

Агаркова Татьяна Александровна

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ БЕСПЛОДИЯ,
АССОЦИИРОВАННОГО С ЭНДОМЕТРИОЗОМ

14.03.03 – патологическая физиология

14.01.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Доктор медицинских наук

Наследникова Ирина Олеговна

Доктор медицинских наук,
профессор

Евтушенко Ирина Дмитриевна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук,
профессор, главный научный сотрудник
лаборатории патофизиологии
ФГБУ НИИ Фармакологии СО РАМН

Агафонов Владимир Иванович

Доктор медицинских наук, доцент,
профессор кафедры
акушерства и гинекологии ФПК и ППС
ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

Михеенко Галина Александровна

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__»_____2013 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. (634050 г. Томск, ул. Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__»_____2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Петрова И.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Бесплодие является одной из важнейших проблем в гинекологии и относится к состояниям, нарушающим социальную и психологическую адаптацию женщины, влияющим на здоровье и качество жизни [Сухих Г.Т., 2011]. Удельный вес женского бесплодия колеблется в пределах 60-70%. Этиология женского бесплодия весьма разнообразна и мало изучена. Ассоциация эндометриоза с бесплодием отмечается многими исследователями, изучающими данную проблему [Адамян Л.В. и соавт., 2006; Стрижаков А.Н., 2006; Nisolle M., 2007; Ищенко А.И., Кудрина Е.А., 2008; Bulletti C. et al., 2010; Du Y.B. et al., 2012; Fanta M. et al., 2012; Marana R. et al., 2012; Soriano D. et al., 2012].

По данным отечественных и зарубежных ученых, бесплодие при эндометриозе встречается в 30-60% случаев и является одним из основных симптомов проявления данной патологии [Iwabe T. et al., 2002; Allaire C., 2006; Bunting L. et al., 2012; Harris-Glocker M. et al., 2012; Soriano D. et al., 2012; Somigliana E. et al., 2012]. В то же время в обзорах, обобщающих данные о взаимоотношении бесплодия и эндометриоза за последние годы, так и не был дан ответ на вопрос, имеют ли эти состояния четкую причинно-следственную, патогенетически обусловленную связь между собой. Несмотря на важность проблемы и большое количество предположений, однозначного и удовлетворительного объяснения увеличения частоты бесплодия у пациенток с эндометриозом до сих пор не существует. Кроме того, частота наступления беременности у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, после проведения курса лечения не превышает 30-33% [Iwabe T. et al., 2002; Герасимов А. М., 2008; Крутова В.А. и соавт., 2008], что требует углубления исследований и поиска новых стратегий, направленных на повышение эффективности лечения.

В патогенезе генитального эндометриоза важная роль принадлежит нарушениям иммунного гомеостаза, в том числе и генетически обусловленным, предрасполагающим к определенному ответу иммунной системы на формирование эндометриоидных гетеротопий, их инвазию и распространение [Kyama C.M., 2008; Siedentopf F. et al., 2008; Радзинский В.Е. и соавт., 2011]. Дисбаланс в системе цитокинов приводит к поляризации иммунного ответа в сторону Th₂, тем самым предрасполагает к развитию бесплодия, сочетанного с эндометриозом [Podgaec S. et al., 2007, 2010; Khoufache K. et al., 2012].

В последние годы большое внимание уделяется изучению роли цитокинов в механизмах формирования эндометриоидных очагов [Iwabe T., 2002; Hou Z. et al., 2009; Li C.L. et al., 2011; Burney R.O. et al., 2012]. Гены

цитокинов характеризуются наличием одного или нескольких структурных полиморфизмов, которые оказывают влияние на функциональную активность или уровень экспрессии кодируемых белков [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005, Пузырев В.П. и соавт., 2007; Al-Tahhan M.A. et al., 2011; Stille J.A. et al., 2012]. В то же время представляются интересными результаты немногочисленных, но перспективных исследований о возможном участии иммунорегуляторных цитокинов в формировании женского бесплодия без сочетания с эндометриозом [Chaouat G. et al., 2007; Horká P. et al., 2011].

В связи с этим является актуальным анализ аллельного полиморфизма генов иммунорегуляторных цитокинов при бесплодии, ассоциированном с эндометриозом, с целью оценки возможного вклада в патогенез заболевания.

Цель исследования: Установить роль полиморфных вариантов генов иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, и идентифицировать молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к развитию заболевания.

Задачи исследования:

1. Изучить распределение аллельных вариантов генов *IL1B*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IFNG*, *TGFB* среди пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом.
2. Оценить содержание иммунорегуляторных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TGF- β) в сыворотке крови у пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом.
3. Определить ассоциацию полиморфных вариантов генов *IL1B*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IFNG*, *TGFB* с содержанием соответствующих цитокинов в сыворотке крови у пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом.
4. С помощью сравнительного анализа комбинаций вариантных генотипов генов иммунорегуляторных цитокинов установить критерии предрасположенности к развитию бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

Научная новизна. В настоящей работе представлены результаты комплексного анализа роли полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе бесплодия, ассоциированного с генитальным эндометриозом. Охарактеризована распространенность полиморфных вариантов генов цитокинов -511C/T гена *IL1B* (rs16944), -330 T /G гена *IL2* (rs2069762), -590 C /T гена *IL4* (rs2243250), -174G/C гена *IL6* (rs1800795), -592 C/A гена *IL10* (rs1800872), +874A/T гена *IFNG* (rs2340561), -509 C/T гена *TGFB* (rs1800469) у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом.

Зарегистрированы факторы цитокинового дисбаланса: повышение концентрации IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TGF- β при снижении содержания IL-2 в сыворотке крови. Выявлено, что генотипы TT (C-511T) гена *IL1B*, TT (C-590T) гена *IL4*, TT (C-509T) гена *TGFB* ассоциированы с повышенной концентрацией соответствующих цитокинов в сыворотке крови у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом. Выявлена статистическая ассоциация «рисковых» комбинаций полиморфных вариантов генов цитокинов, таких как генотипы CC гена *IL1B* + CC гена *IL4* + GG гена *IL6* + CC гена *IL10* + TT гена *TGFB*; генотипы CT гена *IL1B* + CC гена *IL4* + GG гена *IL6* + CA гена *IL10* + TT гена *TGFB*; генотипы CC гена *IL1B* + CT гена *IL4* + GG гена *IL6* + CC гена *IL10* + CC гена *TGFB* с развитием бесплодия, сопровождающегося генитальным эндометриозом. Носительство комбинаций генотипов CT гена *IL1B* + CT гена *IL4* + CC гена *IL6* + AA гена *IL10* + TT гена *TGFB*, а также генотипов TT гена *IL1B* + TT гена *IL4* + GC гена *IL6* + CA гена *IL10* + CT гена *TGFB* ассоциировано с непроходимостью маточных труб у женщин с бесплодием и эндометриозом.

