель-специфическая ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидной пробой / И.А. Кофиади, Д.В. Ребриков // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 1. – С. 22-32.
35. Леваков, С.А. Эндометриоз: мировой прорыв в медикаментозном лечении / С.А. Леваков, М.Б. Хамошина. – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2012. – 16 с.
36. Линде, В.А. Эндометриозы: Патогенез, клиническая картина, диагностика и лечение / В.А. Линде, Н.А. Татарова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 192 с.
37. Локальная продукция цитокинов у пациенток с наружным генитальным эндометриозом / О.В. Павлов, Н.Л. Крамарева, С.Д. Сельков, М.И. Ярмолинская // Журнал акушерства и женских болезней. – 2002. – № 3. – С. 57-62.
38. Марченко, Л.А. Современный взгляд на отдельные аспекты патогенеза эндометриоза (обзор литературы) / Л.А. Марченко, Л.М. Ильина // Проблемы репродукции. – 2011. – № 1. – С. 61-66.
39. Наследникова, И.О. Молекулярные основы противовирусной стратегии организма / И.О. Наследникова, Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2005. – 128 с.
40. Новый взгляд на природу эндометриоза (аденомиоза) / И.С. Сидорова, Е.А. Коган, О.В. Зайратьянц и др. // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 3. – С. 32-38.
41. Параметры функционального состояния лимфоцитов перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, Л.В. Посисеева и др. // Иммунология. – 2000. – № 3. – С. 53-56.
42. Подзолкова, Н.М. Симптом. Синдром. Диагноз. Дифференциальная диагностика в гинекологии / Н.М. Подзолкова, О.Л. Глазкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 519 с.

43. Полиморфизм одиночных нуклеотидов в генах цитокинов и их рецепторов: биологический эффект и методы идентификации / Д. Д. Абрамов, И.А. Кофиади, К.В. Уткин и др. // Иммунология. – 2011. – Т. 32. – № 5. – С. 275-280.
44. Радзинский, В.Е. Эндометриоз: лечить или не лечить, а если да, то чем? / В.Е. Радзинский, М.Б. Хамошина // Фарматека. – 2009. – № 9. – С. 64-67 .
45. Ройт, А. Иммунология: пер. с англ. / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2006. – 544 с.
46. Роль цитокинов перитонеальной жидкости в развитии наружного генитального эндометриоза и бесплодия, ассоциированного с эндометриозом / Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, Л.В. Посисеева, А.Л. Шор // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 5. – С. 41-44.
47. Руководство по эндокринной гинекологии / под ред. Е. М. Вихляевой. – 3-е изд., доп. – М.: МИА, 2006. – 784 с.
48. Рыдловская, А.В. Функциональный полиморфизм гена TNFA и патология / А.В. Рыдловская, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 4-10.
49. Савицкий, Г.А. Перитонеальный эндометриоз и бесплодие (клинико-морфологические исследования) / Г.А. Савицкий, С.М. Горбушин. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2002. – 170 с.
50. Симбирцев, А.С. Интерлейкин-2 и рецепторный комплекс ИЛ-2 в регуляции иммунитета / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 1998. – № 6. – С. 3-7.
51. Симбирцев, А.С. Роль полиморфизма генов цитокинов в регуляции воспаления и иммунитета / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова, А.В. Рыдловская // Медицинский академический журнал. – 2006. – Т. 6, № 1. – С. 144-149.
52. Симбирцев, А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных цитокинов / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3-10.

53. Симбирцев, А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9-17.
54. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16-21.
55. Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / под ред. В.А. Козлова, С.В. Сенникова. – Новосибирск: Наука, 2004. – 323 с.
56. Сметник, В.П. Неоперативная гинекология: руководство для врачей / В.П. Сметник, Л.Г. Тумилович. – М.: МИА, 2003. – 560 с.
57. Современные проблемы наружного генитального эндометриоза / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина, И.В. Станоевич и др. // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 67-73.
58. Современный взгляд на этиологию и патогенез генитального эндометриоза / В.И. Грищенко, Н.А. Щербина, Л.В. Потапова, О.П. Липко // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2003. – № 2. – С. 138-142.
59. Солодовникова, Н.Г. Роль цитокинов в развитии наружного генитального эндометриоза / Н.Г. Солодовникова, Д.А. Ниаури // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер.11. – 2006. – Вып. 2. – С.115-122.
60. Сонова, М.М. Клинико-морфологические, молекулярно-биологические и лечебные факторы генитального эндометриоза: автореф. дис. д-ра мед. наук / М.М. Сонова. – М., 2009. – 52 с.
61. Степанова, Н.Р. Особенности гиперпластических заболеваний матки у коренного населения Якутии: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.Р. Степанова. – М., 2007. – 17 с.
62. Стрижаков, А.Н. Доброкачественные заболевания матки / А.Н. Стрижаков, А.И. Давыдов, В.М. Пашков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 288 с.
63. Стрижаков, А.Н. Эндометриоз: клинические и теоретические аспекты / А.Н. Стрижаков, А.И. Давыдов. – М.: Медицина, 1996. – 330 с.

