

## Связь полиморфизма генов *GSTT1* и *GSTM1* с эффективностью лечения генитального эндометриоза

Ткачёв В.Н., Юрченко А.С., Евтушенко И.Д., Наследникова И.О., Новицкий В.В., Уразова О.И., Кублинский К.С., Захарова П.А., Меньшикова Н.С.

## Relationship of polymorphism of genes *GSTT1* and *GSTM1* on treatment efficacy of the genital endometriosis

Tkachyov V.N., Yurchenko A.S., Yevtushenko I.D., Naslednikova I.O., Novitsky V.V., Urazova O.I., Kublinsky K.S., Zakharova P.A., Menshikova N.S.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Ткачёв В.Н., Юрченко А.С., Евтушенко И.Д. и др.

Проведено клиническое и молекулярно-генетическое обследование и лечение 140 пациенток с генитальным эндометриозом. Комплексное лечение включало применение хирургического лапароскопического метода и гормональных препаратов (агонисты гонадотропин-рилизинг-гормонов, комбинированные оральные контрацептивы). Наиболее эффективным методом медикаментозной терапии эндометриоза после предварительной хирургической коррекции было назначение агонистов гонадотропин-рилизинг-гормонов. Эффективность медикаментозной терапии эндометриоза коррелирует с особенностями полиморфизма генов ферментов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков — «функционально неполноценные» генотипы 0/0 *GSTT1* и 0/0 *GSTM1* ассоциированы с низкой эффективностью медикаментозного лечения генитального эндометриоза. Целесообразно назначение медикаментозной терапии эндометриоза с учетом особенностей генетического полиморфизма организма пациентки.

**Ключевые слова:** генитальный эндометриоз, глутатион-S-трансферазы, эффективность лечения.

Clinical and molecular-genetic examination and treatment of 140 patients with genital endometriosis is presented. Integrated treatment included surgery laparoscopic method and application of hormonal preparations (agonists gonadotropin releasing hormones, combined oral contraceptives). The most effective method of drug therapy of endometriosis after prior surgical correction was the appointment of agonists gonadotropin releasing hormone. The effectiveness of drug therapy of endometriosis correlated with special genes polymorphism of enzymes of biotransformation phase is "functionally defective genotypes 0/0" *GSTT1* and *GSTM1* 0/0 are associated with low efficiency of medical treatment of the genital endometriosis. Assignment of drug therapy of endometriosis based on genetic polymorphism of an organism of the patient is appropriate.

**Key words:** genital endometriosis, glutathione-S-transferase, the effectiveness of treatment

УДК 618.13-002-036.8:575.174.015.3

### Введение

Несмотря на существенные достижения отечественной и зарубежной медицины и фармакологии эндометриоз является одной из ведущих проблем современной медико-биологической науки. Эндометриоз — генетически детерминированное, хроническое дисгормональное иммунозависимое заболевание с доброкачественным разрастанием ткани, идентичной по

морфологическому строению и функции эндометрию, за пределами слизистой оболочки матки. В структуре гинекологической заболеваемости эта патология занимает 3-е место после воспалительных заболеваний органов малого таза и миомы [1, 4].

Многообразие локализаций очагов эндометриоза обусловило возникновение большого числа гипотез его происхождения. Наряду с общепринятыми теориями происхождения заболевания в последнее время

большое внимание уделяется изучению воздействия экзогенных факторов на развитие и течение эндометриоза [1, 6].

Ароматические гидрокарбоны, к которым относятся диоксины и полихлорированные бифенилы, как предполагается, участвуют в развитии эндометриоза. Эти молекулы находятся в окружающей среде: диоксины образуются во время горения органических материалов, являются побочным продуктом промышленных процессов; полихлорированные бифенилы находятся в такой продукции, как электрическое оборудование, краски, пестициды. Действие этих ксенобиотиков опосредовано через взаимодействие с арилгидрокарбоновым рецептором, который является ядерным рецептором и действует как транскрипционный фактор. Кроме того, полихлорированные бифенилы могут, не взаимодействуя с арилгидрокарбоновым рецептором, влиять на активность эстрогенов [3, 5, 7].