Практическое и теоретическое значение работы. Получены новые данные фундаментального характера о влиянии полиморфных вариантов генов иммунорегуляторных цитокинов на развитие бесплодия, сочетанного с эндометриозом. Анализ функционального полиморфизма генов иммунорегуляторных цитокинов (*IL1B*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IFNG*, *TGFB*) позволяет глубже проникнуть в молекулярные механизмы бесплодия, сопровождающегося эндометриозом. Основные положения исследования могут служить базисом не только для дальнейшего изучения этиологии и патогенеза бесплодия, сочетанного с эндометриозом, но и для разработки новых подходов к прогнозированию клинического течения и исхода заболевания. Практическая значимость работы состоит в обосновании возможности использования выявленных рискованных сочетаний полиморфных генов цитокинов в диагностике бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

Положения, выносимые на защиту:

1. Бесплодие, сочетанное с эндометриозом, характеризуется увеличением частоты «редких» генотипов TT полиморфизма C-511T гена *IL1B*, TT полиморфного сайта C-590T гена *IL4*, CC полиморфизма G-174C гена *IL6*, AA промоторного региона C-592A гена *IL10* и TT полиморфизма C-509T гена *TGFB*.

2. У пациенток с бесплодием, сопровождающимся эндометриозом, генотип ТТ (С-511Т) гена *IL1B* ассоциирован с повышенным содержанием IL-1 β в сыворотке крови, ТТ (С-590Т) гена *IL4* – с IL-4; ТТ (С-509Т) гена *TGFB* – TGF- β .

3. Комбинации генотипов СС гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*; СТ гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*; СС гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + СС гена *TGFB* определяют повышенный риск сочетания бесплодия и эндометриоза.

4. У женщин с бесплодием и эндометриозом комбинации генотипов СТ гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + СС гена *IL6* + AA гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*, а также генотипов ТТ гена *IL1B* + ТТ гена *IL4* + GC гена *IL6* + СА гена *IL10* + СТ гена *TGFB* ассоциированы с непроходимостью маточных труб.

Реализация и апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на всероссийской научно-практической конференции «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий» (Томск, 2011), межрегиональной научно-практической конференции «Амбулаторно-поликлиническая помощь в акушерстве и гинекологии» (Томск, 2011, 2012), конференции молодых учёных в рамках международной конференции «Тромбофилические аномалии и акушерские кровотечения» (Томск, 2012), 16-ой международной научно-практической конференции «От предположения – к установлению истины» (Кемерово, 2012, 2013), III ежегодной конференции молодых учёных и специалистов «Репродуктивная медицина: взгляд молодых учёных и специалистов» (Санкт-Петербург, 2012), 8-ой международной научно-практической конференции «Динамиката на съвременната наука» (София, 2012), VII Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Dynamika naukowych badań - 2012» (Przemyśl, 2012), VIII Mezinárodní vědecko – praktická conference «Aktuální vymoženosti vědy - 2012» (Praha, 2012), научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых медицинских факультетов государственных университетов России с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины» на английском языке (Сургут, 2012), на научных семинарах кафедр патофизиологии и акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск, 2011-2012).

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

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ, из них – 4 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 6 рисунками и 27 таблицами. Библиографический указатель включает 243 источников, из них – 83 отечественных и 160 зарубежных.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в разработке идеи и планировании исследования, анализировал литературу. В исследовании участвовали 236 пациенток. Во всех случаях было проведено хирургическое лечение лично автором или с его участием. При проведении данного исследования автором самостоятельно выполнены лабораторные методы: иммуноферментный анализ, аллель-специфическая полимеразная цепная реакция. Статистическая обработка полученных данных, обсуждение результатов, оформление основных публикаций по теме диссертации выполнены автором самостоятельно.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для достижения поставленной цели исследования и решения задач было обследовано 236 женщин с бесплодием, находившихся на стационарном лечении в гинекологическом отделении МАУЗ «Родильный дом №4» (зав. отделением – Милешина А.В.), а так же в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (зав. клиникой – 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 женщины на догоспитальном этапе были обследованы согласно стандартизированному протоколу обследования бесплодной пары, разработанному группой экспертов ВОЗ для программ исследований по репродукции человека (протокол № 84914 от 19.02.2007 года).

В МАУЗ «Родильный дом №4» и гинекологическую клинику ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России пациентки поступали на плановую лапароскопию и гистероскопию для уточнения причин бесплодия.

На основании лапароскопической картины и гистологического подтверждения диагноза все обследованные женщины были распределены на две группы: основная группа состояла из 145 пациенток, страдающих

бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом.

Критерии включения в исследование:

- бесплодие;
- репродуктивный возраст (21-40 лет);
- подтвержденный (лапароскопически и гистологически) диагноз наружный генитальный эндометриоз;
- информированное согласие женщины на участие в исследовании.

Контрольная группа состояла из 91 женщины, страдающей бесплодием, у которых по результатам лапароскопии и гистероскопии наружный генитальный эндометриоз был исключен.

Критерии исключения для обеих групп:

- возраст до 21 и после 40 лет;
- хроническая ановуляция;
- другая патология органов малого таза (воспалительные заболевания в фазе обострения, миома матки);
- аномалии развития половых органов;
- мужской фактор бесплодия;
- участие женщины в другом клиническом исследовании;
- тяжелые экстрагенитальные заболевания в стадии декомпенсации;
- онкологические заболевания;
- хромосомные болезни;
- отказ женщины от продолжения исследования.

