

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ПРИ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

© К. С. Кублинский, О. И. Уразова, В. В. Новицкий,
И. Г. Куценко

Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ,
Томск, Россия
E-mail: kublinskiy@gmail.com

Проанализирована связь полиморфизма генов цитокинов с развитием генитального эндометриоза (ГЭ) у женщин репродуктивного возраста, его клиническими проявлениями, стадией распространения и эффективностью комбинированного лечения. Полиморфные варианты генов цитокинов определялись с помощью анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов (ПДРФ). Установлено, что носительство не только отдельных полиморфных генов цитокинов *IL1B C511T* (аллеля *T*), *IL2 T-330G* (аллеля *G*), *IL4 C-590T* (аллеля *T*), *IL6 G-174C* (аллеля *C*), *IL10 C-592A* (аллеля *A* и генотипов *CA*, *AA*), *TNFA G-308A* (аллеля *A* и генотипа *AA*) и *TGFβ C-509T* (аллеля *T* и генотипа *CT*), но и их комбинаций (*IL2GG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG*) предрасполагает к развитию ГЭ. К развитию тазовых болей при ГЭ и III-IV стадии распространения ГЭ предрасполагает носительство генотипа *TT* полиморфизма *C511T* гена *IL1B*. При этом бесплодие при ГЭ, а также эффективность его гормонального лечения ассоциированы с носительством не отдельных полиморфизмов генов цитокинов, а их комбинаций — *IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGG* и *IL1CT/IL4CC/IL6GG/IL10CC/TGFβCC* соответственно.

Ключевые слова: наружный генитальный эндометриоз, цитокины, аллельный полиморфизм генов.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 3. С. 368—382. 2018

K. S. Kublinsky, O. I. Urazova, V. V. Novitsky, I. G. Kutsenko. CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS IN THE DEVELOPMENT OF GENITAL ENDOMETRIOSIS. Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, e-mail: kublinskiy@gmail.com

The relationship between cytokine gene polymorphisms and genital endometriosis (GE) development in women of reproductive age, its clinical evidence, the disease progression stages and efficiency of combined treatment were analyzed. Polymorphic variants of cytokine genes were identified in the RFLP-analysis. Carriage of not only separate cytokine gene polymorphisms *IL1B C511T* (Allele *T*), *IL2 T-330G* (Allele *G*), *IL4 C-590T* (Allele *T*), *IL6 G-174C* (Allele *C*), *IL10 C-592A* (Allele *A* and Genotypes *CA*, *AA*), *TNFA G-308A* (Allele *A* and Genotype *AA*) and *TGFβ C-509T* (Allele *T* and Genotype *CT*), but also their combinations (*IL2GG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG*) are established to predispose to GE development. Carriage of Genotype *TT* of polymorphism *C511T* of *IL1B* gene predisposes to the development of pelvic pains during GE and Stages III/IV GE distribution. At that infertility during the GE as well as the efficacy of its hormonal treatment are not associated with carriage of separate cytokine gene polymorphisms but rather with their combina-

tions — *IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGG* and *IL1CT/IL4CC/IL6GG/IL10CC/TGFBCC*, respectively.

Key words: external genital endometriosis, cytokines, allelic polymorphism of genes.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 3. P. 368—382. 2018

Генитальный эндометриоз (ГЭ) — это хроническое, воспалительное, эстрогензависимое заболевание, которое характеризуется ростом подобной эндометрии ткани вне полости матки [24].

ГЭ встречается у 10 % женщин репродуктивного возраста, существенно ухудшая качество их жизни, и сопровождается хроническими тазовыми болями, дисменореей, бесплодием [41].

Отсутствие неинвазивных методов диагностики ведет к поздней диагностике эндометриоза, отсроченному началу лечения и высокой частоте рецидива заболевания [20].

Дефекты в системе иммунного надзора являются одним из ключевых факторов в патогенезе ГЭ. В связи с этим перспективным направлением в его диагностике и лечении служит поиск генетических маркеров иммунологического дисбаланса, ассоциированных с развитием заболевания и особенностями его течения. Роль цитокинов в механизмах формирования эндометриоидных гетеротопий считается доказанной. Известно, что их синтез определяется не только иммунологической реактивностью организма, но и полиморфизмом иммунорегуляторных генов, изучение которого открывает новые возможности в прогнозе риска развития заболевания и восприимчивости к лечению. Молекулярно-генетическое исследование позволяет идентифицировать мутантные варианты генов, детерминирующих различные этапы воспаления (в том числе стадию пролиферации) и иммунного ответа, и осуществлять раннюю диагностику заболевания [10, 12, 16, 27, 31, 38].

Цель исследования — проанализировать связь полиморфизма генов цитокинов с развитием ГЭ, его клиническими проявлениями, стадией распространения заболевания и эффективностью комбинированного лечения.

МЕТОДИКА

В ретроспективном исследовании приняли участие 529 женщин репродуктивного возраста, которые были госпитализированы в гинекологическую клинику ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и гинекологическое отделение «Центра женского здоровья» ООО МАДЕЗ в 2009—2012 гг. Основную группу составили 417 пациенток с ГЭ в возрасте 18—42 лет (31.0 ± 1.2 г.), верифицированных во время проведения оперативной или диагностической лапароскопии. В группу контроля вошли 112 клинически здоровых женщин с реализованной репродуктивной функцией (возраст 30.0 ± 1.3 г.), у которых при проведении хирургической стерилизации лапароскопическим доступом не было выявлено органической патологии.

Исследования проведены с разрешения Этического комитета СибГМУ (протокол № 3148 от 26.12.2012 г.).

При сборе анамнеза у пациенток исследуемых групп обращали внимание на наличие таких жалоб, как бесплодие и болевой синдром (дисменорея, диспареуния и тазовые боли).

После проведения лапароскопии 75 пациенток основной группы по тем или иным причинам отказались от гормонального лечения, в то время как 342 больным была проведена гормономодулирующая терапия (агонисты гонадотропин-рилизинг гормона — 157, гестагены — 48, комбинированные оральные контрацептивы — 137). Отдаленные результаты оценивали через 6—12 месяцев после окончания лечения. Считали его эффективным при купировании болевого синдрома.

рома, симптомов дисменореи и при наступлении маточной беременности у пациенток с бесплодием.

Критерии исключения из исследования: возраст менее 18 и более 42 лет, воспалительные заболевания органов малого таза, миома матки, пороки развития половых органов, мужской фактор бесплодия, экстрагенитальные и онкологические заболевания, наследственные болезни и отказ от исследования.

После подтверждения диагноза во время лапароскопии у 358 женщин европеоидного происхождения (у 251 с ГЭ и 107 из контрольной группы) путем анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ-ПЦР) определялись полиморфные варианты генов иммунорегуляторных цитокинов: *C-511T* гена *IL1B* (*rs16944*), *T-330G* гена *IL2* (*rs2069762*), *C-590T* гена *IL-4* (*rs2243250*), *G-174C* гена *IL6* (*rs1800795*), *C-592A* гена *IL10* (*rs1800872*), *A-1188C* гена *IL12B* (*rs3212227*), *G-308A* гена *TNFA* (*rs1800629*), *A-874T* гена *IFNG* (*rs2340561*), *C-509T* гена *TGFB* (*rs1800469*). Молекулярно-генетическое исследование включало сравнительную оценку частот встречаемости генотипов и аллелей, их связь с развитием ГЭ, его клиническими проявлениями (тазовые боли, дисменорея, диспареуния, бесплодие), стадией распространения (согласно классификации R-AFS, или Revised Classification of American Fertility Society, 1985) и эффективностью гормонального лечения.