Действию этих повреждающих факторов противостоит работа системы биотрансформации ксенобиотиков, дисфункция которой приводит к нарушению антиоксидантной защиты с последующим окислительным стрессом, губительно действующим на клетку, запуская даже процессы канцерогенеза. Ферменты суперсемейства глутатион-S-трансфераз (*GST*) играют ключевую роль в обеспечении защиты от перекисного окисления липидов, свободных радикалов и т.д. Кроме того, они являются внутриклеточными переносчиками билирубина, гормонов, участвуют в синтезе простагландинов [3, 6]. В связи с этим изучение вклада ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков в этиопатогенез генитального эндометриоза, а также оценка эффективности медикаментозного лечения эндометриоза в зависимости от генетических особенностей пациенток представляется актуальным.

Цель исследования — оценить эффективность лечения генитального эндометриоза у женщин репродуктивного возраста в зависимости от полиморфизма генов глутатион-S-трансфераз.

## Материал и методы

В программу исследования были включены 140 пациенток репродуктивного возраста от 19 до 43 лет (средний возраст  $(30,6 \pm 1,2)$  года) с генитальным эндометриозом, госпитализированные в гинекологическую клинику Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) в 2009—2011 гг. для

выполнения лечебно-диагностической и оперативной лапароскопии и гистероскопии. Эндоскопические методы исследования выполняли по стандартной методике с использованием аппаратуры фирмы Karl Storz (Германия). Диагноз «эндометриоз» был поставлен в результате осмотра брюшины и органов малого таза на наличие эндометриоидных очагов в ходе эндоскопических методов исследования с последующим гистологическим подтверждением.

При поступлении в клинику пациентки предъявляли жалобы на бесплодие (средняя продолжительность  $(3,6 \pm 1,1)$  года), которое у 66% пациенток было первичным, а у 34% женщин — вторичным. Кроме того, 74% пациенток жаловались на болевой синдром, 74% — на дисменорею, 38% — на диспареунию, 36% — на нарушение менструального цикла по типу мено- и метроррагии. Наиболее часто (в 85% случаев) во время лапароскопии диагностировались малые формы эндометриоза, в то время как эндометриоидные кисты — в 64%, из них двусторонние в 30% случаев. Частота ретроцервикального эндометриоза не превышала 13%.

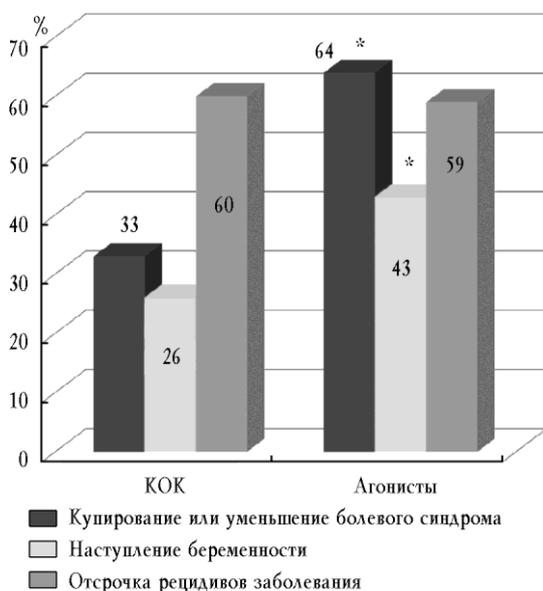
У всех женщин было получено добровольное информированное согласие на забор и использование крови для проведения исследований. Кровь для молекулярно-генетических методов исследования получали из кубитальной вены в стандартных условиях у всех пациенток утром в день операции. Стабилизированные образцы крови хранили при температуре  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  до момента исследования. Выделение ДНК из периферической крови проводили сорбентным методом согласно инструкции, прилагаемой к коммерческому набору «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия). Типирование образцов по генам *GSTT1*, *GSTM1* проводили при помощи аллельспецифической мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Амплификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к коммерческому набору «АмплиСенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф» путем ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе при использовании амплификатора «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия).