У всех женщин изучали анамнез, проводили общее и гинекологическое (бимануальное) обследование, ультразвуковое исследование органов малого таза. При изучении анамнеза учитывали длительность бесплодия, наследственный характер эндометриоза, 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 и послеродового периода. Выясняли клинические проявления генитального эндометриоза и проводили оценку интенсивности болей согласно шкале MacLaverty C.M., Shaw R.W. [1995].

Всем женщинам была проведена лапароскопия и гистероскопия с последующим гистологическим исследованием операционного материала. Информация по обследованию женщин (протокол исследования, информированное согласие) и возможных последствиях методов обследования (лапароскопии, взятие крови из локтевой вены утром натощак) были представлены в этический комитет ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава

России. По представленной документации замечаний не было, работа соответствовала требованиям этической экспертизы.

Для исследования полиморфизма генов *IL1B*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IFNG*, и *TGFB* выделение ДНК из периферической крови проводили согласно инструкции, прилагаемой к набору «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия). Исследование полиморфных участков генов цитокинов проводили с использованием аллель-специфической амплификации специфических участков генома. Амплификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к набору «АмплиСенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф» путём полимеразной цепной реакции, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе с применением амплификатора «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия). Было исследовано семь полиморфных вариантов семи генов цитокинов –511С/Т гена *IL1B* (rs16944), Т-330G гена *IL2* (rs2069762), С-590Т гена *IL-4* (rs2243250), –174G/С гена *IL6* (rs1800795), С-592А гена *IL10* (rs1800872), +874А/Т гена *IFNG* (rs2340561), С-509Т гена *TGFB* (rs1800469).

Для оценки уровня IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ и TGF- β в сыворотке крови использовали твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод (ELISA). Процедура выполнения иммуноферментного анализа (ИФА) проводилась по инструкции, предлагаемой производителем тест-систем («Протеиновый контур», Россия; «Biosource», США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных алгоритмов биометрии с помощью программы Microsoft Excel (2007), стандартного пакета программ SPSS® 17.0 for Windows. 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 точный критерий Фишера и χ^2 Пирсона [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]. Для анализа ассоциации исследуемых генов с эндометриозом сравнивали частоты аллелей и генотипов, используя критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. При численностях генотипов менее пяти использовали точный тест Фишера. В дополнение к

этому об ассоциации генотипов (или их комбинаций) с заболеванием судили по величине отношения шансов (OR) [Флейс Дж., 1989].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бесплодие является актуальной проблемой современного общества. Прогрессирующее ухудшение репродуктивного здоровья и демографической ситуации в стране позволяют признать проблему фертильности одним из приоритетных клинических и социальных направлений. Медицинская значимость женского бесплодия определяется необходимостью решения ряда вопросов, связанных со своевременной и правильной диагностикой, повышением эффективности его лечения и профилактики [Кулаков В.И. и соавт., 2001; Bunting L. et al., 2012; Schmidt L. et al., 2012].

Многими исследователями, изучающими данную проблему, отмечается ассоциация бесплодия с эндометриозом [Iwabe T., 2002; Allaire C., 2006; Fanta M. et al., 2012; Koch J. et al., 2012]

В ходе настоящего исследования было установлено, что средний возраст всех обследованных женщин составил $30,22 \pm 0,28$ лет, длительность бесплодия у которых колебалась в пределах от 1 года до 11 лет. Среди женщин без эндометриоза чаще встречалось вторичное бесплодие - 52,7% ($p < 0,05$), а у пациенток с эндометриозом статистически значимо чаще наблюдалось первичное бесплодие, частота которого составляла 67,6% ($p < 0,05$).

В процессе сбора акушерско-гинекологического анамнеза было установлено, что искусственные абортс имели место у 26 (28,6%) женщин, страдающих бесплодием, и у 21 (14,5%) женщины с бесплодием и эндометриозом ($p < 0,05$). В то же время у обследованных женщин статистически значимых различий по количеству самопроизвольных выкидышей в сроках до 12 недель и замерших беременностей в анамнезе выявлено не было. Кроме того, среди женщин с бесплодием и эндометриозом у 21 (14,5%) был отягощенный семейный анамнез по наличию эндометриоза ($p < 0,05$). Оперативные вмешательства на органах малого таза в анамнезе имели 34 (23%) женщины с бесплодием и эндометриозом и 13 (14,3%) пациенток контрольной группы ($p > 0,05$).

При изучении жалоб интересно отметить, что 33,8% женщин с бесплодием и эндометриозом и лишь 1,1% женщин с бесплодием, кроме отсутствия беременности при регулярной половой жизни без контрацепции в течение года и более, предъявляли жалобы на тазовую боль ($p < 0,001$). При этом жалобы на дисменорею и диспареунию были выявлены только у пациенток, страдающих бесплодием, ассоциированным с эндометриозом,

дисменорея встречалась в 35,8% случаев, а диспареуния в 22,8% случаев ($p < 0,001$).

Основным лечебно-диагностическим методом, применяемым нами для диагностики и хирургической коррекции бесплодия, сочетанного с эндометриозом, были лапароскопия и гистероскопия. По результатам лапароскопии у 60 (41,4%) женщин были зарегистрированы эндометриодные кисты яичников, у 45 (31%) – малые формы эндометриоза, а у 40 (27,6%) женщин – сочетание эндометриодных кист яичников и малых форм эндометриоза ($p < 0,05$). Проводилось иссечение эндометриодных очагов и эндометриодных кист яичников. Интраоперационно всем обследованным женщинам выполнялась хромогидротубация, по результатам которой установлено, что у 43 (47%) пациенток контрольной группы и 92 (63,4%) основной группы маточные трубы были непроходимы ($p < 0,05$).

В ходе лапароскопии у всех обследованных женщин был выявлен спаечный процесс органов малого таза различной степени. В группе женщин, страдающих эндометриозом и бесплодием, спаечный процесс наблюдался у 75 (51,72%) женщин, а в группе женщин, имеющих только бесплодие – лишь у 1 (1,1%). При этом у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, чаще были обнаружены первая и вторая степени спаечного процесса (у 24 (16,55%) и 33 (22,76%) пациенток соответственно), третья степень – у 14 (9,65%) и четвертая степень – у 4 (2,76%) женщин ($p < 0,001$). В ходе выполнения гистероскопии у обследованных женщин обеих групп патологии выявлено не было, что подтверждалось результатами гистологического исследования эндометрия.

Анализируя данные литературы, можно сказать, что патогенетическая ассоциация эндометриоза и бесплодия на сегодняшний момент достоверно не раскрыта. Имеются различные данные о возможных механизмах сочетания этих двух состояний. Одной из причин бесплодия при эндометриозе может быть генетически детерминированное нарушение в цитокиновой системе эндометрия, фолликулов яичников, перитонеальной жидкости [Tsuda T. et al., 2000; Iwabe T., 2002; Langebrekke A., 2006; Адамян Л.В., 2006; Nishida M. et al., 2011; Као А.Р. et al., 2011; Sikora J. et al., 2012]. Молекулярно-генетическими методами было установлено, что наличие одного или нескольких структурных полиморфизмов генов цитокинов оказывает влияние на функциональную активность или уровень экспрессии кодируемых белков [Симбирцев А.С., 2005; Al-Tahhan M.A. et al., 2011; Stille J.A. et al., 2012].

В связи с этим представляется актуальным анализ аллельного полиморфизма генов иммунорегуляторных цитокинов при бесплодии в сочетании с эндометриозом и без него (табл. 1).

Таблица 1

Распределение генотипов и аллелей С511Т гена *IL1B*, Т-330G гена *IL2*, С-590Т гена *IL4*, G-174С гена *IL6*, С-592А гена *IL10*, А-874Т гена *IFNG*, С-509Т гена *TGFB* (% , абс.) среди обследованных женщин

Полиморфизм	Генотипы и аллели	Женщины с бесплодием абс (%)	Женщины с бесплодием и эндометриозом, абс (%)	χ^2
С-511Т гена <i>IL1B</i>	СС	63 (69,70)	70 (48,30)*	19,74; p<0,05
	СТ	28 (30,80)	52 (35,90)*	
	ТТ	0 (0)	23 (15,90)*	
	Т	28 (15,40)	98 (33,80)*	19,36; p<0,05
Т-330G гена <i>IL2</i>	ТТ	53 (58,20)	71 (49,00)	3,43; p>0,05
	TG	30 (33,00)	50 (34,50)	
	GG	8 (8,80)	24 (16,60)	
	G	46 (25,30)	98 (33,80)	3,83; p>0,05
С-590Т гена <i>IL4</i>	СС	64 (70,30)	88 (60,70)*	10,23; p<0,05
	СТ	27 (27,90)	42 (29,00)*	
	ТТ	0 (0)	15 (10,30)*	
	Т	27 (14,80)	72 (24,80)*	6,74; p<0,05
G-174C гена <i>IL6</i>	GG	66 (72,50)	69 (47,60)*	18,89; p<0,001
	GC	23 (25,30)	51 (35,20)*	
	CC	2 (2,20)	25 (17,20)*	
	C	27 (14,80)	101 (34,80)*	22,62; p<0,001
С-592А гена <i>IL10</i>	СС	71 (78,00)	70 (48,30)*	87,22; p<0,001
	СА	20 (22,00)	55 (37,90)*	
	АА	0 (0)	20 (13,80)*	
	А	20 (11,00)	95 (32,80)*	28,76; p<0,001
А-874Т гена <i>IFNG</i>	АА	63 (69,20)	98 (67,60)	0,07; p>0,05
	АТ	22 (24,20)	37 (25,50)	
	ТТ	6 (6,60)	10 (6,90)	
	Т	34 (18,70)	57 (19,70)	0,07; p>0,05
С-509Т гена <i>TGFB</i>	СС	57 (62,60)	71 (49,00)*	5,49; p<0,05
	СТ	28 (30,80)	53 (36,60)*	
	ТТ	6 (6,60)	21 (14,50)*	
	Т	40 (22,00)	95 (32,80)*	6,36; p<0,05

Примечание: n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^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; p<0,001.

Проведенный нами анализ позволил установить, что аллель Т полиморфизма С511Т гена *IL1B* являлся фактором риска развития эндометриоза, ассоциированного с бесплодием. Риск развития заболевания увеличивался почти в 3 раза. При этом аллель С обладал протективным эффектом (рис. 1). В литературе не описана связь функционально значимого локуса С511Т гена *IL1B* с развитием бесплодия, сопровождающегося эндометриозом. Однако имеются указания на значимое повышение продукции IL-1В у носителей генотипа ТТ [Al-Tahhan M.A. et al., 2011]. Это подтверждают полученные нами данные о наибольшем уровне цитокина в группе инфертильных пациенток с бесплодием при наличии гомозиготного генотипа по аллелю Т ($p < 0,05$).

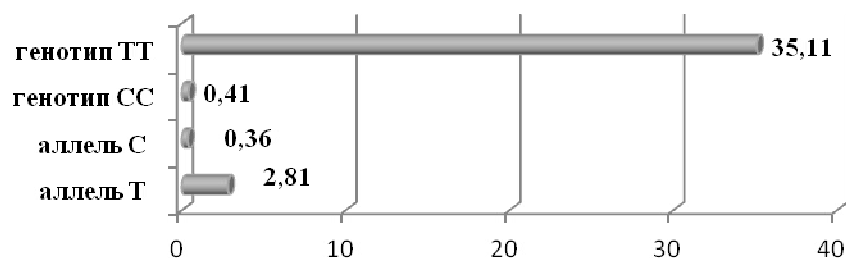


Рис. 1. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей полиморфизма С511Т гена *IL1B*, при $p < 0,05$.

При сравнении распределения генотипов в двух группах пациенток было обнаружено, что у женщин с бесплодием и с бесплодием, сочетанным с эндометриозом, характер распределения генотипов полиморфизма Т-330G гена *IL2* значимо не отличался. При анализе полиморфизма С-590Т гена *IL4* нами были получены следующие результаты. Показана положительная ассоциация генотипа ТТ и аллеля Т с бесплодием, сочетанным с эндометриозом, в то время как генотип СС полиморфизма С-590Т гена *IL4* обеспечивал протекцию в отношении сочетания эндометриоза и бесплодия (рис. 2).