У всех женщин было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Кровь для молекулярно-генетических методов исследования получали из кубитальной вены в стандартных условиях. Образцы крови хранили при -70°C до момента исследования.

Выделение ДНК из периферической крови проводили сорбентным методом по инструкции к коммерческому набору «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия).

Аmplификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к набору «АмпЛиСенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф» путем ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе с применением амплификатора «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия). Программа амплификации включала в себя предварительную денатурацию при 96°C в течение 1 мин с последующими циклами денатурации при 96°C (15 с), отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (50 с) или 60°C (50 с), элонгации цепи при 72°C (40 с). Программу завершала финальная элонгация при 72°C в течение 1 мин. Анализ продуктов амплификации (5 мкл амплификата) проводили разделением фрагментов ДНК в 2%-ном агарозном геле при напряжении 150 В в течение 3 мин для последующей визуализации в УФ-свете, подтверждающей наличие продукта амплификации. В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду рUC19, расщепленную рестриктазой *MspI* («Сибэнзим», Россия).

Для анализа качественных независимых данных использовали критерий χ^2 Пирсона либо точный критерий Фишера. Проверку соответствия наблюдаемых частот генотипов исследуемых полиморфизмов генов ожидаемым их частотам при соответствии равновесию Харди—Вайнберга проводили с помощью точного теста Фишера. Для сравнения частот аллелей и генотипов в группах исследования использовали критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность или (при количестве наблюдений менее 5 хотя бы в одной из ячеек таблиц сопряженности) точный тест Фишера. Об ассоциации разных генотипов и их комбинаций с заболеванием, его основными симптомами, стадией распространения и эффективностью лечения судили по величине отношения шансов [*OddsRatio* (OR)] с расчетом 95 % доверительного интервала. При $\text{OR} < 1$ судили об отрицательной связи между признаками, при $\text{OR} > 1$ — о положительной их связи. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В анамнезе у пациенток с ГЭ значительно чаще обнаруживались указания на следующие симптомы: наличие тазовых болей [54.9 % (229 больных), $\chi^2 = 94.439$, $p < 0.001$]; дисменореи [48.7 % (203 больных), $\chi^2 = 78.578$, $p < 0.001$] и диспареунии [13.4 % (56 больных), $\chi^2 = 16.821$, $p < 0.001$]. У 287 (68.8 %) женщин с ГЭ было диагностировано бесплодие: у 170 (40.7 %) — первичное, у 117 (28.1 %) — вторичное.

При проведении сравнительного анализа распределения аллелей и генотипов полиморфизмов генов цитокинов у женщин с ГЭ выявлено повышение частоты встречаемости аллеля *T* (у 21.7 %) полиморфизма *C511T* гена *IL1B* ($\chi^2 = 5.68$, $p = 0.02$) и аллеля *G* (у 32.5 %) полиморфизма *T-330G* гена *IL2* ($\chi^2 = 5.525$, $p = 0.019$) по сравнению с группой контроля (рис. 1, 2), носительство которых предполагало к развитию ГЭ (OR = 1.70 и OR = 1.58 соответственно).

При оценке распределения генотипов полиморфизма *T-330G* гена *IL2* у женщин основной и контрольной групп статистически значимых различий не было установлено (рис. 2), в то время как генотип *TT* полиморфизма *C511T* гена *IL1B* определялся только у женщин с ГЭ (в 10.8 % случаев) (рис. 1).

При исследовании полиморфизма *C-590T* гена *IL4* у женщин без эндометриоза выявлено преобладание генотипа *CC* (у 70.1 %) над генотипом *CT* (у 29.9 %), при этом гомозиготный генотип по аллелю *T* не обнаруживался вовсе. У женщин с ГЭ преобладающим был также генотип *CC* (у 51 %), а генотипы *CT* и *TT* выявлялись в 37.5 % и 11.6 % случаев соответственно. При сравнительной оценке частот генотипов и аллелей полиморфного участка *C-590T* гена *IL4* у женщин с эндометриозом было установлено снижение частоты генотипа *CC* ($\chi^2 = 18.401$, $p < 0.001$) и увеличение частоты аллеля *T* (30.3 %), по сравнению с группой контроля (в 14 % случаев) ($\chi^2 = 11.847$, $p = 0.001$). Была показана положительная ассоциация ГЭ с аллелем *T* (OR = 2.47) полиморфизма *C-590T* гена *IL4*. Генотип *CC* (OR = 0.44), напротив, обладал протективным эффектом в отношении развития ГЭ.

В ходе анализа распространенности полиморфизма *G-174C* гена *IL6* у женщин с ГЭ регистрировалось статистически значимое ($p = 0.001$) снижение час-

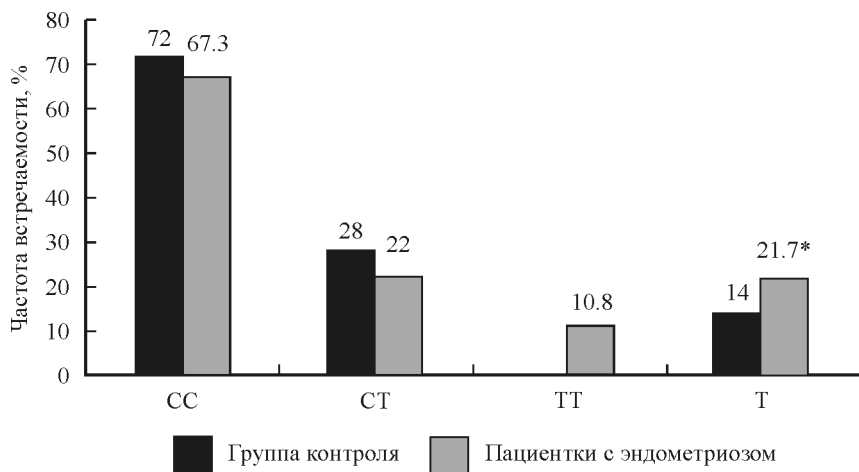


Рис. 1. Частота встречаемости (%) генотипов и аллелей полиморфизма *C-511T* гена *IL1B* у пациенток основной и контрольной групп.

Здесь и в рис. 2—6: * уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимыми различия считали при $p < 0.05$.

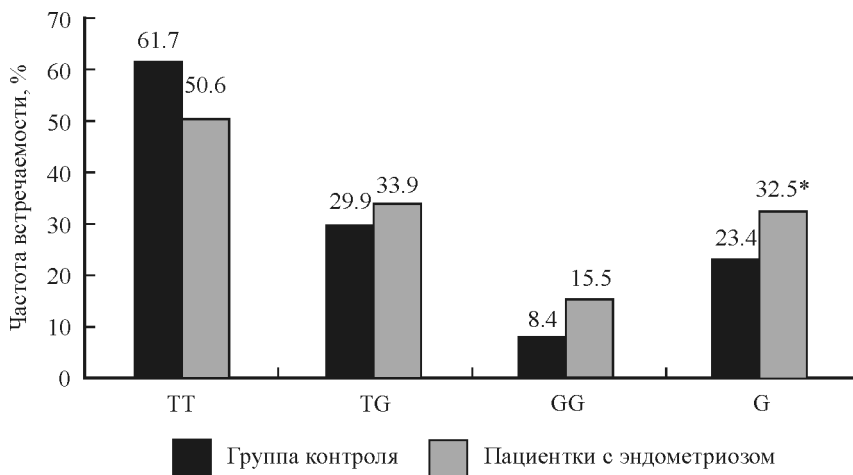


Рис. 2. Частота встречаемости (%) генотипов и аллелей полиморфизма *T-330G* гена *IL2* у пациенток основной и контрольной групп.