64. Супрун, Л.Я. Эндометриоз: патогенез, лечение / Л.Я. Супрун. – Минск: Беларусь, 1987. – 127 с.
65. Тазовая и внетазовая брюшина: ангиогенная активность и апоптоз у больных с перитонеальной формой генитального эндометриоза / В.А. Бурлев, П.А. Ильясова, А.В. Бурлев и др. // Проблемы репродукции. – 2010. – № 4. – С. 7-15.
66. Томова, А.С. Роль фактора некроза опухолей  $\alpha$  во взаимодействии макро- и микроорганизма / А.С. Томова, Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Вестник РАМН. – 2005. – № 1. – С. 24-29.
67. Флейс, Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций / Дж. Флейс. – М.: Финансы и статистика, 1989. – 319 с.
68. Фрейдлин, И.С. Иммунная система и ее дефекты / Р.М. Фрейдлин. – СПб., 1998. – 113 с.
69. Фрейдлин, И.С. Клетки иммунной системы / И.С. Фрейдлин, А.А. Тотолян. – СПб.: Наука, 2001. – 390 с.
70. Хаитов, Р.М. Физиология иммунной системы / Р.М. Хаитов. – М: ВИНТИ РАН, 2001 – 223 с.
71. Хурасев, Б.Ф. Генитальный эндометриоз / Б.Ф. Хурасев, Н.Ф. Косякова. Курск: КГМУ, 2004. – 32 с.
72. Цвелёв, Ю.В. Современная диагностика и терапия эндометриозной болезни: учебно-методическое пособие / Ю.В. Цвелёв, В.Г. Абашин. – СПб., 2007. – 64 с.
73. Цвелёв, Ю.В. Эндометриоз: современные взгляды на этиологию, терминологию и классификацию / Ю.В. Цвелёв, В.Г. Абашин, А.А. Шмидт // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2007. – № 4. – С. 42-47.
74. Черешнёв, В.А. Иммунология воспаления: роль цитокинов / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 361-368.



75. Шевченко, А.В. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL1, IL4, IL5, IL6, IL10 и TNFA у европеоидного населения Западной Сибири / А.В. Шевченко, О.В. Голованова, В.И. Коненков // Иммунология. – 2010. – № 4. – С. 176-181.
76. Эндометриоз / В.Е. Радзинский, А.И. Гус, С.М. Семятов, Л.Б. Бутарева. – М.: РУДН, 2002. – 49 с.
77. Эндометриоз: от трудности диагностики к новым возможностям терапии / В.Н. Прилепская, Е.В. Иванова, А.В. Тагиева, А.Б. Летуновская // Гинекология. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 4-9.
78. Эндометриоз: этиология и патогенез, проблема бесплодия и современные пути ее решения в программе экстракорпорального оплодотворения / Л.Н. Кузмичев, Б.В. Леонов, В.Ю. Смольникова и др. // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 2. – С. 8-11.
79. Ярмолинская, М.И. Иммунокорригирующая терапия наружного генитального эндометриоза: методическое пособие для врачей / М.И. Ярмолинская, С.А. Сельков. – СПб., 2007. – 36 с.
80. A Single Nucleotide Polymorphism of IL-21 Gene is Associated with Systemic Lupus Erythematosus in a Chinese Population / L. Ding, S. Wang, G.M. Chen et al. // Inflammation. – 2012. – Vol. 35. – P. 1781-175.
81. Analysis of an interleukin-6 gene promoter polymorphism in women with endometriosis by pyrosequencing / F. Wieser, G. Fabjani, C. Tempfer et al. // J. Soc. Gynecol. Investig. – 2003. – Vol. 10. – P. 32-36.
82. Analysis of cytokines in the peritoneal fluid of endometriosis patients as a function of the menstrual cycle stage using the Bio-Plex® platform / N.A. Bersinger, H. Dechaud, B. McKinnon, M.D. Mueller // Arch. Physiol. Biochem. – 2012. – Vol. – 118. – P. – 210-218.
83. Analysis of the transforming growth factor beta1 gene -509 C/T polymorphism in patients with advanced-stage endometriosis / J.J. Kim, Y.M. Choi, S.H. Choung, S.H. Yoon et al. // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. – 93. – P. 2121-2124.

84. Anti-endometrial and anti-endothelial auto-antibodies in women with endometriosis / S. Fernàndez-Shaw, B.R. Hicks, P.L. Yudkin et al. // *Hum. Reprod.* – 1993. – Vol. 8. – P. 31-315.
85. Apoptosis in human endometrium and endometriosis / T. Harada, A. Kaponis, T. Iwabe et al. // *Human Reprod. Update.* – 2004. – Vol. 10. – P. 29-38.
86. Association analysis of IL-17A and IL-17F polymorphisms in Chinese Han women with breast cancer [Electronic resource] / L. Wang, Y. Jiang, Y. Zhang et al. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7. – Epub 2012 Mar 26. – URL: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0034400>
87. Association between IL17 Polymorphisms and Risk of Cervical Cancer in Chinese Women [Electronic resource] / Y. Quan, B. Zhou, Y. Wang et al. // *Clin. Dev. Immunol.* 2012. – Doi: 10.1155/2012/258293. – Epub 2012 Sep 25. – URL: <http://www.hindawi.com/journals/cdi/2012/258293>.
88. Association between polymorphisms of interleukin-6 gene promoter and breast cancer / K.L. He, Y.P. Li, Y.G. Lv et al. // *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* – 2011. – Vol. 27. – P. 1220-1222.
89. Association of interleukin-10 promoter polymorphism and endometriosis / M. Riiskjaer, K. Nielsen, R. Steffensen et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 65. – P. 13-19.
90. Association of natural killer T cells with staging of endometriosis / S. Guo, Y. Zhang, L. Wang, W. Qiu // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* – 2012. – Vol. – 32. – P. – 1322-1324.
91. Association of the tumor necrosis factor-alpha -1031T/C and its combination with interleukin-6 -634C/G gene polymorphisms with susceptibility to endometriosis / T. Mao, L.L. Zong, Y.F. Wang et al. // *Zhonghua Fu Chan KeZaZhi.* – 2012. – Vol. 47. – P. 328-332.
92. Augoulea, A. Thoracic endometriosis syndrome / A. Augoulea, I. Lambrinouadaki, G. Christodoulakos // *Respiration.* – 2008. – Vol. 75, N 1. – P. 113-119.

93. Ballweg, M.L. Big picture of endometriosis helps provide guidance on approach to teens: comparative historical data show endostarting younger, is more severe / M.L. Ballweg // *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* – 2003. – Vol. 16. – Suppl. – P. S21-S26.
94. Barbieri, R.L. Etiology and epidemiology of endometriosis / R.L. Barbieri // *Am. J. Obst. Gynecol.* – 2000. – Vol. 162. – P. 565-567.
95. Bicornuate rudimentary uterine horns with functioning endometrium and complete cervical-vaginal agenesis coexisting with ovarian endometriosis: a case report / M. Goluda, M. St Gabryś, M. Ujec et al. // *Fertil. Steril.* – 2006. – Vol. 86. – P. 462-469.
96. Bloski, T. Endometriosis and Chronic Pelvic Pain: Unraveling the Mystery Behind this Complex Condition / T. Bloski, R. Pierson // *Nurs. Womens Health.* – 2008. – Vol. 12. – P. 382-395.
97. Braundmeier, A.G. Cytokines regulate matrix metalloproteinases in human uterine endometrial fibroblast cells through a mechanism that does not involve increases in extracellular matrix metalloproteinase inducer / A.G. Braundmeier, R.A. Nowak // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2006. – Vol. 56. – P. 201-214.
98. Bricou, A. Peritoneal fluid flow influences anatomical distribution of endometriotic lesions: Why Sampson seems to be right / A. Bricou, R.E. Batt, C. Chapron // *Eur. J Obst. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2008. – Vol. 138. – P.127-134.
99. Brosens, I.A. Diagnosis of endometriosis / I.A. Brosens // *Semin. Reprod. Endocrinol.* – 1997. – Vol. 15. – P. 229-233.
100. Burney, R.O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis / R.O. Burney, L.C. Giudice // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 511-519.
101. Can specific pain symptoms help in the diagnosis of endometriosis? A cohort study of women with chronic pelvic pain / K. Ballard, H. Lane, G. Hudelist et al. // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 20-27.
102. Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis / Y.S. Antsiferova, N.Y.

- Sotnikova, L.V. Posiseeva, A.L. Shor // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 84. – P. 1705-1711.
103. Chegini, N. TGF-beta system: the principal profibrotic mediator of peritoneal adhesion formation / N. Chegini // *Semin. Reprod. Med.* – 2008. – Vol. 26. – P. 298-12.
104. Chronic Pelvic Pain Committee. Consensus guidelines for the management of chronic pelvic pain / J.F. Jarrell, G.A. Vilos, C. Allaire et al. // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* – 2005. – Vol. 27. – P. 781-826.
105. Clinical importance of transforming growth factor-beta but not of tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in patients with the myelodysplastic syndrome belonging to the refractory anemia subtype / A. Balog, Z. Borbényi, Z. Gyulai et al. // *Pathobiology.* – 2005. – Vol. 72. – P. 165-170.
106. Coding regions of INHBA, SFRP4 and HOXA10 are not implicated in familial endometriosis linked to chromosome 7p13-15 / J. Lin, L. Zong, S.H. Kennedy et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 17. – P. 605-611.
107. Collins, F.S. Implications of the Human Genom Project for medical science / F.S.Collins, V.A. McKusick // *JAMA.* – 2001. – Vol. 285. – P. 540-544.
108. Cox, K.E. Differential regulation of matrix metalloproteinase3 gene expression in endometriotic lesions compared with endometrium / K.E. Cox, M. Piva, K.L. Sharpe-Timms // *Biol. Reprod.* – 2001. – Vol. 56. – P. 1297-1303.
109. Deep endometriosis:definition, diagnosis, and treatment / P.R. Koninckx, A. Ussia, L. Adamyan et al. // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 564-571.
110. Deep infiltrating endometriosis: anatomical distribution and surgical treatment / W. Kondo, R. Ribeiro, C. Trippia, M.T. Zomer // *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* – 2012. – Vol. – 34. – P. – 278-284.
111. Diagnosis of endometriosis / M. GarcíaManero, B. Olartecoechea, P. RoyoManero, M. Aubá, J.L. Alcázar // *Rev. Med. Univ. Navarra.* – 2009. – Vol. 53. – P. 6-9.

112. Differences in characteristics among 1000 women with endometriosis based on extent of disease / N. Sinaii, K. Plumb, L. Cotton et al. // *Fertil. Steril.* – 2008. – Vol. 50. – P. 538-545.
113. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis / Meng-Hsing Wu, H. Sunny Sun, Chen-Chung Lin et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 8. – P. 1103-1110.
114. Dmowski, W.P. Immunological aspects of endometriosis / W.P. Dmowski // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 1995. – Vol. 50. – Suppl. 1. – P. 3-10.
115. Dmowski, W.P. Immunology of endometriosis / W.P. Dmowski, D.P. Braun // *Research Clin. Obstet. And Gynecol.* – 2004. – Vol. 7. – P.163-167.
116. Dun, E.C. Advances in the genetics of endometriosis / E.C. Dun, R.N. Taylor, F. Wieser // *Genome Med.* – 2010. – Vol. 2. – P. 75.
117. Embryotoxicity of peritoneal fluid in women with endometriosis. Its relation with cytokines and lymphocyte populations / M.J. Gomez-Torres, P. Acien, A. Campos, I. Velasco // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 777-781.
118. Endometriosis: an essential differential diagnosis of chronic pelvic pain / J.M. Wenger, M. Zormpa, P. Dällenbach, L. Weber // *Rev. Med. Suisse.* – 2012. – Vol. 8. – P. 2000-2002.
119. Endometriosis and infertility / C. Bulletti, M.E. Coccia, S. Battistoni, A. Borini // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2010. – Vol. 27. – P. 441-447.
120. Endometriosis markers: immunologic alterations as diagnostic indicators for endometriosis / H.C. Bohler, C. Gercel-Taylor, B.A. Lessey, D.D. Taylor // *Reproductive sciences.* – 2007. – Vol. 14. – P. 595-604.
121. Endometriosis may be generated by mimicking the ontogenetic development of the female genital tract / R. Gaetje, U. Holtrich, K. Engels et al. // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 87. – P. 651-656.
122. Endometriosis: an inflammatory disease with a Th2 immune response component / S. Podgaec, M.S. Abrao, J.A. Dias et al. // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 1373-1379.

123. Endometriosis of abdominal and pelvic wall scars: multimodality imaging findings, pathologic correlation, and radiologic mimics / R. Gidwaney, R.L. Badler, B.L. Yam, J.J. Hines et al. // *Radiographics*. – 2012. – Vol. – 32. – P. 2031-2043.
124. Endometriosis: review of the literature and clinical management / J.M. Wenger, P. Loubeyre, R. Marci et al. // *Rev. Med. Suisse*. – 2009. – Vol. 5. – P. 2085-2086, 2088-2090.
125. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis / S. Kennedy, A. Bergqvist, C. Chapron et al. // *Hum. Reprod*. – 2005. – Vol. 20. – P. 2698-2704.
126. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 mRNA and protein is enhanced in endometriosis versus endometrial stromal cells in culture / P. Viganò, B. Gaffuri, E. Somigliana et al. // *Mol. Hum, Reprod*. – 1998. – Vol. 4. – P. 1150-1156.
127. Expression of metalloproteinases and their inhibitors in blood vessels in human endometrium / S. Freitas, G. Meduri, E. le Nestour et al. // *Biol. Reprod*. – 1999. – Vol. 61. – P. 1070-1082.
128. Fanta, M. Endometriosis / M. Fanta, P. Koliba, H. Hrušková // *Ceska Gynekol*. – 2012. – Vol. 77 – P. – 314-319.
129. Fauconnier, A. Endometriosis and pelvic pain: epidemiological evidence of the relationship and implications / A. Fauconnier, C. Chapron // *Endometriosis Hum. Reprod. Update*. – 2005. – Vol. 11. – P. 595-606.
130. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: part II-endometriosis / C.B. Tempfer, M. Simoni, B. Destenaves, B.C. Fauser // *Hum. Reprod. Update*. – 2009. – Vol. 15. – P. 97-118.
131. Garry, R. Diagnosis of endometriosis and pelvic pain / R. Garry // *Fertil. Steril*. – 2006. – Vol. 86. – P. 1307-1309.
132. Garry, R. Is insulin resistance an essential component of PCOS?: The endometriosis syndromes: a clinical classification in the presence of