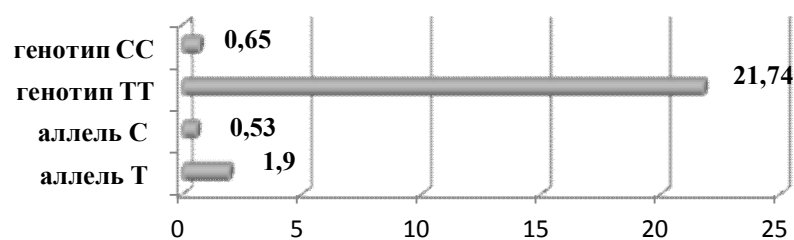


Рис. 2. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена С-590Т *IL4*, при $p < 0,05$.

Так же было установлено, что у женщин с бесплодием и эндометриозом, носителей гомозиготного генотипа ТТ полиморфизма С-590Т гена *IL4*, статистически значимо повышена продукция IL-4 ($p < 0,001$). Основным синергистом IL-4 в реализации негативной цитокиновой регуляции провоспалительных функций иммунокомпетентных клеток является IL-10 [Koss K. et al., 2000; Фрейдлин И.С., 2001]. Данный цитокин продуцируется Т-регуляторными клетками и Th2-лимфоцитами и подавляет продукцию IFN- γ Th1-клетками [Герцог О.А., 2004]. Кроме того, он тормозит пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами IL-1 β , TNF- α и IL-6 [Turner D.M., 1997; Смольникова М.В., 2002]. В то же время IL-10 стимулирует секрецию Ig В-клетками [Кетлинский С.А., 2002; Vasilescu A., 2003; Коненков В.И., 2006].

В ходе исследования была установлена ассоциация риска развития бесплодия при эндометриозе с генотипом АА и аллелем А полиморфного сайта С-592А гена *IL10*. Также был отмечен протективный эффект гомозиготного генотипа по аллелю С данного полиморфизма (рис. 3).

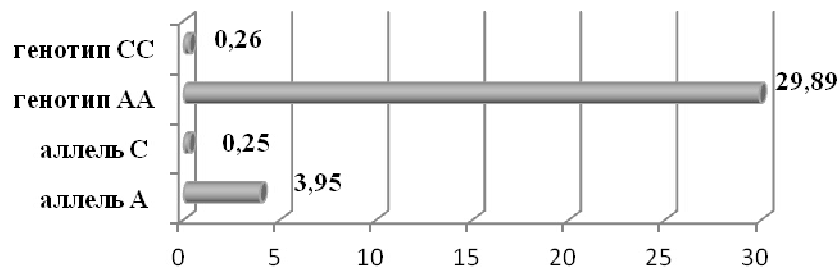


Рис. 3. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена С-592А *IL10*, при $p < 0,001$.

При анализе ассоциации аллельного полиморфизма генов цитокинов с их уровнем в сыворотке крови было зарегистрировано значимое увеличение концентрации IL-10 у женщин с эндометриозом и бесплодием, обусловленное носительством генотипа АА полиморфизма С-592А гена *IL10* ($p < 0,001$). Таким образом, можно предположить, что носительство мутантного генотипа АА и повышение концентрации IL-10 в периферической крови у инфертильных женщин с эндометриозом взаимосвязано.

Антагонистом IL-10 является IFN- γ . Согласно результатам исследования, у больных наружным генитальным эндометриозом было отмечено достоверное повышение содержания интерферона в периферической крови одновременно со снижением способности

лимфоидных клеток к секреции гамма-интерферона [Ярмолинская М. И. и соавт., 2007], и, как следствие, редукция концентрации цитокина в перитонеальной жидкости [Yamamoto Y. et al., 2008]. Однако при анализе распределения генотипов и аллелей полиморфизма генотипа локуса А-874Т гена *IFNG* у инфертильных женщин без эндометриоза и у женщин с бесплодием и эндометриозом статистически значимых различий нами выявлено не было.

Известно, что продуцируемый клетками иммунной системы ИЛ-6 выступает в качестве ко-фактора при дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании и преобразовании в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины [Шевченко А.В. и соавт., 2010]. Он может выступать как провоспалительный, так и противовоспалительный цитокин. В ходе воспалительной реакции последовательно секретируются TNF- α , ИЛ-1 и ИЛ-6. Далее ИЛ-6 начинает подавлять секрецию TNF- α и ИЛ-1, активировать продукцию печенью белков острой фазы воспаления и стимулировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, что способствует регуляции воспалительного процесса [Yannopoulos A. et al., 2007; Кетлинский С.А., 2008; Шевченко А.В. и соавт., 2010]. В промоторной области гена *IL6* находится полиморфный участок G(-174)C, аллель С которого ассоциирован с пониженным уровнем ИЛ-6 в плазме [Fishman D. et al., 1998]. В ходе проведенного нами исследования было установлено значимое увеличение частоты генотипа СС и аллеля С полиморфизма G-174C гена *IL6* у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом. Таким образом, нами было показано, что фактором риска ассоциации бесплодия с эндометриозом являлся аллель С и генотип СС, а защитным эффектом обладал генотип GG локуса G-174C гена *IL6* (рис. 4).

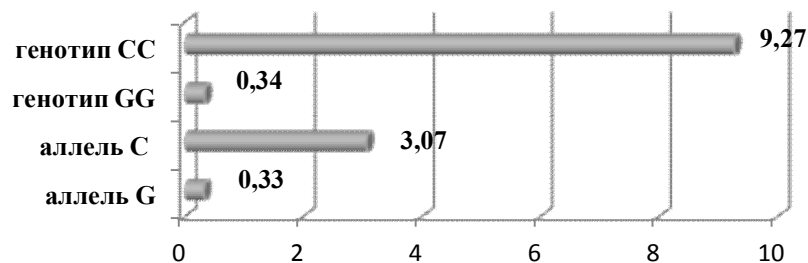


Рис. 4. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена G-174C гена *IL6*, при $p < 0,001$.

Важную роль в развитии иммунного ответа при эндометриозе играет TGF- β . При действии TGF- β на иммунную систему преобладают

ингибирующие эффекты: фактор подавляет гемопоэз, синтез провоспалительных цитокинов, формирование цитотоксических и Т-клеток. В то же время он усиливает синтез белков межклеточного матрикса, способствует заживлению ран, оказывает анаболическое действие. Выключение гена *TGFB* приводит к развитию фатальной генерализованной воспалительной патологии, в основе которой лежит аутоиммунный процесс [Nisolle M., 2007; Ingman W.V. et al., 2009].