тоты встречаемости генотипа *GG* (у 59.4 %), а также увеличение встречаемости генотипа *CC* (у 13.2 %) по сравнению с группой женщин без ГЭ (соответственно у 7.2 и 0.9 %). При этом генотип *GC* в группах сравнения обнаруживался со сходной частотой — у 27.5 % в основной группе и 27.1 % в группе контроля ($p > 0.05$). Сравнение частоты встречаемости аллеля *C* также показало ее повышение в основной группе (у 26.9 %, $p < 0.001$) по сравнению с группой контроля (у 14.5 %). По результатам расчета OR выявлено, что носительство аллеля *C* (OR = 2.17) и генотипа *CC* (OR = 16.05) предрасполагает к развитию ГЭ, а гомозиготного генотипа *GG* полиморфизма *G-174C* гена *IL6* — обуславливает протективный эффект в отношении болезни (OR = 0.57).

При исследовании распределения полиморфного участка *C-592A* гена *IL10* обнаружено, что у женщин с ГЭ частота аллеля *A* данного полиморфизма (у 32.9 %, $\chi^2 = 74.60$, $p < 0.001$) и его генотипов *CA* (у 35.5 %, $\phi = 7.7$, $p < 0.01$) и *AA* (у 15.1 %, $\phi = 5.2$, $p < 0.01$) была достоверно выше по сравнению с таковыми в контрольной группе (2.8, 3.7 и 0.9 % соответственно). Выявлялась положительная их ассоциация с ГЭ (OR = 16.97 для аллеля *A*, OR = 14.15 для генотипа *CA* и OR = 18.91 для генотипа *AA*). Генотип *CC* полиморфизма *C-592A* гена *IL10* встречался достоверно чаще ($\chi^2 = 68.015$, $p < 0.001$) у женщин группы контроля (у 95.3 %), по сравнению с основной группой (у 49.4 %) и оказывал протективный эффект в отношении развития заболевания (OR = 0.05).

При анализе распределения аллелей и генотипов полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* выявлено достоверное ($p < 0.05$) повышение частоты встречаемости аллеля *A* (23.5 %), гомозиготного генотипа *AA* (10.9 %) и снижение частоты встречаемости генотипа *GG* (63.6 %) в основной группе по сравнению с группой контроля (соответственно у 11.7, 1.9 и 78.5 %). У больных женщин-носителей вариантного генотипа *AA* риск развития ГЭ оказался в 6.3 раза выше, чем у женщин без ГЭ. Носительство аллеля *A* полиморфного участка *G-308A* гена *TNFA* также предрасполагало к ГЭ (OR = 2.32), в то время как генотип *GG* (OR = 0.48) проявлял протективные свойства в отношении развития заболевания.

Распределение генотипов ($\chi^2 = 29.680$, $p < 0.001$) и аллелей ($\chi^2 = 14.02$, $p < 0.001$) полиморфизма *C-509T* гена *TGFB* у женщин с ГЭ и без ГЭ также существенно различалось: среди пациенток с ГЭ отмечалось снижение распространенности генотипа *CC* (у 47.8 %) и увеличение частоты встречаемости генотипа *CT* (у 39.4 %) и аллеля *T* (у 32.5 %), в группе контроля соответственно — 75.7,

11.2 и 18.7 %. Их носительство оказалось взаимосвязанным с развитием заболевания (для аллеля *T* OR = 2.09, для генотипа *CT* OR = 5.16). Протективный эффект в отношении заболевания проявлял генотип *CC* (OR = 0.29) полиморфизма *C-509T* гена *TGFB*.

Наряду с этим у женщин с ГЭ и без ГЭ частоты распределения аллелей и генотипов полиморфных вариантов *A-1188C* гена *IL12B* и *A-874T* гена *IFNG* не имели статистически значимых различий ($p > 0.05$).

Для комплексной оценки влияния полиморфных вариантов *C-511T* гена *IL1B*, *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL-4*, *G-174C* гена *IL6*, *C-592A* гена *IL10*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA*, *A-874T* гена *IFNG* и *C-509T* гена *TGFB* на развитие ГЭ был проведен анализ распространенности их комбинаций. Результатом проведенного исследования явились следующие сочетания генотипов, предрасполагающие к развитию заболевания:

IL1CC/IL4CC/IL6GG/IL10CA/TGFBCC [у 12 (4.8 %) женщин с ГЭ, у женщин без эндометриоза не обнаруживалась ($\phi = 3.8$, $p < 0.01$)];

IL1CC/IL4CC/IL6GG/IL10CC/TGFBCT [у 20 (8 %) женщин с ГЭ ($\phi = 4.9$, $p < 0.01$)];

IL1CC/IL4CT/IL6GG/IL10CA/TGFBCT [у 18 (7.2 %) женщин с ГЭ ($\phi = 4.7$, $p < 0.01$)];

IL2GG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG [у 30 (12 %) женщин с ГЭ и 3 (3.8 %) женщин без эндометриоза ($\phi = 3.2$, $p < 0.01$)] (OR = 4.75);

IL2TG/IL4CC/IL10CA/TNFAGG [у 15 (6 %) женщин с ГЭ, у женщин без эндометриоза не обнаруживалась ($\phi = 4.3$, $p < 0.01$)];

IL2TT/IL4CC/IL10CA/TNFAGG [у 21 (8.4 %) женщины с ГЭ ($\phi = 5.1$, $p < 0.01$)].

При сопоставлении распределения генотипов и аллелей полиморфизмов *C-511T* гена *IL1B*, *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL-4*, *G-174C* гена *IL6*, *C-592A* гена *IL10*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA*, *A-874T* гена *IFNG* и *C-509T* гена *TGFB* у женщин с ГЭ в зависимости от проявлений заболевания статистически значимых его различий у пациенток с дисменореей, диспареунией и бесплодием и у пациенток без данных симптомов установлено не было ($p > 0.05$).

Вместе с тем при анализе данных, полученных в результате молекулярно-генетического тестирования, у пациенток без тазовых болей и с таковыми было зарегистрировано увеличение ($\chi^2 = 6.540$, $p = 0.038$) частоты генотипа *TT* (у 17.2 %) полиморфизма *C511T* гена *IL1B* (рис. 3) и снижение ($\chi^2 = 7.017$, $p = 0.030$) частоты генотипа *AA* (у 7.5 %) полиморфизма *C-592A* гена *IL10* (рис. 4). При этом носительство генотипа *TT* полиморфизма *C511T* гена *IL1B* предрасполагало к наличию тазовых болей у пациенток с эндометриозом (OR = 2.78), а генотипа *AA* полиморфизма *C-592A* гена *IL10*, напротив, оказывало протективный эффект (OR = 0.33) в отношении их развития. Распределение генотипов и аллелей полиморфизмов *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL-4*, *G-174C* гена *IL6*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA*, *A-874T* гена *IFNG* и *C-509T* гена *TGFB* у пациенток основной группы с тазовыми болями и без них было сопоставимым ($p > 0.05$).

Анализ связи полиморфных вариантов генов цитокинов у женщин с различной стадией распространения ГЭ (RAFS, 1985 г.) показал различия в распределении генотипов полиморфизма *C511T* гена *IL1B* ($\chi^2 = 14.416$, $p = 0.001$). Выявлено статистически значимое повышение частоты встречаемости генотипа *TT* (у 15.8 %) и снижение частоты встречаемости генотипа *CT* (у 12.3 %) у пациенток с III—IV стадией эндометриоза по сравнению с их частотой при I—II стадии распространения заболевания (29.9 % и 6.6 % соответственно) (рис. 5). Кроме того, выявлялась положительная ассоциация ГЭ III-IV стадии с генотипом *TT* (OR = 2.67) данного полиморфизма, в то время как генотип *CT* (OR = 0.33) промоторного региона *C511T* гена *IL1B* оказывал протективный эффект в отношении развития эндометриоза III—IV стадии. Анализ распределения генотипов и аллелей полиморфизмов *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL4*, *G-174C* гена *IL6*, *C-592A* гена *IL10*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA*, *A-874T* гена *IFNG* и

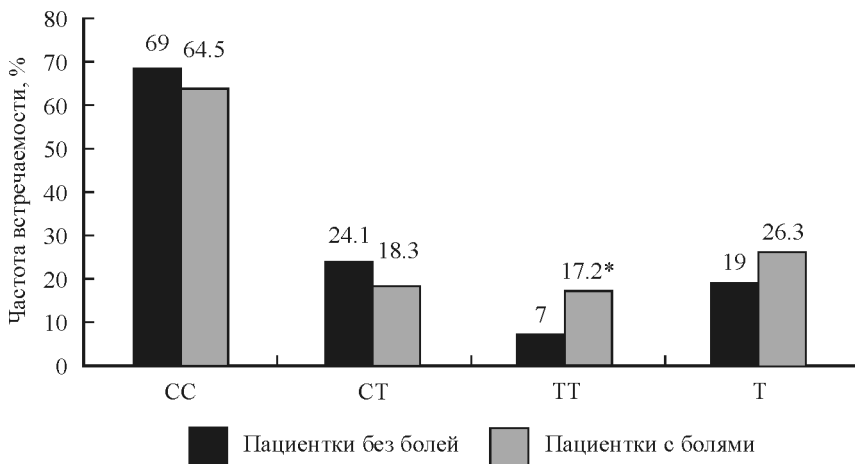


Рис. 3. Частота встречаемости (%) генотипов и аллелей полиморфизма *C-511T* гена *IL1B* у пациенток с тазовыми болями при эндометриозе.

C-509T гена *TGFB* у больных с различными стадиями ГЭ не выявил статистически значимых различий.

В ходе комплексной оценки связи комбинаций полиморфных вариантов цитоккинов со стадией распространения ГЭ выявлено, что к развитию I—II стадии ГЭ предрасполагает сочетание генотипов:

IL1CC/IL4CC/IL6GG/IL10CA/TGFBCC [при I—II стадии ГЭ — 18 случаев (13.1 %), а у больных с III—IV стадией — 2 случая (1.7 %) ($\phi = 3.7, p < 0.01$)] (OR = 8.47);

IL2TT/IL4CC/IL10CA/TNFAGG [при I—II стадии ГЭ — 19 случаев (13.9 %), а у больных с III—IV стадией — 5 случаев (4.4 %) ($\phi = 2.7, p < 0.01$)] (OR = 3.51).

Спустя 6—12 месяцев после окончания лечения его эффективность оценивали по частоте наступления маточной беременности, купированию болевого синдрома и симптомов дисменореи. Отдаленные результаты свидетельствовали в пользу любого гормонального лечения (купирование болевого синдрома в 39.7 % случаев, симптомов дисменореи — у 63 %, наступление маточной беременности

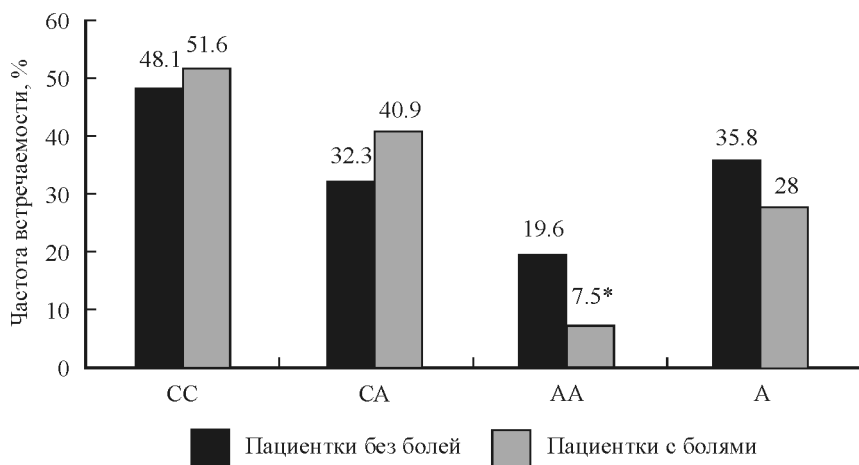


Рис. 4. Частота встречаемости (%) генотипов и аллелей полиморфизма *C-592A* гена *IL10* у пациенток с тазовыми болями при эндометриозе.

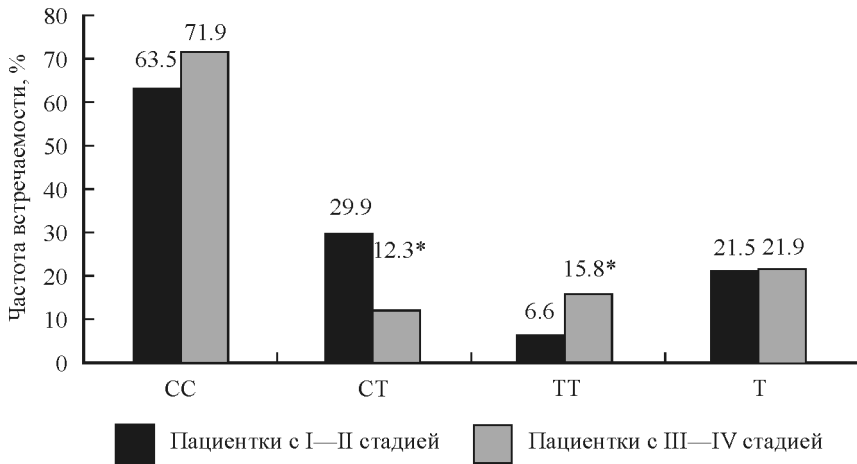


Рис. 5. Частота встречаемости (%) генотипов и аллелей полиморфизма *C-511T* гена *IL1B* у пациенток с I—II и III—IV стадиями эндометриоза.

у 51.4 % пациенток). Без гормонотерапии эти показатели были достоверно ниже и составили 9.7 % ($\chi^2 = 7.497$, $p = 0.006$); 23.3 % ($\chi^2 = 14.85$, $p < 0.001$) и 20.3 % ($\chi^2 = 18.13$, $p < 0.001$) соответственно.

У женщин с эффективным и неэффективным лечением синдрома тазовых болей и дисменореи при эндометриозе статистически значимых различий распределения генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов генов цитокинов не обнаруживалось ($p > 0.05$).

Вместе с тем, были установлены статистически значимые различия по частоте встречаемости полиморфизма *C-509T* гена *TGF β* между группами больных ГЭ с наступлением беременности после лечения и ее отсутствием ($\chi^2 = 6.486$, $p = 0.039$ и $\chi^2 = 4.24$, $p = 0.04$ соответственно) (рис. 6). У больных ГЭ с наступившей беременностью после лечения отмечалось повышение частоты генотипа *CT* (у 48 %) и снижение частоты генотипа *CC* (у 37 %) и аллеля *T* (у 28.5 %) по сравнению с пациентками без наступления беременности (31, 56 и 39 % соответ-

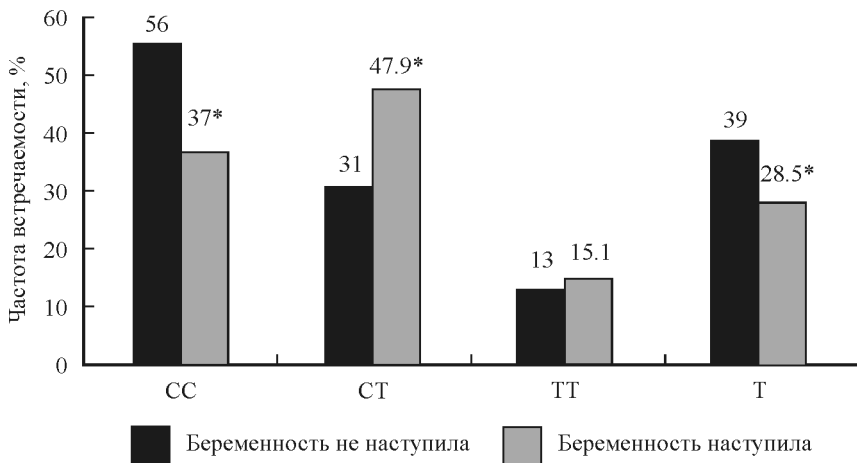


Рис. 6. Частота встречаемости (%) генотипов и аллелей полиморфизма *C-509T* гена *TGF β* у пациенток с эндометриозом и бесплодием после лечения.

венно). Была зарегистрирована связь между наступлением беременности и носительством генотипа *CT* (OR = 2.05) и аллеля *T* (OR = 1.61) полиморфизма *C-509T* гена *TGFB*. При этом неудачи в лечении эндометриоз-ассоциированного бесплодия ассоциировались с носительством генотипа *CC* (OR = 0.46) данного полиморфизма.

Определены сочетания генотипов полиморфных вариантов генов цитокинов, предрасполагающие не только к развитию бесплодия при эндометриозе, но и наступлению беременности после его лечения:

IL1CC/IL4CC/IL6GG/IL10CA/TGFBCC [у больных ГЭ — 12 случаев (6.9 %), а у женщин с эндометриозом, не имевших проблем с зачатием, не обнаруживалась ($\varphi = 3.9, p < 0.01$)];

IL1CC/IL4CC/IL6GG/IL10CC/TGFBCC [у женщин без бесплодия при эндометриозе 3 случая (3.9 %), а у больных ГЭ и бесплодием — 23 случая (13.3 %) ($\varphi = 2.6, p < 0.01$)] (OR = 3.83);

IL2GG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG [у женщин без бесплодия при эндометриозе 2 случая (2.6 %), а у больных ГЭ и бесплодием — 19 случаев (11 %) ($\varphi = 2.6, p < 0.01$)] (OR = 4.69);

IL2TT/IL4CC/IL10CC/TNFAGG [у женщин без бесплодия при эндометриозе 3 случая (3.9 %), а у больных ГЭ и бесплодием — 26 случаев (15 %) ($\varphi = 2.9, p < 0.01$)] (OR = 4.42).

IL1CT/IL4CC/IL6GG/IL10CC/TGFBCC [частота наступления беременности после лечения у пациенток с бесплодием и ГЭ составила 14 случаев (18.7 %), при этом ни одного случая отсутствия наступления беременности у пациенток с этой ассоциацией не было зафиксировано ($\varphi = 5.8, p < 0.01$)];

IL2GG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG [частота наступления беременности после лечения у пациенток с бесплодием и ГЭ составила 11 случаев (14.7 %), в 3 случаях (3.1 %) у больных с эндометриоз-ассоциированным бесплодием наступление беременности не было зафиксировано ($\varphi = 2.8, p < 0.01$)] (OR = 5.44).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Каскад событий, составляющих основу патогенеза воспалительного процесса, имеет существенное значение в развитии эндометриоза. Нормальный иммунный ответ на появление эктопического эндометрия основан на балансе между концентрацией про- и противовоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости [20]. Изменения их нормального соотношения создает благоприятные условия для «ускользания» эндометриoidных очагов от факторов иммунного надзора, имплантации и последующего роста жизнеспособных фрагментов эндометрия [15].

Общеизвестно также, что клеточный иммунитет, включая Т-клеточно-опосредованную цитотоксичность, активируется или подавляется цитокинами, продуцируемыми Т-хелперами 1-го (Th1) и 2-го (Th2) типов соответственно. В нормальных условиях существует механизм контроля баланса между Th1 и Th2. Например, Th1 секретируют IL-12, который активирует цитотоксическую активность Т-лимфоцитов и НК-клеток посредством индукции экспрессии гена интерферона (INF) γ . IL-12 и INF- γ — ключевые цитокины Th1-иммунного ответа, подавляющие процессы дифференцировки и пролиферации Th2 — регуляторных клеток гуморального иммунитета. В свою очередь IL-4 и IL-10, синтезируемые Th2, снижают активность Th1 и опосредованных ими реакций иммунного контроля, связанных с привлечением к реализации защитной и регуляторной функций иммунной системы других типов лейкоцитов. При этом приводятся данные о том, что иммунный ответ при эндометриозе поляризован именно по Th2-пути, что обусловлено гиперпродукцией цитокинов IL-4, IL-6, IL-10, IL-18 [22, 36].

Поляризация иммунного ответа при эндометриозе по Th2-пути может быть связана с генетически детерминированными изменениями синтеза и секреции

Th2-ассоциированных цитокинов. Так известно, что полиморфизм *C-590T* гена *IL4* ассоциирован с увеличением продукции IL-4 [8, 13, 14] и повышением его концентрации в сыворотке крови. Это способствует развитию иммунного ответа по Th2-пути с индукцией пролиферации В-лимфоцитов, их созреванию в плазматические клетки и синтезу иммуноглобулинов. Кроме того, IL-4 ограничивает синтез макрофагами и моноцитами провоспалительных цитокинов. По данным М. И. Ярмолинской, наличие аллеля *C* гена *IL4* повышает риск развития эндометриоза в 3 раза, при этом частота его носительства достоверно выше у больных с тяжелыми формами наружного ГЭ [18]. Согласно полученным нами данным, развитие эндометриоза, напротив, ассоциировано с наличием аллеля *T* полиморфизма *C-590T* гена *IL4* (OR = 2.47). Вместе с тем Y. Y. Hsieh и соавт. в своей работе не выявили значимой связи между эндометриозом и полиморфизмом *C-590T* гена *IL4* у китайских женщин [29].

IL-10 — один из основных цитокинов Th2-поляризации иммунного ответа, угнетающий клеточный иммунитет и продукцию макрофагами провоспалительных медиаторов (цитокинов, эйкозаноидов, активных метаболитов кислорода и азота) при их кооперации с Т-лимфоцитами [5, 6]. В нашей работе отмечено увеличение частоты встречаемости аллеля *A* полиморфизма *C-592A* гена *IL10* и его генотипов *CA* и *AA*. По данным литературы, повышение концентрации IL-10 в крови у больных ГЭ может быть опосредовано наличием именно этих генотипов указанного полиморфизма [9]. Результаты отечественных и зарубежных исследований по оценке влияния полиморфизма *C-592A* гена *IL10* на развитие эндометриоза носят противоречивый характер. В зарубежной литературе имеются указания на ассоциацию полиморфизма *C-592A* гена *IL10* с развитием ГЭ [28, 33, 37]. В своей работе X. Zhang и соавт. показали, что среди женщин с эндометриозом достоверно чаще встречаются носители гетерозиготного *CA* и гомозиготного *AA* генотипов полиморфного сайта *C-592A* гена *IL10* по сравнению со здоровыми женщинами. Авторами была обнаружена связь аллельного полиморфизма указанного гена с повышением содержания IL-10 в перитонеальной жидкости при ГЭ [42]. Сведения о влиянии этого полиморфизма на стадию распространения эндометриоза неоднозначны. Р. Не и соавт. установили не только положительную ассоциацию полиморфизма *C-592A* гена *IL10* с возникновением заболевания среди женщин китайской популяции, но и выявили, что у женщин с III—IV степенью распространения ГЭ значимо чаще встречаются носители редкого аллеля *A* и гетерозиготного генотипа *CA* этого полиморфизма по сравнению с женщинами с I—II степенью распространения ГЭ и женщинами без эндометриоза [28]. В метаанализе, проведенном W. Fan и соавт. в 2013 году, было показано значительное увеличение риска развития эндометриоза у носителей полиморфизма *C-592A* гена *IL10* среди женщин азиатской популяции без какой-либо связи с тяжестью заболевания [25].

Известно, что полиморфизм *G-174C* гена *IL6* опосредует снижение продукции IL-6, нарушение активации В-лимфоцитов, антителопродукции и реакций антител-зависимой клеточной цитотоксичности [6, 8]. В доступной литературе есть данные о связи данного полиморфизма со снижением содержания IL-6 в сыворотке крови [2]. Известно, что продуцируемый клетками иммунной системы IL-6 выступает в качестве ко-фактора при дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании в антител-продуцирующие плазматические клетки [17]. Он может выступать как провоспалительный, так и противовоспалительный цитокин. В ходе воспалительной реакции последовательно секретируются TNF- α , IL-1 β и IL-6. Снижение концентрации IL-6, обусловленное наличием генотипа *CC* полиморфизма *G-174C* гена *IL6*, у пациенток с эндометриозом может приводить к ограничению способности последнего подавлять секрецию TNF- α и IL-1 β , к активации продукции печенью белков острой фазы воспаления и стимуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что способствует нарушению регуляции воспалительного процесса [6, 17]. В нашем исследовании у пациенток с ГЭ

обнаруживалось достоверное повышение частоты аллеля *C* и генотипа *CC* полиморфизма *G-174C* гена *IL6* и снижение частоты генотипа *GG*. Однако в зарубежной литературе данные об ассоциации полиморфизма *G-174C* гена *IL6* с эндометриозом носят двойственный характер. Описана ассоциация между данным полиморфизмом и риском развития эндометриоза у женщин азиатской популяции, формированием эндометриозом [34, 39]. М. Vhanoogi и соавт. в своей работе, напротив, указывают на отсутствие значимой связи полиморфизма *G-174C* гена *IL6* с эндометриозом у индийских женщин [23].

TNF- α продуцируется моноцитами, макрофагами и другими клетками. Локальное высвобождение этого медиатора приводит к активной миграции клеток, продукции провоспалительных цитокинов и сдвигу иммунного ответа в направлении Th1-ассоциированных реакций [6]. Повышение в крови концентрации TNF- α у женщин с ГЭ может лежать в основе избыточной пролиферации фрагментов эктопированного эндометрия и формирования спаечного процесса, способствующего развитию бесплодия и хронических тазовых болей [6]. Нами выявлено повышение частоты встречаемости аллеля *A* и гомозиготного генотипа *AA* у пациенток с эндометриозом. Необходимо отметить, что у женщин-носителей этого генотипа отмечена высокая концентрация этого цитокина. Вместе с тем исследование, проведенное австрийскими учеными, не установило связи между эндометриозом и распределением генотипов и аллелей полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* у европейской женщин [40]. Аналогичные данные были представлены в работе J. Li и соавт. по молекулярно-генетическому обследованию азиатских женщин [34]. Годом позже R. Abutorabi и соавт. опубликовали данные не только об отсутствии ассоциации полиморфизма *G-308A* гена *TNFA* с развитием ГЭ, но и стадией его распространения [19]. В отечественной литературе, напротив, имеются указания на ассоциацию данного полиморфизма с эндометриозом [9, 18], возрастом манифестации заболевания и особенностями его клинических проявлений, в частности с эндометриоз-ассоциированным бесплодием [7].

В литературе описана связь функционально значимого локуса *C511T* гена *IL1B* с повышением у носителей генотипа *TT* продукции интерлейкина (IL) 1 β — провоспалительного цитокина, обладающего свойством ростового фактора и активатора продукции IL-2 и INF- γ Т-лимфоцитами с хелперной и цитотоксической функциями соответственно [21]. По результатам настоящего исследования, у пациенток с эндометриозом выявлено повышение частоты встречаемости аллеля *T* полиморфизма *C511T* гена *IL1B* и предрасполагающая его роль к развитию III—IV стадии распространения ГЭ и тазовых болей, сопровождающих течение болезни. По всей видимости, это связано с тем, что «высокопродуцирующий» полиморфизм *C511T* гена *IL1B* опосредует активацию IL-1 β -зависимых реакций альтерации, связанных с ней расстройств микроциркуляции, а также клеточной пролиферации и тканевой регенерации, составляющих основу патогенеза воспаления [26].

Полиморфизм гена *IL2* определяется точечными мутациями в положении –330 относительно стартовой точки транскрипции. По нашим данным, у пациенток с ГЭ имеет место повышение частоты аллеля *G* полиморфизма *T-330G* гена *IL2*. Замена тимина на гуанин в положении *T-330G* промоторного региона ассоциирована со снижением продукции IL-2 — ключевого фактора митогенеза Т-лимфоцитов, являющихся главными регуляторными и эффекторными клетками адаптивного иммунитета [1, 6, 8, 11]. Оказывая аутокринное воздействие на Th1-клетки и паракринное — на субпопуляцию Th2-лимфоцитов, IL-2 вызывает смещение баланса Th1/Th2 в направлении активации клеточного звена иммунитета [32]. Известно, что аллельный полиморфизм *T-330G* гена *IL2* ассоциирован со снижением количественных и качественных показателей клеточного иммунного ответа, характеризующих состояние иммунодепрессии, что способствует пролиферации эндометриоидных гетеротопий [4, 35].

TGF- β — продукт регуляторных Т-клеток с иммуносупрессорной активностью (Treg) и толерогенных макрофагов, способных подавлять реакции иммун-

ного ответа и, напротив, стимулировать процессы восстановления (замещения) в тканях при повреждении. Он участвует в патогенезе воспаления, репарации, усиливает рост фибробластов и синтез коллагена, является основным медиатором фиброза. Полиморфизм однонуклеотидного локуса *rs1800469* гена *TGFB* связан с повышением концентрации соответствующего цитокина в сыворотке крови, благодаря утрате негативного влияния со стороны факторов транскрипции [3]. Повышенный уровень TGF-β приводит к образованию экстрацеллюлярного матрикса, что может провоцировать фиброзирование, активацию металлопротеиназ и ремоделирование сосудов [3]. В литературе представлены довольно противоречивые сведения о роли указанного полиморфизма в развитии ГЭ. По данным нашего исследования, у пациентки с ГЭ отмечалось увеличение частоты встречаемости генотипа *CT* и аллеля *T* полиморфизма *C-509T* гена *TGFB*. В своей работе Y. Y. Hsieh и соавт. также подтвердили положительную ассоциацию генотипа *TT* и редкого аллеля *T* полиморфизма *-509C/T* с эндометриозом у китайских женщин [30]. Тем не менее, более поздняя публикация F. Zhang и соавт. свидетельствует об отсутствии связи между полиморфизмом *-509C/T* гена *TGFB* и эндометриозом, что диктует необходимость дополнительных исследований в этом направлении [43].

В результате изложенного можно заключить, что носительство полиморфизмов генов провоспалительных (*C511T* гена *IL1B*; *T-330G* гена *IL2*; *G-174C* гена *IL6*; *G-308A* гена *TNFA*) и противовоспалительных (*C-590T* гена *IL4*; *C-592A* гена *IL10*; *C-509T* гена *TGFB*) цитокинов опосредует поляризацию иммунного ответа по Th2-пути, неэффективному в отношении эктопированных эндометриозидных клеток, способных к распространению посредством адгезии и избыточной пролиферации с нарушением функционирования органов репродуктивной системы. Оно может лежать в основе предрасположенности к развитию синдрома тазовых болей и бесплодия при ГЭ, способствовать большему распространению заболевания, а также влиять на эффективность его гормонального лечения. Для формирования групп риска развития ГЭ и стадии его распространения с целью проведения первичной профилактики и эффективного лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия целесообразно определение как отдельных полиморфных генов цитокинов, так и их комбинаций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. К развитию ГЭ у женщин репродуктивного возраста предрасполагает носительство отдельных полиморфных генов цитокинов *IL1B C511T* (аллеля *T*), *IL2T-330G* (аллеля *G*), *IL4 C-590T* (аллеля *T*), *IL6 G-174C* (аллеля *C*), *IL10 C-592A* (аллеля *A* и генотипов *CA, AA*), *TNFA G-308A* (аллеля *A* и генотипа *AA*) и *TGFB C-509T* (аллеля *T* и генотипа *CT*).

2. Наиболее значимой комбинацией полиморфизмов генов цитокинов, предрасполагающей к развитию ГЭ, является комбинация *IL2GG/IL4CC/IL10CC/TNFAGG*, а предрасполагающей к формированию I—II стадии распространения заболевания — комбинация *IL1CC/IL4CC/IL6GG/IL10CA/TGFBCC*.

3. К развитию тазовых болей при ГЭ и III—IV стадии распространения ГЭ предрасполагает носительство генотипа *TT* полиморфизма *C511T* гена *IL1B*.

4. Дисменорея, диспареуния и бесплодие при ГЭ не связаны с носительством отдельных полиморфизмов генов цитокинов *C-511T* гена *IL1B*, *T-330G* гена *IL2*, *C-590T* гена *IL-4*, *G-174C* гена *IL6*, *C-592A* гена *IL10*, *A-1188C* гена *IL12B*, *G-308A* гена *TNFA*, *A-874T* гена *IFNG* и *C-509T* гена *TGFB*.

5. Эффективность гормонального лечения бесплодия при эндометриозе ассоциирована с генотипом *CT* и аллелем *T* полиморфизма *C-509T* гена *TGFB*.

6. Наиболее значимой комбинацией полиморфизмов генов цитокинов, предрасполагающей к развитию бесплодия при ГЭ, является комбинация *IL2TT/*

IL4CC/IL10CC/TNFAGG, а обуславливающей эффективность лечения бесплодия при ГЭ — комбинация *IL1CT/IL4CC/IL6GG/IL10CC/TGFVCC* (частота наступления беременности после лечения 18.7 %).

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ для ведущих научных школ НШ-7906.2016.7 и НШ-2690.2018.7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Авдошина В. В., Дортман В. В., Коненков В. И., Белобородова Е. В., Рязанцева Н. В., Наследникова И. О., Новицкий В. В. Прогноз предрасположенности человека к развитию вирусного гепатита С по полиморфизмам генов цитокинов G-308A TNFA, T-330G IL2, C-590T IL4, C-703T IL5 и C-592A IL-10. *Мед. иммунология*. 8(5—6): 715—720. 2006.
- [2] Азаркова Т. А., Кублинский К. С., Наследникова И. О., Евтушенко И. Д., Азаркова Л. А., Новицкий В. В., Ильяди Е. Б., Уразова О. И., Воронкова О. В. Полиморфизм генов цитокинов *IL1B* и *IL6* при эндометриоз-ассоциированном бесплодии. *Бюл. СО РАМН*. 33(6): 60—64. 2013.
- [3] Гараева Л. А., Маянская С. Д. Полиморфизм генов трансформирующего фактора роста, липопротеинлипазы, фибриногена и гликопротеина 3 альфа у пациентов с коронарным атеросклерозом различной степени тяжести. *Практическая медицина*. 2(103): 88—93. 2017.
- [4] Ищенко А. И., Кудрина Е. А. Эндометриоз: современные аспекты. М. МИА. 2008.
- [5] Кадагидзе З. Г. Цитокины. *Практическая онкология*. 4(3): 131—139. 2003.
- [6] Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб. Фолиант. 2008.
- [7] Конева О. А. Генетические маркеры и возраст манифестации генитального эндометриоза. *Научн. ведомости Белгородского гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация*. 14(10): 247—253. 2011.
- [8] Коненков В. И., Смольникова М. В. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов. *Мед. иммунология*. 5(1—2): 11—28. 2003.
- [9] Меньшикова Н. С. Функциональный полиморфизм генов иммуносупрессорных цитокинов при наружном генитальном эндометриозе. *Мать и дитя в Кузбассе*. 1(52): 24—26. 2013.
- [10] Ризванова Ф. Ф. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов. *Практическая медицина*. 45: 41—43. 2010.
- [11] Симбирцев А. С. Интерлейкин-2 и рецепторный комплекс ИЛ-2 в регуляции иммунитета. *Иммунология*. 6: 3—7. 1998.
- [12] Симбирцев А. С., Громова А. Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления. *Иммунология*. 1: 67—72. 2005.
- [13] Симбирцев А. С., Громова А. Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных цитокинов. *Цитокины и воспаление*. 4(1): 3—12. 2005.
- [14] Смольникова М. В., Кожевников В. С., Коненков В. И. Анализ ассоциируемости аллелей промоторных регионов генов TNFA, IL2, IL4 и IL10 с параметрами состояния иммунной системы у ВИЧ-инфицированных пациентов. *Мед. иммунология*. 8(5—6): 659—666. 2006.
- [15] Солодовникова Н. Г., Ниаури Д. А. Роль цитокинов в развитии наружного генитального эндометриоза. *Вест. СПб. ун-та*. 11(2): 115—122. 2006.
- [16] Ховрина Е. А., Курпиков А. С., Кузнецова И. В. Терапия прикрытия в лечении эндометриоза агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона. *Акушерство и гинекология*. 4: 134—139. 2011.
- [17] Шевченко А. В., Голованова О. В., Коненков В. И. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL1, IL4, IL5, IL6, IL10 и TNFA у европеоидного населения Западной Сибири. *Иммунология*. 4: 176—181. 2010.
- [18] Ярмолинская М. И., Тарасова М. А., Сельков С. А., Баранов В. С., Рулев В. В. Наружный генитальный эндометриоз: пособие для врачей. Под ред. Э. К. Айламазяна. СПб. Н-Л. 2010.

[19] *Abutorabi R., Baradaran A., Sadat Mostafavi F., Zarrin Y., Mardanian F.* Evaluation of Tumor Necrosis Factor Alpha Polymorphism Frequencies in Endometriosis. *Int. J. Fertil. Steril.* 9(3): 329—337. 2015.

[20] *Ahn S. H., Monsanto S. P., Miller C., Singh S. S., Thomas R., Tayade C.* Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis [Electronic resource]. *Biomed. Res. Int.* 2015. URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/795976>. 2015.

[21] *Al-Tahhan M. A., Etewa R. L., El-Behery M. M.* Association between circulating interleukin-1 beta (IL-1 β) levels and IL-1 β C-511T polymorphism with cervical cancer risk in Egyptian women. *Mol. Cell. Biochem.* 353(1—2): 159—165. 2011.

[22] *Antsiferova Y. S., Sotnikova N. Y., Posiseeva L. V., Shor A. L.* Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. *Fertil. Steril.* 84(6): 1705—1711. 2005.

[23] *Bhanoori M., Babu K. A., Deenadayal M., Kennedy S., Shivaji S.* The interleukin-6-174G/C promoter polymorphism is not associated with endometriosis in South Indian women. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 12(5): 365—369. 2005.

[24] *Buggio L., Somigliana E., Barbara G., Frattaruolo M. P., Vercellini P.* Oral and depot progestin therapy for endometriosis: towards a personalized medicine. *Expert Opin. Pharmacother.* 24: 1—13. 2017.

[25] *Fan W., Li S., Chen Q., Huang Z., Ma Q., Xiao Z.* Association between interleukin-10 promoter polymorphisms and endometriosis: a meta-analysis. *Gene.* 515(1): 49—55. 2013.

[26] *Hall S. K., Perregeaux D. G., Gabel C. A., Woodworth T., Durham L. K., Huizinga T. W., Breedveld F. C., Seymour A. B.* Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 beta gene with secretion of interleukin-1 beta protein. *Arthritis Rheum.* 50(6): 1976—1983. 2004.

[27] *Harada T., Iwabe T., Terakawa N.* Role of cytokines in endometriosis. *Fertil. Steril.* 76(1): 1—10. 2001.

[28] *He P., Zhang X. M., Deng L., Ma J. Y.* Relationship between IL-10 promoter gene polymorphisms and the susceptibility to endometriosis. *Yi Chuan.* 31(5): 479—484. 2009.

[29] *Hsieh Y. Y., Chang C. C., Tsai F. J., Hsu Y., Tsai H. D., Tsai C. H.* Polymorphisms for interleukin-4 (IL-4)-590 promoter, IL-4 intron3, and tumor necrosis factor alpha-308 promoter: non-association with endometriosis. *J. Clin. Lab. Anal.* 16: 121—126. 2002.

[30] *Hsieh Y. Y., Chang C. C., Tsai F. J., Peng C. T., Yeh L. S., Lin C. C.* Polymorphism for transforming growth factor beta 1-509 (TGF-B1-509): association with endometriosis. *Biochem. Genet.* 43(5—6): 203 — 210. 2005.

[31] *Iwabe T., Harada T., Terakawa N.* Role of cytokines in endometriosis-associated infertility. *Gynec. Obstet. Invest.* 53(1): 19—25. 2002.

[32] *Janas M. L., Groves P., Kienzle N., Kelso A.* IL-2 regulates perforin and granzyme gene expression in CD8⁺ T cells independently of its effects on survival and proliferation. *J. Immunol.* 175(12): 8003—8010. 2005.

[33] *Juo S. H., Wu R., Lin C. S., Wu M. T., Lee J. N., Tsai E. M.* A functional promoter polymorphism in interleukin-10 gene influences susceptibility to endometriosis. *Fertil. Steril.* 92(4): 1228—1233. 2009.

[34] *Li J., Chen Y., Wei S., Wu H., Liu C., Huang Q., Li L., Hu Y.* Tumor necrosis factor and interleukin-6 gene polymorphisms and endometriosis risk in Asians: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Hum. Genet.* 78(2): 104—116. 2014.

[35] *Nisolle M., Alvarez M. L., Colombo M., Foidart J. M.* Pathogenesis of endometriosis. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 35: 898—903. 2007.

[36] *Podgaec S., Dias J. A. jr., Chapron C., Oliveira R. M., Baracat E. C., Abrão M. S.* Th1 and Th2 immune responses related to pelvic endometriosis. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 56(1): 92—98. 2010.

[37] *Riiskjaer M., Nielsen K., Steffensen R., Erikstrup C., Forman A., Kruse C.* Association of interleukin-10 promoter polymorphism and endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 65: 13—19. 2011.

[38] *Senapati S., Barnhart K.* Managing endometriosis-associated infertility. *Clin. Obstet. Gynecol.* 54(4): 720—726. 2011.

[39] *Wieser F., Fabjani G., Tempfer C., Schneeberger C., Sator M., Huber J., Wenzl R.* Analysis of an interleukin-6 gene promoter polymorphism in women with endometriosis by pyrosequencing. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 10: 32—36. 2003.

[40] Wieser F., Fabjani G., Tempfer C., Schneeberger C., Zeillinger R., Huber J. C., Wenzl R. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphisms and endometriosis. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 9: 313—318. 2002.

[41] Young V. J., Ahmad S. F., Duncan W. C., Horne A. W. The role of TGF- β in the pathophysiology of peritoneal endometriosis. *Hum. Reprod. Update.* 23(5): 548—559. 2017.

[42] Zhang X., Hei P., Deng L., Lin J. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms and their protein production in peritoneal fluid in patients with endometriosis. *Mol. Hum. Reprod.* 13: 135—140. 2007.

[43] Zhang F., Yang Y., Wang Y. Association between TGF- β 1-509C/T polymorphism and endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 164: 121—126. 2012.

Поступила 18 XII 2017
После доработки 29 I 2018