Для анализа ассоциации маркеров исследуемого гена с эндометриозом сравнивали частоты аллелей и генотипов в группах женщин, используя критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации

разных генотипов и аллелей с заболеванием судили по величине отношения шансов (odds ratio (OR)) с расчетом для него 95%-й доверительного интервала (CI).

## Результаты и обсуждение

После проведения хирургической коррекции всем пациенткам было назначено медикаментозное лечение эндометриоза: 80% женщин получали комбинированные оральные контрацептивы (КОК), 20% — агонисты гонадотропин-рилизинг-гормонов. Проведенная оценка эффективности лечения позволила установить, что наиболее эффективным методом медикаментозной терапии эндометриоза после хирургической коррекции оказалось назначение агонистов гонадотропин-рилизинг-гормонов (рисунок).



Эффективность медикаментозного лечения пациенток с генитальным эндометриозом: \* — достоверные различия по сравнению с применением комбинированных оральных контрацептивов ( $p \leq 0,05$ )

В настоящее время общепризнанным является комбинированное лечение эндометриоза. Основной этап терапии наружного генитального эндометриоза — хирургическое вмешательство, направленное на максимальное удаление эндометриоидных очагов; второй этап — гормональная терапия, основанная на подавлении функции системы гипоталамус — гипофиз — яичники и способствующая развитию гипотрофических и атрофических процессов в очагах эндометриоза. Для лечения эндометриоза в настоящее время используют-

ся различные гормональные препараты: оральные контрацептивы, андрогены, антигонадотропины, агонисты гонадотропин-рилизинг-гормонов, антиэстрогены, антигестагены [4]. Несмотря на большое количество лекарственных средств, клиническая эффективность лечения эндометриоза относительно невысока. Кроме того, из-за различных побочных эффектов применение этих препаратов может быть ограничено. Поэтому поиск новых точек приложения в терапии эндометриоза представляется весьма актуальным.

На следующем этапе исследования в зависимости от эффективности лечения все обследованные женщины были разделены на две группы. В первую вошли 55 пациенток (39%), медикаментозное лечение которых оказалось эффективным; во вторую группу — 85 женщин (61%), не отметивших улучшений после проведенной терапии.

Анализ частоты распределения вариантных генотипов генов ферментов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков *GSTT1* и *GSTM1* у пациенток с эндометриозом в зависимости от эффективности медикаментозного лечения позволил выявить статистически значимые отличия. Обращала на себя внимание значимо высокая частота встречаемости делеционного генотипа 0/0 генов *GSTT1* и *GSTM1* (80,00%,  $p = 0,005$  и 61,18%,  $p = 0,049$  соответственно) у пациенток с генитальным эндометриозом, лечение которых было неэффективным (таблица).

Частота встречаемости генотипов генов *GSTT1* и *GSTM1* у пациенток с генитальным эндометриозом в зависимости от эффективности лечения, абс. (%)

Ген	Генотип	Пациентки с генитальным эндометриозом		$p \cdot \chi^2$
		Эффективное лечение (55 пациенток)	Неэффективное лечение (85 пациенток)	
<i>GSTT1</i>	+	43 (78,18)	17 (20,00)	$\chi^2 = 2,91$ $p = 0,005$
	0/0	12 (21,82)	68 (80,00)	
<i>GSTM1</i>	+	29 (52,73)	33 (38,82)	$\chi^2 = 3,53$ $p = 0,049$
	0/0	26 (47,27)	52 (61,18)	

Примечание.  $p$  — уровень статистической значимости различий частоты генотипов между группами пациенток с генитальным эндометриозом (эффективное и неэффективное лечение);  $\chi^2$  — стандартный критерий Пирсона для сравнения частоты генотипов.