- aetiological confusion and therapeutic anarchy / R. Garry // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 19. – P. 760-768.
133. Gazvani, R. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis / R. Gazvani, A. Templeton // *Reproduction.* – 2002. – Vol. 123. – P. 217-226.
134. Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis / H. Stefansson, R.T. Geirsson, V. Steinthorsdottir et al. // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 555-559.
135. Genetic variation in tumour necrosis factor and lymphotoxin is not associated with endometriosis in an Australian sample Text. / Z. Z. Zhao, D. R. Nyholt, L. Le et al. // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 2389-2397.
136. Giudice, L.C. Endometriosis / L.C. Giudice, L.C. Kao // *Lancet.* – 2004. – Vol. 364. – P. 1789-1799.
137. Halis, G. The diagnosis and treatment of deepinfiltrating endometriosis / G. Halis, S. Mechsner, A.D. Ebert // *DtschArztebl Int.* – 2010. – Vol. 107. – P. 446-455.
138. Hansen, T. Massive adenomyosis in a patient with uterus septus completes / T. Hansen, S. Wulgaris, W. Siggelkow et al. // *Zentral blattfrü Gynikologie.* – 2006. – Vol. 128. – P. 153-156.
139. Herbein, H. Tumor necrosis factor and TNF receptors and viral pathogenesis / H. Herbein, W. A. O'Brien // *P.S.E.B.M.* – 2000. – Vol. 223. – P. 241-257.
140. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis / N. Sinaii, S.D. Cleary, M.L. Ballweg, L.K. Nieman et al. // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 10. – P. 2715-2724.
141. Hollegaard, M.V. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3 / M.V. Hollegaard, J.L. Bidwell // *Genes Immun.* – 2006. – Vol. 7. – P. 269-276.
142. Hummelshoj, L. Update on endometriosis / L. Hummelshoj, A. Prentice, P. Groothuis // *Women's Health.* – 2006. – Vol. 2. – P. 53-56.

143. "I Can't Get No Satisfaction": deep dyspareunia and sexual functioning in women with rectovaginal endometriosis / P. Vercellini, E. Somigliana, L. Buggio, G. Barbara, M.P. Frattaruolo, L. Fedele // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. – 98. – P. – 1503-1511.
144. IL-2 Regulates Perforin and Granzyme Gene Expression in CD8+ T Cells Independently of Its Effects on Survival and Proliferation / M.L. Janas, P. Groves, N. Kienzle, A. Kelso // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175. – P. 8003-8010.
145. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 beta / D.I. Lebovis, F. Bentzien, V.A. Chao et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 6. – P. 269-275.
146. Innate immune cells: gatekeepers of endometriotic lesions growth and vascularization / A. Capobianco, L. Cottone, A. Monno et al. // *J. Endometriosis.* – 2010. – Vol. 2. – P. 55-62.
147. Interleukin gene polymorphisms and breast cancer: a case control study and systematic literature review / S.P. Balasubramanian, I.A.F. Azmy, S.E. Higham et al. // *BMC Cancer.* – 2006. – Vol. 188. – P. 349–357.
148. Interleukin-2 receptor beta gene C627T polymorphism in Korean women with endometriosis: a case-control study / G.H. Lee, Y.M. Choi, S.H. Kim et al. // *Hum. Reprod.* – 2009 . – Vol. 24. – P. 2596-2599.
149. Interleukin-4 and interleukin-13 signaling connections maps / A. E. Kelly-Welch, E. M. Hanson, M. R. Boothby, A. D. Keegan // *Science.* – 2003. – Vol. 5625. – P. 1527-1528.
150. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms and their protein production in peritoneal fluid in patients with endometriosis / X. Zhang, P. Hei, L. Deng et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2007 . – Vol. 13. – P. 135-140.
151. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphisms in endometriosis / P. Viganò, M. Infantino, D. Lattuada et al. // *Mol. Hum. Reprod.* – 2003. – Vol. 9. – P. 47-52.



152. Is there an association between septate uterus and endometriosis / F. Nawroth, G. Rahimi, C. Nawroth et al. // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 21. – P. 542-544.
153. JSNP: A database of common gene variations in the Japanese populations / M. Hirakawa, T. Tanaka, I Hasimoto et al. // *Nucl. Acids Res.* – 2002. – Vol. 30. – P. 158-162.
154. Kennedy, S.H. The genetics of endometriosis / S.H. Kennedy // *J. Reprod. Med.* – 1998. – Vol. 43. – P. 263-268.
155. Kennedy, S.H. The genetics of endometriosis / S.H. Kennedy // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1999. – Vol. 82. – P. 129-133.
156. Kennedy, S.H. Affected sib-pair analysis in endometriosis / S.H. Kennedy, S. Bennett, D.E. Weeks // *Hum. Reprod. Update.* – 2001. – Vol. 7. – P. 411-418.
157. Kim, A. The Global Library of Women's Medicine [Electronic resource] / A. Kim, G. Adamson. – 2008. – DOI: 10.3843/GLOWM.10011. – URL: [http://www.glowm.com/index.html?p=glowm.cml/section\\_view&articleid=11#int](http://www.glowm.com/index.html?p=glowm.cml/section_view&articleid=11#int).
158. Koninckx, P.R. Pathogenesis of endometriosis: the role of peritoneal fluid / P.R. Koninckx, S.H. Kennedy, D.H. Barlow // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 1999. – Vol. 47. – Suppl. 1. – P. 23–33.
159. Lee, Y.R. CT Imaging Findings of Ruptured Ovarian Endometriotic Cysts: Emphasis on the Differential Diagnosis with Ruptured Ovarian Functional Cysts / Y.R. Lee // *Korean J. Radiol.* – 2011. – Vol. 12. – P. 59-65.
160. Liang, S. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and endometriosis risk: a meta-analysis / S. Liang, Y. Huang, Y. Fan // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2012. – Vol. – 286. – P. – 139-46.
161. Macer, M.L. Endometriosis and Infertility: A Review of the Pathogenesis and Treatment of Endometriosis-associated Infertility / M.L. Macer, H.S. Taylor // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. – 39. – P. – 535-49.

162. Macrophage migration inhibitory factor is involved in a positive feedback loop increasing aromatase expression in endometriosis / V. Veillat, V. Sengers, C.N. Metz, T. Roger et al. // *Am J. Pathol.* – 2012. – Vol. – 181. – P. – 917-927.
163. Mason, J. The clinical importance of leucocyte and endothelial cell adhesion molecules in inflammation / J. Mason, D. Haskard // *Vascular Med. Rev.* – 1994 – Vol. 5. – P. 249-275.
164. McLeod, B.S. Epidemiology of endometriosis: an assessment of risk factors / B.S. McLeod, M.G. Retzliff // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 53. – P. 389-396.
165. Moen, M.H. Endometriosis in monozygotic twins / M.N. Moen // *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* – 1994. – Vol. 73. – P. 59-62.
166. Mounsey, A.L. Diagnosis and management of endometriosis / A.L. Mounsey, A. Wilgus, D.C. Slawson // *Am. Fam. Phys.* – 2006. – Vol. 74. – P. 594-600.
167. Murphy, A.A. Clinical aspects of endometriosis / A.A. Murphy // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 955. – P. 1-10.
168. Neukomm, C. New insights into the pathophysiology of endometriosis / C. Neukomm, M.D. Mueller // *Gynekol. Geburtshilfliche Rundsch.* – 2007. – Vol. 47. – P. 113-117.
169. Nishida, M. Role of chemokines in the pathogenesis of endometriosis / M. Nishida, K. Nasu, H. Narahara // *Front Biosci (Schol Ed).* – 2011. – Vol. 3. – P. 1196-1204.
170. Nisolle, M. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities / M. Nisolle, J. Donnez // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 68. – P. 585-596.
171. Okamura, H. Transcriptional regulation in lymphocytes/ H. Okamura, A. Rao // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2000. – Vol. 13. – P. 239-243.
172. Ollier, W.E. Cytokine genes and disease susceptibility / W.E. Ollier // *Cytokine.* – 2004. – Vol. 4-5. – P. 174-178.

173. Ozkan, S. Advances in treatment options of endometriosis / S. Ozkan, A. Arici // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2009. – Vol. 67. – P. 81-91.
174. Pallavi, P.N. Linkage Disequilibrium Pattern in Asthma Candidate Genes from 5q31-q33 in the Singapore Chinese Population / P.N. Pallavi, De Yun Wang, Fook Tim Chew // *Ann. Hum. Gen.* – 2010. – Vol. 74. – P. 137-145.
175. Pathogenesis of endometriosis / A.W. Nap, P.G. Groothuis, A.Y. Demir et al. // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2004. – Vol. 18. – P. 233-244.
176. Pathogenesis of endometriosis / M. Nisolle, M.L. Alvarez, M. Colombo, J.M. Foidart // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2007. – Vol. 35. – P. 898-903.
177. Pearce, N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? / N. Pearce // *Int. J. Epidemiol.* – 1993. – Vol. 26. – P. 1189-1192.
178. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: an inverse association with vascular endothelial growth factor concentration / E. Barcz, L. Milewski, P. Dziunycz et al. // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 97. – P. 1380-1386.
179. Peters, V.A. IL-1 receptor 2 (IL-1R2) and its role in immune regulation / V.A. Peters, J.J. Joesting, G.G. Freund // *Brain Behav. Immun.* – 2012. – Vol. – 27.
180. Polymorphisms for interleukin-4 (IL-4) -590 promoter, IL-4 intron3, and tumor necrosis factor alpha -308 promoter: non-association with endometriosis / Y.Y. Hsieh, C.C. Chang, F.J. Tsai et al. // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2002. – Vol. 16. – P. 121-126.
181. Polymorphism for transforming growth factor beta 1-509 (TGF-B1-509): association with endometriosis / Y.Y. Hsieh, C.C. Chang, F.J. Tsai et al. // *Biochem. Genet.* – 2005. – Vol. 43. – P. 203-210.
182. Rabinovitch, A. Immunoregulation by cytokines in autoimmune diabetes / A. Rabinovitch // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2003. – Vol. 520. – P.159-193.
183. Raiter-Tenenbaum, A. Functional and phenotypic alterations in peritoneal macrophages from patients with early and advanced endometriosis / A. Raiter-Tenenbaum, R.L. Barañao, J.J. Etchepareborda et al. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 1998. – Vol. 261. – P. 147-157.

184. Rawson, J.M. Prevalence of endometriosis in asymptomatic women / J.M. Rawson // *J. Reprod. Med.* – 1991. – Vol. 36. – P. 513-515.
185. Relationship between IL-10 promoter gene polymorphisms and the susceptibility to endometriosis / P. He, X.M. Zhang, L. Deng et al. // *Yi. Chuan.* – 2009. – Vol. 31. – P. 479-484.
186. Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells / F. Gerosa, B. Baldani-Guerra, C. Nisii et al. // *J. Exp. Med.* – 2002. – Vol. 195. – P. 327-333.
187. Role of TGF-betas in normal human endometrium and endometriosis / C.O. Omwandho, L. Konrad, G. Halis et al. // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25. – P. 101-109.
188. Rozewicki, S. Relation between anatomical courses of the intramural portions of the uterine tubes and pelvic endometriosis / S. Rozewicki, A. Radomska, R. Kurzawa // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 84. – P. 60-66.
189. Sampson, J.A. Heterotopic or misplaced endometrial tissue / J.A. Sampson // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* – 1925. – Vol. 10. – P. 649-664.
190. Sampson, J.A. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity / J.A. Sampson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1927. – Vol. 14. – P. 422-425.
191. Serum and peritoneal abnormalities in endometriosis: potential use as diagnostic markers / S. Gupta, A. Agarwal, L. Sekhon et al. // *Minerva Ginecol.* – 2006. – Vol. 58. – P. 527-551.
192. Shaw, R.W. Endometriosis. Current Understanding and Management / R.W. Shaw. – *Qr. Brit.*, 1995. – 302 p.
193. Sikora, J. Imbalance in cytokines from interleukin-1 family - role in pathogenesis of endometriosis / J. Sikora, A. Mielczarek-Palacz, Z. Kondera-Anasz // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2012. – Vol. 68. – P. 138-145.
194. Single nucleotide polymorphisms of VEGF gene in endometriosis / B. Góralczyk, B. Smolarz, H. Romanowicz, K. Szyłło // *Pol. Merkur. Lekarski.* – 2012. – Vol. – 32. – P. – 151-153.

195. Smith, A.J. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality / A.J. Smith, S.E. Humphries // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2009. – Vol. 20. – P. 43-59.
196. Soluble serum interleukin-2 receptor, interleukin-6 and interleukin-1a in patients with endometriosis and in controls / E. Koumantakis, I. Matalliotakis, M. Neonakiet et al. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 1994. – Vol. 255. – P. 107-112.
197. Stratton, P. Chronic pelvic pain and endometriosis: translational evidence of the relationship and implications / P. Stratton, K.J. Berkley // *Hum. Reprod. Update.* 2011. – Vol. 17. – P. 327-346.
198. Taylor, E. Surgical treatment of endometriosis: location and patterns of disease at reoperation / E. Taylor, C. Williams // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 93. – P. 57-61.
199. Th1/Th2 cytokine gene polymorphisms in patients with uterine fibroid / O. Sosna, L. Kolesár, A. Slavčev et al. // *Folia Biol. (Praha).* – 2010. – Vol. 56. – P. 206-210.
200. The effect of growth factors on the proliferation of human endometrial stromal cells in culture / M.G. Hammond, Oh. Sung-Tack, J. Anners et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1993. – Vol. 168. – P. 1131-1138.
201. The estimation of IL-2 and IL-2 receptors in peritoneal fluid of infertile patients with endometriosis / M. Gogacz, D. Darmochwal-Kolarz, L. Putowski et al. // *Eur J Immunol.* – 2007. – Vol. 32. – P. 160-163.
202. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions / K. Nelms, A.D. Keegan, J. Zamorano et al. // *Ann. Rev. Immunol.* – 1999. – Vol. 17. – P. 701-738.
203. The interaction between NK cells and dendritic cells in bacterial infections results in rapid induction of NK cell activation and in the lysis of uninfected dendritic cells / G. Ferlazzo, B. Morandi, A. D'Agostino et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2003. – Vol. 33. – P. 306-313.

204. The metalloproteinase matrilysinproteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis / W.C. Powell, B. Fingleton, C.L. Wilson, M. Boothby et al. // *Cur. Biol.* – 1999. – Vol. 9. – P. 1441-1447.
205. The pathogenesis of bladder detrusor endometriosis / P. Vercellini, G. Frontino, A. Pisacreta et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 187. – P. 538-542.
206. Theories of endometriosis / D. Vinatier, G. Orazi, M. Cosson, P. Dufour // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2001. – Vol. 96. – P. 21-34.
207. The role of NF-kappaB in endometriosis / A. Kaponis, T. Iwabe, F. Taniguchi, M. Ito et al. // *Front. Biosci. (Schol Ed).* – 2012. – Vol. – 4. – P. – 1213-1234.
208. Transforming growth factor- $\beta$ 1 gene polymorphisms in Korean women with endometriosis / H.J. Lee, H. Kim, S.Y. Ku et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2011 . – Vol. 66. – P. 428-434.
209. 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. – P. 432-439.
210. Tumor necrosis factor alpha -C850T polymorphism is significantly associated with endometriosis in Asian Indian women / K.V. Lakshmi, P. Shetty, K. Vottam et al. // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 453-456.
211. Tumour necrosis factor-alpha and heat-shock protein 70-2 gene polymorphisms in a family with rheumatoid arthritis / A. Balog, J. Gál, Z. Gyulai et al. // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* – 2004. – Vol. 51. – P. 263-269.
212. Tumor necrosis factor-alpha promotor polymorphisms and endometriosis / F. Wieser, G. Fabjani, C. Tempfer et al. // *J. Soc. Gynecol. Investig.* – 2002 . – Vol. 9. – P. 313-318.
213. Uterotubal transport disorder in adenomyosis and endometriosis-a cause for infertility/ S. Kissler, N. Hamscho, S. Zangos et al. // *BJOG.* – 2006. – Vol. 113. – P. 902-908.

214. Vassiliadis, S. The endometriotic stem cell and known immunological processes as stepping stones for the onset of endometriosis: a novel theory / S. Vassiliadis, I. Athanassakis, I.M. Matalliotakis // *New Developments in Endometriosis* / eds. I. Matalliotakis, A. Arici. USA: CreateSpace, 2011. – Ch. 4. – P. 116-143.
215. Weiner, M.P. Introduction to SNPs: Discovery of markers for diseases / M.P. Weiner, T.J. Hudson // *Biotechniques*. – 2002. – Vol. 10. – P. 12-13.
216. Wheeler, J.M. Epidemiology and prevalence of endometriosis / J. M. Inf. *Reprod. Med. Clin. North Am.* – 1992. – Vol. 3. – P. 545-549.
217. World Endometriosis Research Foundation Global Study of Women's Health consortium. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries / K.E. Noaham, L. Hummelshoj, P. Webster et al. // *Fertil. Steril.* – 2011 . – Vol. 96(2). – P. 366-373
218. Zhang, F. Association between TGF- $\beta$ 1-509C/T polymorphism and endometriosis: a systematic review and meta-analysis / Y. Yang, Y. Wang // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2012. – Vol. 164. – P. 121-126.
219. Zheng, W. Initial endometriosis showing direct morphologic evidence of metaplasia in the pathogenesis of ovarian endometriosis / W. Zheng, N. Li, J. Wang et al. // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2005. – Vol. 24. – P. 164-172.