В литературе описаны данные о возможной роли в патогенезе эндометриоза $TGF-\beta$: его выработка лимфоцитами брюшины значительно повышается у пациенток с эндометриозом [Podgaec S. et al., 2012], что является результатом замены цитозина на тимин в локусе *C-509T* гена *TGFB* [Kumar V. et al., 2007]. Результаты анализа сайта *C-509T* гена *TGFB* у женщин с бесплодием и эндометриозом показали преобладание гомозиготного генотипа *CC*, в то время как самым редким генотипом был *TT*, аналогичную тенденцию имело распределение частот встречаемости генотипов в группе пациенток, страдающих бесплодием без эндометриоза. По полученным нами данным при носительстве аллеля *T* риск развития бесплодия, сочетанного с эндометриозом, увеличивается в 1,7 раза, а в случае наличия генотипа *TT* локуса *C-509T* гена *TGFB* в 2,4 раза. (рис. 5).

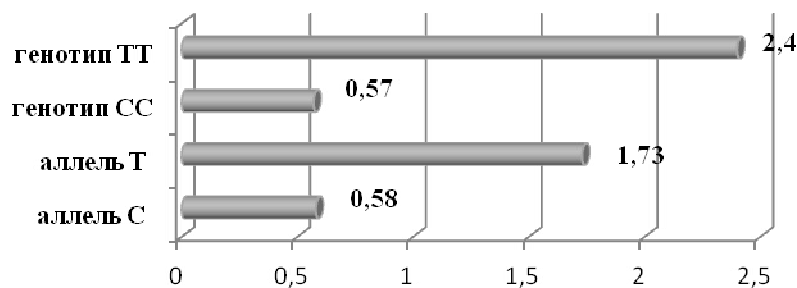


Рис. 5. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена *C-509T* гена *TGFB*, при $p < 0,05$.

Нами была также проанализирована ассоциация аллельного полиморфизма *C-509T* гена *TGFB* с концентрацией соответствующего цитокина в сыворотке крови и выявлено, что содержание цитокина в сыворотке крови статистически значимо выше было у инфертильных женщин с эндометриозом и была обусловлена носительством генотипа *TT* ($p < 0,001$). Установлено, что $TGF-\beta$ является основным медиатором формирования фиброза, с чем связывают возможную роль цитокина в развитии спаечного процесса органов малого таза при бесплодии, сопровождающемся эндометриозом [Harada T. et al., 2001; Iwabe T. et al.,

2002; Chegini N., 2008; Li C.L. et al., 2011].

Полученные нами результаты подтверждают факты, описанные в литературе, результатом которых является супрессия Th1 звена иммунного ответа и пролиферация и инвазия эндометриодных имплантов, что может приводить к развитию infertility. Нами зарегистрирован цитокиновый дисбаланс, проявляющийся повышением IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10 и TGF- β в сыворотке крови у женщин с бесплодием и эндометриозом (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация цитокинов в сыворотке крови у обследованных женщин (пг/мл), Me (Q_{25%} - Q_{75%})

Показатель	Женщины с бесплодием	Женщины с бесплодием и эндометриозом	p
	n=91	n=145	
IL-1b	14,40 (8,13 – 24,88)	44,39 (24,0 – 72,07)	p<0,005
IL-2	35,82 (27,80 – 47,60)	14,49 (11,07 – 17,89)	p<0,005
IL-4	11,00 (8,75 – 15,88)	56,89 (44,0 – 82,80)	p<0,001
IL-6	15,60 (7,87 – 27,72)	63,25 (42,62 – 82,52)	p<0,001
IL-10	11,00 (7,87 – 14,00)	27,00 (20,00 – 37,00)	p<0,005
IFN- γ	45,50 (24,50 – 57,12)	36,45 (22,15 – 50,64)	p>0,05
TGF- β	590,54 (515,54 – 687,75)	874,60 (748,50– 1050,00)	p<0,005

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 (Q₁ – Q₃), где Q₁ – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль, Q₃ – 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<0,005; p<0,001; p<0,05.

Отдельные аллельные варианты генов цитокинов малоинформативны для прогнозирования развития эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия, тогда как анализ их комбинаций может дать более полноценный

индивидуальный прогноз. Нами был проведен анализ сочетаний генотипов полиморфизма С511Т гена *IL1B*, полиморфизма С-590Т гена *IL4*, полиморфизма G-174С гена *IL6*, полиморфизма С-592А гена *IL10*, полиморфизма С-509Т гена *TGFB*, в результате которого мы определили протекторные, предрасполагающие и интактные комбинации к развитию инфертильности, сопровождающейся эндометриозом. Ввиду того, что статистически значимых различий в распределении генотипов полиморфных вариантов полиморфизма Т-330G гена *IL2* и полиморфизма А-874Т гена *IFNG* у обследованных женщин получено не было, мы не включили в анализ сочетаний полиморфных маркеров данные показатели (табл. 3).

Таблица 3

Рисковые комбинации полиморфных вариантов генов С511Т гена *IL1B*, С-590Т гена *IL4*, G-174С гена *IL6*, С-592А гена *IL10*, С-509Т гена *TGFB*, у женщин с бесплодием и эндометриозом

Комбинации генотипов	OR (CI95%)
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBTT	9,931 (1,176 – 83,875)
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	20,854 (4,758 – 91,409)
IL1BCC+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBCC	2,281 (2,02 – 2,146)

Примечание здесь и в табл. 4: Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при $p < 0,05$; $\chi^2 = 16,18$; $\chi^2 = 13,1$ соответственно. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом

Кроме того, нам удалось определить рисковые комбинации генотипов в отношении развития трубного фактора бесплодия у пациенток с инфертильностью, сочетанной с эндометриозом (табл. 4).

Таблица 4

Рисковые комбинации полиморфных вариантов С511Т гена *IL1B*, С-590Т гена *IL4*, G-174С гена *IL6*, С-592А гена *IL10*, С-509Т гена *TGFB* у женщин с непроходимыми маточными трубами

Комбинации генотипов	Женщины с бесплодием	Женщины с бесплодием и эндометриозом	OR (95% CI)
	n=43	n=92	
IL1BCT+IL4CT+ IL6CC+IL10AA+ TGFBTT	0	4	7,50 (2,14-40,17)
IL1BTT+IL4TT+ IL6GC+ IL10CA+TGFBCT	1	5	5,90 (1,81 – 20,93)

Примечание здесь: n – количество человек в группе. Статистически значимые различия считали при $p < 0,05$; $\chi^2 = 11,18$; $\chi^2 = 19,1$ соответственно.

Таким образом, бесплодие, ассоциированное с эндометриозом, характеризуется выраженными сдвигами в системе цитокинов, которые приводят к изменениям, предрасполагающим к развитию бесплодия. Известно, что повышение содержания IL-1 в перитонеальной жидкости влечет за собой нарушение процессов оплодотворения [Garrido N. et al., 2000], снижение концентрации IL-2 и увеличение IL-6, TGF- β в сыворотке крови и перитонеальной жидкости оказывают иммобилизирующий эффект на сперматозоиды [Faber V.M. et al., 2001], а увеличение IL-6 и TGF- β нарушают процессы имплантации [Singh M. et al., 2011]. Кроме того высокие концентрации IL-6 вызывают эмбриотоксический эффект [Крутова В.А., 2008] (рис.6).

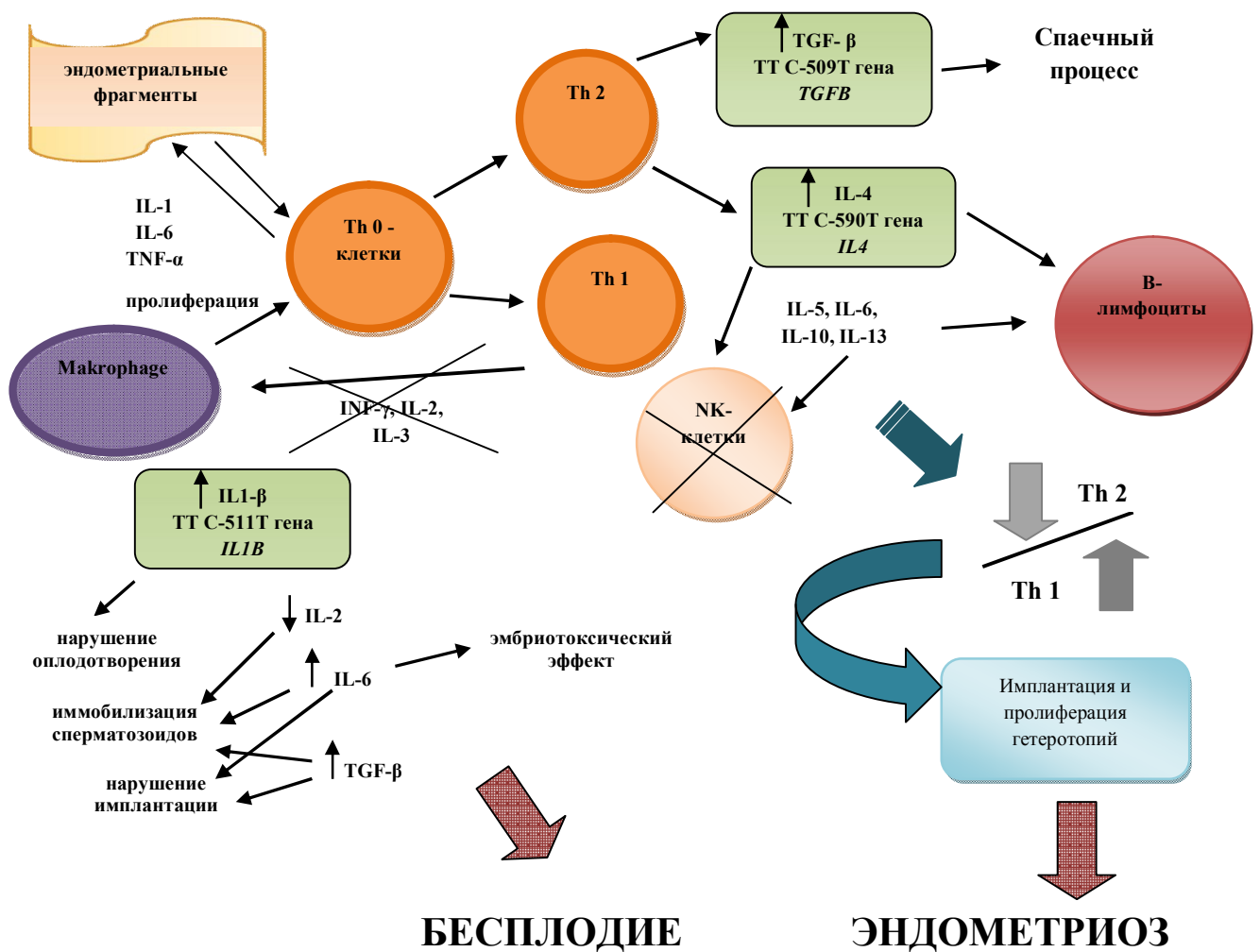


Рис. 6. Иммунопатогенез бесплодия, ассоциированного с эндометриозом (по данным Garrido N. et al., 2000; Faber V.M. et al., 2001; Крутова В.А., 2008; Singh M. et al., 2011; Roger A. Lobo, 2012 и результатам собственных исследований). В зелёных рамках приведены результаты собственных исследований.

Нами определен вклад как отдельных генных полиморфизмов, так и их сочетаний в увеличении рисков развития инфертильности в

сочетании с наружным генитальным эндометриозом. Проведенное исследование распределения генетических полиморфизмов у больных бесплодием, сочетанным с эндометриозом, выявило значимость вариантных генотипов генов иммунорегуляторных цитокинов в формировании предрасположенности к развитию бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, и, сочетанного с ним, трубного фактора бесплодия.

Выводы:

1. У женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, преобладают генотипы ТТ полиморфизма С-511Т гена *IL1B*, ТТ полиморфного сайта С-590Т гена *IL4*, СС полиморфизма G-174C гена *IL6*, АА промоторного региона С-592А гена *IL10* и ТТ полиморфизма С-509Т гена *TGFB*.
2. Течение бесплодия, сопровождающегося эндометриозом, сопряжено с повышением концентрации IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10 и TGF- β при снижении содержания IL-2 в сыворотке крови.
3. У женщин с бесплодием и эндометриозом повышенное содержание IL-1 β в сыворотке крови ассоциировано с генотипом ТТ (С-511Т) гена *IL1B*, IL-4 – с ТТ (С-590Т) гена *IL4*; TGF- β – с ТТ (С-509Т) гена *TGFB*. Концентрация IL-2, IL-6 и IL-10 не связана с аллельным полиморфизмом генов *IL2* (Т-330G), *IL6* (G-174C) и *IL10* (С-592А).
4. Сочетание эндометриоза и бесплодия статистически ассоциировано с тремя рисковыми комбинациями генотипов полиморфных вариантов генов: СС гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*; СТ гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*; СС гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + СС гена *TGFB*.
5. Сочетание генотипов СТ гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + СС гена *IL6* + АА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB* и ТТ гена *IL1B* + ТТ гена *IL4* + GC гена *IL6* + СА гена *IL10* + СТ гена *TGFB* значимо чаще встречается у женщин с бесплодием, сопровождающимся эндометриозом и поражением маточных труб.

Практические рекомендации:

1. К фактором риска нарушения репродуктивной функции у женщин с наружным генитальным эндометриозом можно отнести носительство рисковыми комбинации генотипов СС гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*; СТ гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*; СС гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + СС гена *TGFB*.

2. Выявленные рискованные комбинации генотипов позволят оптимизировать подход к обследованию женщин с бесплодием на этапе первичного обращения с целью определения дальнейшей тактики ведения пациенток в пользу применения вспомогательных репродуктивных технологий.

Список работ опубликованных по теме диссертации:

1. **Неудачи лечения бесплодия, ассоциированного с эндометриозом: иммуногенетические аспекты / Агаркова Т.А., Евтушенко И.Д., Кублинский К.С., Ткачев В.Н., Наследникова И.О., Новицкий В.В., Скороходова М.Г. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 3 (132). – С. 12-16.**
2. **Полиморфизм гена IL4 как маркер эндометриоз-ассоциированного бесплодия / Агаркова Т.А., Меньшикова Н.С., Кублинский К.С., Наследникова И.О., Евтушенко И.Д. // Материалы за 8-а международна научна практична конференция «Динамиката на съвременната наука», г. София. – 2012. – Том 10.– С. 7-10.**
3. **Функциональный полиморфизм генов интерлейкинов при бесплодии, ассоциированном с генитальным эндометриозом / Агаркова Т.А., Кублинский К.С., Евтушенко И.Д., Наследникова И.О. // Врач-аспирант. - 2012. - №6.2 (55). – С. 298-304.**
4. **Полиморфные варианты генов IL2, IL4 при эндометриоз-ассоциированном бесплодии / Агаркова Т.А., Меньшикова Н.С.// Материалы III ежегодной конференции молодых учёных и специалистов «Репродуктивная медицина: взгляд молодых учёных и специалистов», Санкт-Петербург. – 2012. – С. 3.**
5. **Функциональный полиморфизм гена IL2 при бесплодии, ассоциированном с генитальным эндометриозом / Агаркова Т.А., Наследникова И.О., Евтушенко И.Д., Кублинский К.С. // Materiály VIII mezinárodní vědecko – praktická conference «Aktuální vymoženosti vědy - 2012». – Díl 16. Lékařství. Praha, 27 června – 05 červenců 2012 roku.**
6. **Immune-genetics markers of genital endometriosis / Menshikova N.S., Kublinskiy K.S., Agarkova T.A., Evtushenko I.D., Novitskiy V.V., Tkachev V.N., Naslednikova I.O.// International Journal of Advanced Studies (ISSN 2227-930X Online). – 2012. – Vol. 2. – NO. 1. www.ijournal-as.com**
7. **Infertility, associated with endometriosis, therapy: immunogenotypic parallels / Agarkova T.A., Kublinskiy K.S., Evtushenko I.D., Novitskiy V.V., Tkachev V.N., Naslednikova I.O., Skorohodova M.G. // International Journal of**

Advanced Studies (ISSN 2227-930X Online). - 2012. - Vol. 2. – NO. 1.
www.ijournal-as.com.

8. Иммуногенетические аспекты генитального эндометриоза: роль аллельного полиморфизма гена IL10 / Меньшикова Н.С., Кублинский К.С., Ткачѳв В.Н., *Агаркова Т.А.*, Евтушенко И.Д., Новицкий В.В., Наследникова И.О. // *Materialy VII Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Dynamika naukowych badań - 2012»*. Medycyna.: Przemśl. Nauka i studia – 2012. – Vol. 17. – P. 3-6.

9. Иммуногенетические маркеры генитального эндометриоза / Кублинский К.С., Меньшикова Н.С., *Агаркова Т.А.*, Евтушенко И.Д., Новицкий В.В., Наследникова И.О., Шперлинг Н.В., Шперлинг И.А. // *Клиническая патофизиология*. – 2012. – № 1-2-3. – С. 91-95.

10. **Полиморфизм генов цитокинов при бесплодии, ассоциированном с эндометриозом / *Агаркова Т.А.*, Кублинский К.С., Меньшикова Н.С., Наследникова И.О., Евтушенко И.Д., Агаркова Л.А., Новицкий В.В. // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – Ч. 2. – № 8. – С. 265-270.**

11. **Полиморфизм гена TGFB при эндометриоз-ассоциированном бесплодии / *Агаркова Т.А.* // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – Ч. 2. – №3. – С. 241-244.**

Список использованных сокращений

а.о. – аминокислотные остатки

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ИФА – иммуноферментный анализ

п.н. – последовательности нуклеотидов

п.о. – пар оснований

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ПЦР – полимеразная цепная реакция

CD – антигены кластеров дифференцировки клеток

HLA – человеческий лейкоцитарный антиген

IFN – интерферон

Ig - иммуноглобулин

IL – интерлейкин

NK – натуральные киллеры

NO – оксид азота

SNP (single-nucleotide polymorphism) – полиморфизм единичных нуклеотидов

TGF – трансформирующий фактор роста

Th – Т-хелпер

TNF – фактор некроза опухоли