Ген *GSTT1* кодирует аминокислотную последовательность фермента  $\theta_1$ -глутатион-S-трансферазы, со-

держашегося в эритроцитах и участвующего в очистке организма от многих ксенобиотиков. Ген *GSTM1* кодирует аминокислотную последовательность фермента  $\mu_1$ -глутатион-S-трансферазы, которая играет существенную роль в инактивации электрофильных органических веществ. Наибольшая экспрессия гена *GSTM1* наблюдается в печени, почках и желудке. В случае делеции гена *GSTT1* (частота в популяции 16—25%) и гена *GSTM1* (частота в популяции 40—45%) образуются укороченные белковые продукты без выраженной ферментативной активности, что приводит к дисбалансу глутатионопосредованной биотрансформации ксенобиотиков. В частности, нарушается инактивация эстрогенов и происходит накопление высокоактивных промежуточных метаболитов, лежащих в основе рецидивирования и неэффективного лечения эндометриоза [2, 3, 5—7].

### **Заключение**

Таким образом, эффективность медикаментозной терапии эндометриоза коррелирует с особенностями полиморфизма генов ферментов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков — «функционально неполноценные» генотипы 0/0 *GSTT1* и 0/0 *GSTM1* (OR = 2,17 и OR = 1,89 соответственно) ассоциированы с низкой эффективностью медикаментозного лечения генитального эндометриоза. Целесообразно назначение медикаментозной терапии эндометриоза с учетом особенностей генетического полиморфизма организма пациентки. Тестирование генов второй фазы системы детоксикации может рассматриваться не

только как метод выявления женщин с наследственной предрасположенностью к генитальному эндометриозу, но и как метод прогнозирования результатов эффективности гормонотерапии и выработки стратегии медикаментозной терапии. Ферменты детоксикации являются перспективной терапевтической мишенью и представляют большой интерес для патогенетически обоснованного лечения эндометриоза.

### **Литература**

1. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы. М.: Медицина, 2006. 416 с.
2. Адамян Л.В., Спицын В.А., Андреева В.Н. Генетические аспекты гинекологических заболеваний. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 192 с.
3. Артымук Н.В., Харенкова Е.Л., Иленко Е.В., Гуляева Л.Ф. Полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов у женщин с гиперпластическими процессами в эндометрии в период перименопаузы // Рос. вестн. акушер-гинеколога. 2009. № 2. С. 17—20.
4. Иценко А.И., Кудрина Е.А. Эндометриоз: диагностика и лечение. М.: МИА, 2008. 176 с.
5. Ступко Е.Е., Шенин В.А., Колесникова Л.И. и др. Роль полиморфизмов генов детоксикации ксенобиотиков в развитии миомы матки и эндометриоза // Сиб. мед. журн. 2011. № 5. С. 5—8.
6. Babu K.A., Reddy N.G., Deendayal M. *GSTM1*, *GSTT1* and *CYP1A1* detoxification gene polymorphisms and their relationship with advanced stages of endometriosis in South Indian women // Pharmacogenet Genomics. 2005. V. 15, № 3. P. 167—72.
7. Sung E.H., Ji Y.L., Hye-Sung M. Polymorphisms of the genes encoding the *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* in Korean women: no association with endometriosis // Molecular Human Reproduction. 2005. V. 11, № 1. P. 15—19.

Поступила в редакцию 29.03.2012 г.

Утверждена к печати 09.10.2012 г.

### **Сведения об авторах**

**В.Н. Ткачев** — канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, зав. гинекологической клиникой СибГМУ (г. Томск).

**А.С. Юрченко** — врач-ординатор кафедры акушерства и гинекологии СибГМУ (г. Томск).

**И.Д. Евтушенко** — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии СибГМУ (г. Томск).

**И.О. Наследникова** — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**В.В. Новицкий** — заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**О.И. Уразова** — д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**К.С. Кублинский** — канд. мед. наук, докторант кафедры акушерства и гинекологии СибГМУ (г. Томск).

**П.А. Захарова** — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**Н.С. Меньшикова** — врач-ординатор кафедры акушерства и гинекологии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

*Наследникова Ирина Олеговна*, тел. 8-913-822-3020; e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru