

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

На правах рукописи

Агаркова Татьяна Александровна

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ БЕСПЛОДИЯ,
АССОЦИИРОВАННОГО С ЭНДОМЕТРИОЗОМ

14.03.03 – патологическая физиология

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

И.О. Наследникова

доктор медицинских наук,

профессор И.Д. Евтушенко

Томск - 2013

СОДЕРЖАНИЕ

Список использованных сокращений	4
Введение	5
Глава 1. Обзор литературы	11
1.1. Современные представления о бесплодии	11
1.1.1. Классификация бесплодия	12
1.1.2. Этиология бесплодия	13
1.2. Бесплодие и эндометриоз	14
1.2.1. Клинические проявления эндометриоза	15
1.2.2. Этиология и патогенез бесплодия, сочетанного с эндометриозом	20
1.2.3. Иммунопатогенез бесплодия, сочетанного с эндометриозом	24
1.3. Современные представления о системе цитокинов	29
1.3.1. Структурные основы функционального полиморфизма генов цитокинов	37
1.3.2. Связь полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов с развитием заболеваний	42
Заключение	46
Глава 2. Материал и методы исследования	47
2.1. Лапароскопия, гистероскопия, гистологическое исследование операционного материала	50
2.2. Материал исследования	51
2.3. Методы исследования	51
2.3.1. Выделение ДНК	51
2.3.2. Исследование полиморфизма генов цитокинов [Кофиади И.А., 2006]	52
2.3.3. Иммуноферментный анализ для оценки уровня цитокинов в	55

сыворотке крови	
2.4. Статистическая обработка результатов	57
Глава 3. Результаты собственных исследований	59
3.1. Общая характеристика женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	59
3.2. Акушерско-гинекологический анамнез женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	61
3.3. Жалобы женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	63
3.4. Результаты лапароскопического и гистероскопического исследования женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	64
3.5. Распределение аллельных вариантов и генотипов генов <i>IL1B</i> , <i>IL2</i> , <i>IL4</i> , <i>IL6</i> , <i>IL10</i> , <i>IFNG</i> , <i>TGFB</i> среди женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	65
3.6. Содержание цитокинов в сыворотке крови у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	71
3.7. Ассоциированность аллельного полиморфизма генов цитокинов с их уровнем в сыворотке крови у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	72
3.8. Комбинации полиморфных вариантов генов цитокинов у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом	80
3.9. Ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с наличием трубного фактора у женщин с бесплодием	95
Глава 4. Обсуждение результатов исследования	97
Выводы	114
Практические рекомендации	115
Список литературы	116

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

Введение

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; Stillely 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 СТ гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + СС гена *IL6* + АА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB*, а также генотипов ТТ гена *IL1B* + ТТ гена *IL4* + GC гена *IL6* + СА гена *IL10* + СТ 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 ТТ полиморфизма С-511Т гена *IL1B*, ТТ полиморфного сайта С-590Т гена *IL4*, СС полиморфизма G-174С гена *IL6*, АА промоторного региона С-592А гена *IL10* и ТТ полиморфизма С-509Т 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 *CC* гена *IL1B* + *CC* гена *IL4* + *GG* гена *IL6* + *CC* гена *IL10* + *TT* гена *TGFB*; *CT* гена *IL1B* + *CC* гена *IL4* + *GG* гена *IL6* + *CA* гена *IL10* + *TT* гена *TGFB*; *CC* гена *IL1B* + *CT* гена *IL4* + *GG* гена *IL6* + *CC* гена *IL10* + *CC* гена *TGFB* преопределяют повышенный риск сочетания бесплодия и эндометриоза.

4. У женщин с бесплодием и эндометриозом комбинации 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* 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 «Динамика на съвременната наука» (София, 2012), VII Międzynarodowej naukowí-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, четырёх 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.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Современные представления о бесплодии

Прогрессирующее ухудшение репродуктивного здоровья и демографической ситуации в мире и России позволяют признать проблему фертильности одним из приоритетных клинических и социальных направлений [Кулаков В.И. и соавт., 2001; Alaina B. et al., 2007; Ермошенко Б.Г., 2009; Сухих Г.Т., 2011].

Согласно данным Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, статистика бесплодных пар в России в 2010 году превысила отметку в 15%. По исследованиям Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), это количество является критическим [<http://www.rosminzdrav.ru>]. Согласно данным ВОЗ, около 100 млн. супружеских пар бесплодны, и их число с каждым годом увеличивается: за период с 2009 по 2011 гг. в большинстве развивающихся стран одна из четырех когда-либо состоявших в браке женщин репродуктивного возраста страдала бесплодием [<http://who.int.ru>].

Бесплодие представляет собой важную проблему в гинекологии, которая приводит к нарушению качества жизни и здоровья женщины. Бесплодие, согласно определению ВОЗ (1993) – это отсутствие беременности у женщины в течение года и более при регулярной половой жизни (половые контакты не реже 1 раза в неделю) без использования средств и методов контрацепции [<http://who.int.ru>].

Причиной бесплодия могут быть нарушения в половой системе у одного или обоих супругов. Бесплодие в 45% случаев связано с нарушениями в половой сфере у женщины, в 40% – у мужчины, в остальных случаях бесплодие обусловлено нарушениями у обоих супругов [Савельева Г.М., 2005]. Следовательно, бесплодие представляет собой социально-психологическую, биологическую и медицинскую проблему. В социальном плане бесплодие обуславливает общее снижение рождаемости в стране, уменьшение народонаселения и трудовых ресурсов. Социально-

психологический аспект выражается в целом ряде негативных сторон человеческой жизни: личных душевных переживаниях, семейных конфликтах, увеличении случаев девиантного поведения, ощущения неполноценности личности. Немалый процент неустойчивых браков и их расторжение обусловлены отсутствием детей. Нереализованная репродуктивная функция женщины лежит в основе биологической составляющей инфертильности. Поэтому важным разделом медицинской стороны проблемы является организация и проведение в широком государственном масштабе истинной профилактики бесплодия в браке [<http://www.rosminzdrav.ru/social/social/146a>].

Таким образом, сохранение и восстановление репродуктивного здоровья является важнейшей медико-социальной задачей государственного значения.

1.1.1. Классификация бесплодия

На современном этапе развития медицинской науки существует несколько классификаций бесплодия. Первичным оно является в случае отсутствия беременностей в анамнезе женщины; вторичным называется, если до возникновения бесплодия у женщины были беременности, закончившиеся родами, искусственными абортами, выкидышами, замершими или внематочными беременностями. По половому признаку бесплодие разделяется на мужское и женское. Также бесплодие по времени возникновения может быть врожденным и приобретенным [Кулаков В.И. и соавт., 2001; Akhter S. et al., 2011; McLaren J.F., 2012].

Согласно данным литературы, выделяются следующие варианты нарушения репродуктивной функции у женщин: 1) трубное бесплодие; 2) эндокринное бесплодие, обусловленное расстройствами в деятельности системы желез внутренней секреции; 3) бесплодие, вызванное анатомическими нарушениями в области влагалища и матки; 4) иммунологическое бесплодие, сформированное вследствие сенсибилизации

женского организма [Крутова В.А. и соавт., 2005; Lobo R.A. et al., 2012]. Также выделяют группы больных с «необъяснимой» инфертильностью, когда явные причины нарушения репродуктивной системы установить не удалось. [<http://who.int.ru>].

Следует отметить, что инфертильность требует от врача обширных знаний не только в области гинекологии и андрологии, но и в вопросах эндокринологии, патофизиологии, генетики, иммунологии, неврологии, психологии, сексопатологии. Однако первостепенной задачей остается оценка состояния репродуктивной системы пациента и выявление ключевых этиологических факторов бесплодия.

1.1.2. Этиология бесплодия

К основным этиологическим факторам развития инфертильности относят:

1) врожденные причины: хромосомные аномалии, болезнь поликистозных яичников, аденогенитальный синдром, аномалии развития гениталий;

2) острые и хронические инфекции: грипп, ревматизм, краснуха, эпидемический паротит, тонзиллит;

3) органические и функциональные поражения центральной нервной системы: эмоциональное и психическое перенапряжение, опухоли, травмы, сосудистые нарушения;

4) кровотечения в родах или во время абортов;

5) хронические воспалительные процессы в малом тазу;

6) патология других эндокринных органов: надпочечников, щитовидных желез, поджелудочной железы [Савельева Г.М. и соавт., 2005].

В рамках специальной программы ВОЗ по репродукции человека (1987) было выделено 22 фактора, способных обусловить бесплодие женщины: сексуальная дисфункция, гиперпролактинемия, органические

нарушения гипоталамо-гипофизарной области, аменорея с повышенным уровнем фолликулостимулирующего гормона, аменорея с нормальным уровнем эстрадиола, аменорея со сниженным уровнем эстрадиола, олигоменорея, нерегулярный менструальный цикл/ановуляция, ановуляция с регулярным циклом, врожденные аномалии развития половых органов, двусторонняя непроходимость маточных труб, спаечный процесс в малом тазу, приобретенная патология матки и шейки, приобретенные нарушения проходимости маточных труб, приобретенные поражения яичников, туберкулез половых органов, ятрогенные факторы, системные болезни, отрицательный посткоитальный тест, неустановленные причины и эндометриоз [<http://who.int.ru>].

Сочетание эндометриоза с бесплодием отмечается многими авторами, изучающими данную проблему [Iwabe T., 2002; Allaire C., 2006; Герасимов А.М., 2008; Крутова В.А., 2008; Fanta M. et al., 2012; Koch J. et al., 2012]. Однако в обзорах, обобщающих данные последних лет о взаимоотношении инфертильности и эндометриоза четкого, объяснения наличия причинно-следственной связи между этими состояниями нет.

1.2. Бесплодие и эндометриоз

Современные исследования свидетельствуют о том, что от 25 до 50% женщин, страдающих бесплодием, имеют эндометриоз. При этом 9-50% пациенток во время лапароскопии по поводу бесплодия был поставлен диагноз генитальный эндометриоз [Missmer S.A. et al., 2004; Macer M.L. et al., 2012]. По результатам других исследователей, генитальный эндометриоз встречается в 6-8 раз чаще у женщин, страдающих бесплодием, чем у фертильных. Эндометриоз встречается также в 1-7% случаев у пациенток, подвергшихся стерилизации маточных труб [Endometriosis and infertility: a committee opinion: the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2012]. Согласно еще одним данным, сочетание

эндометриоза с бесплодием имело место у 30-45% женщин [Lentz G.M. et al., 2012].

Коэффициент фертильности (отношение числа рождений к численности женщин репродуктивного возраста) при генитальном эндометриозе составляет 0,02-0,10, тогда как у здоровых женщин он равен 0,15-0,20 [Корсак, В.С. и соавт., 2006].

До сих пор не установлено однозначное объяснение увеличения частоты бесплодия у пациенток с эндометриозом. В то же время у женщин с инфертильностью, сочетанной с эндометриозом, наступление беременности после проведения курса лечения происходит в 30-33% [Крутова В.А. и соавт., 2008; Senapati S. et al., 2011], в связи с чем существует необходимость поиска новых методов, позволяющих повысить результативность лечения.

1.2.1. Клинические проявления эндометриоза

Эндометриоз – доброкачественное, но во многих случаях быстро прогрессирующее и агрессивное гинекологическое заболевание. Множество клинических проблем связано с генитальным эндометриозом. Впервые эндометриоз был описан в 1860 году, однако до настоящего момента многие аспекты болезни остаются до конца не изученными. По мнению различных авторов, эндометриоз – генетически детерминированное, хроническое, дисгормональное, иммунозависимое заболевание с доброкачественным разрастанием ткани, идентичной по морфологическому строению и функции эндометрию, за пределами слизистой оболочки матки [Адамян Л.В., и соавт., 2006; Nisolle M. et al., 2007; Ищенко А.И. и соавт., 2008; Faicone T. et al., 2011; Okeke T.C. et al., 2011; Marana R. et al., 2012].

Считается, что рост заболеваемости эндометриозом наблюдается с 1980-х годов прошлого столетия. Однако этот показатель можно считать относительным, так как он связан с развитием и широким внедрением в гинекологическую практику лапароскопии, которая позволяет быстро и

достоверно поставить диагноз генитального эндометриоза, а также выявить малые формы патологии, что является наиболее сложной задачей. Так, например, до развития лапароскопических технологий диагностика данного заболевания могла занимать от 8 до 11 лет [Lobo R.A., et al., 2012].

По данным различных исследований, распространенность генитального эндометриоза среди женского населения колеблется от 6 до 10%. Достаточно часто эндометриоз является интраоперационной находкой: примерно в 5-15% лапаротомий, проведенных женщинам репродуктивного возраста, обнаруживается данная патология [Waller K.G. et al., 1993; Lobo R.A., et al., 2012].

Согласно результатам, полученным G.M. Lentz с коллегами [2012], эндометриоидные гетеротопии были обнаружены у 33% женщин с хронической тазовой болью. Известно, что в 17-29% случаев заболевание разрешалось спонтанно, в 24-64% отмечалось прогрессирование, а в 9-59% изменений не происходило.

Клинические проявления генитального эндометриоза характеризуются выраженным полиморфизмом и определяются возрастом больных, локализацией эндометриоидных гетеротопий и площадью поражения, длительностью течения заболевания, наличием сопутствующей генитальной и экстрагенитальной патологии [Бурлеев В.А., 2001; Баскаков В.П., 2002; Пересада О.А., 2009].

Согласно результатам исследования Л.В. Адамян и соавт. [2006], среди обследованных пациенток с генитальным эндометриозом большинство женщин (71%) находилось в раннем репродуктивном возрасте (19-35 лет), 20% – в позднем репродуктивном возрасте (36-45 лет) и лишь 8% больных – в возрасте старше 45 лет. Возраст менархе в среднем составлял 11-13 лет, менструальный цикл колебался в пределах 27-30 дней с длительностью менструального кровотечения 3-7 дней.

Как правило, основные симптомы генитального эндометриоза – бесплодие, боли внизу живота различной интенсивности, дисменорея,

диспареуния, меноррагия. Однако в 20-25% это заболевание протекает бессимптомно [Bulletti С., 2010].

По данным С.М. MacLavery, R.W. Shaw [1995], бесплодие при эндометриозе наблюдается в 30-40% случаев, тазовая боль – в 30-50%, дисменорея – в 60-80%, диспареуния – в 25-40%, нерегулярность менструаций – в 10-20%, циклическая дизурия/гематурия – в 1-2%, циклические кровотечения из прямой кишки – в менее 1% случаев.

Одной из частых причин обращения больных за врачебной помощью является бесплодие. Бесплодие при эндометриозе обусловлено нарушением транспортной функции маточных труб, функциональных взаимосвязей в системе гипоталамус-гипофиз-яичники, развитием аутоиммунной реакции, перитонеальным фактором (периовариальные спайки и сращения), нарушением половой функции (диспареуния) [Баскаков В.П. и соавт., 2002].

Согласно мнению некоторых авторов, в 30-80% случаев тазовая боль сопровождается эндометриозом [Endometriosis and infertility: a committee opinion: the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2012]. По другим данным генитальный эндометриоз является причиной тазовой боли у 50-60% женщин и девочек-подростков с тазовой болью, охватывая период времени от менархе до пременопаузы [Giudice L.N., 2010].

Боль при эндометриозе может иметь различный характер: от резкой приступообразной боли до тупой в глубине таза. Иррадиация боли также может быть различна: во влагалище, прямую кишку, поясничную область, промежность, нижнюю конечность. Боль может усиливаться накануне или во время менструации (дисменорея), а также при половых актах (диспареуния). Наиболее часто женщины предъявляют жалобы на альгоменорею (59%) или боль, не связанную с менструацией (52%) [Адамян Л.В. и соавт., 2006].

По данным литературы установлено, что при аденомиозе альгоменорея встречается в 71% случаев. Ноющую боль внизу живота, не связанную с менструацией, чаще всего отмечают больные с эндометриоидными кистами

яичников (56%), а также при сочетании эндометриoidных кист яичников и эндометриоза брюшины (59%). Боль в области поясницы и крестца, а также диспареуния преобладают при ретроцервикальном эндометриозе [Адамян Л.В. и соавт., 2006]. В более чем 95% случаев выраженный болевой синдром ассоциирован с глубоким эндометриозом, который встречается в 1-2% случаев [Koninckx P.R. et al., 2012].

Механизм болей при эндометриозе описан С.М. Mac Laverly, R.W. Shaw [1995] и заключается в следующем:

- имплантация в брюшину жизнеспособных клеток эндометрия вызывает воспалительную реакцию с выделением различных медиаторов воспаления и боли;
- глубокая инфильтрация приводит к поражению тканей и нервов;
- разрыв эндометриомы вызывает острую боль; формирование отверстия в эндометриоме способно вызвать эпизод хронической боли, которая может продолжаться до тех пор, пока оно не закроется новым слоем поверхностного эндометриоза;
- образование рубцов приводит к возникновению болей при смене положения тела, физической нагрузке, вследствие натяжения тканей и органов;
- фиксация матки в ретропозиции, а также рубцовые изменения крестцово-маточных связок вызывают боли при половом акте;
- фиксация кишечника спайками обуславливает кишечные боли.

Имеются сведения о том, что в перитонеальных очагах у женщин с подтвержденным диагнозом «эндометриоз», особенно в секреторной фазе цикла, обнаруживается более высокая плотность мелких немиелинизированных нервных волокон, чем у женщин без эндометриоза [Tokushige N. et al., 2007; Al-Jefout M. et al., 2009; Vokor K.C. et al., 2009]. Таким образом, собственная иннервация создает прямое и двустороннее взаимодействие между поражениями и центральной нервной системой, что обеспечивает механизм, при котором динамически и гормонально

чувствительная нервная система, оказывается вовлеченной в процессы восприятия и передачи боли, а это приводит к индивидуальным различиям характеристик боли, которая у части женщин может стать независимой от заболевания как такового [Stratton P., Berkley K.J., 2011]. В перитонеальной жидкости помимо общеизвестных факторов, продуцируемых активированными макрофагами и другими клетками в функционально активных очагах (факторов роста и цитокинов), обнаруживаются также нейрональный маркер PGP9.5 (protein gene product 9.5) и многие аллогенные вещества: субстанция P, вазоактивный интерстициальный полипептид, нейрофиламент, нейропептид Y и другие. В каждом конкретном случае может быть задействован один или более из вышеуказанных механизмов формирования боли [Чернуха Г.Е., 2011].

Как правило, болевой синдром сопровождается астеническим синдромом, ухудшением настроения, снижением работоспособности, депрессией, что, безусловно, оказывает негативное воздействие на качество жизни. Причем количество психоэмоциональных нарушений имеет прямую зависимость от степени тяжести болевого синдрома. Согласно литературным данным, все пациентки с тяжелой степенью болевого синдрома в 100% случаев отмечали эмоциональную лабильность, снижение работоспособности, раздражительность, вспыльчивость. Все названные психоэмоциональные проблемы наблюдались более чем в 80% случаев при средней степени болевого синдрома, а при легкой степени болевого синдрома – в 30,6% [Макаренко Л.В. и соавт., 2012].

У больных эндометриозом отмечаются сопутствующие экстрагенитальные заболевания, в том числе инфекционного характера; характерна высокая частота перенесенных гинекологических заболеваний; наблюдается нарушение репродуктивной функции в виде первичного или вторичного бесплодия, самопроизвольных абортов, отсутствие должного эффекта от проводимой ранее противовоспалительной и гормональной терапии, выясняется наличие у ближайших родственников

доброкачественных опухолей половых органов (миомы матки, опухоли яичников), эндометриоза, злокачественных новообразований различной локализации [Ищенко А.И. и соавт., 2008; Пересада О.А., 2009].

Нарушения менструального цикла в виде обильных менструаций чаще встречается у пациенток с аденомиозом, а скудные кровянистые выделения из половых путей – чаще у больных ретроцервикальным эндометриозом [Адамян Л.В. и соавт., 2006]. В случае локализации эндометриоидных имплантов в желудочно-кишечном тракте характерными симптомами являются ректальные кровотечения, связанные с менструальным циклом, диарея. При поражении мочевыделительной системы наблюдаются гематурия или боль, связанная с менструальным циклом, обструкция мочеточника [Ищенко А.И., и соавт., 2008]. Эндометриоз хирургических рубцов или пупка сопровождается болью и кровоточивостью, имеющими непосредственную связь с менструальным циклом, а поражение эндометриоидными гетеротопиями легких ведет к кровохарканию [MacLavery C.M., Shaw R.W., 1995; Soriano D. et al., 2012].

Таким образом, эндометриоз имеет разнообразные клинические проявления, которые могут приводить как к органическому поражению репродуктивной системы, так и расстройству психоэмоциональной сферы, что, в свою очередь, обуславливает снижение трудоспособности и качества жизни пациенток.

1.2.2. Этиология и патогенез бесплодия, сочетанного с эндометриозом

Объяснить причинно-следственную взаимосвязь бесплодия и генитального эндометриоза возможно с помощью функциональных и анатомических патогенетических факторов, объединенных в следующие группы:

- вызывающие нарушение транспорта сперматозоидов;
- вызывающие нарушение оплодотворения;
- вызывающие нарушение развития преэмбриона;

- вызывающие нарушение имплантации и развития беременности.

Не вызывает сомнения, что в патогенезе бесплодия при эндометриозе ведущая роль отводится сочетанию нескольких групп факторов, из перечисленных выше [Корсак В.С. и соавт., 2006; Burney R.O. et al., 2012].

Существуют данные, что инфертильность может возникать вследствие фагоцитоза макрофагами сперматозоидов и яйцеклеток. При этом избыточное содержание макрофагов в перитонеальной жидкости обусловлено присутствием эндометриоидных гетеротопий [Burney R.O. et al., 2012; Petraglia F. et al., 2012]. Иммобилизация сперматозоидов может происходить уже в канале шейки матки с развитием цервикального бесплодия, далее на уровне эндометрия и, наконец, в перитонеальной жидкости, где при наличии наружного генитального эндометриоза определяется высокий уровень Ig A [Szczepanska M., 2001].

Ряд авторов в качестве причины бесплодия при эндометриозе рассматривает нарушения в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе, следствием которых могут быть недостаточность функции желтого тела, ановуляция, синдром неовулировавшего фолликула, повышение содержания эстрогенных фракций в сторону увеличения секреции эстрогена и эстрадиола [Пшеничникова Т.Я., 1991; Волков, Н.И., 1999; Кулаков В.И. и соавт., 2004; Корсак, В.С. и соавт., 2006].

Немаловажная роль в развитии бесплодия при наружном генитальном эндометриозе играет увеличение содержания активных форм кислорода. Известно, что активные формы кислорода изменяют свойства мембраны гамет, а также процессы апоптоза в клетке и способны приводить к нарушению репродуктивной функции [Agarwal A., 2003]. Указанные патологические процессы затрагивают все элементы фолликула и сам ооцит [Prieto L., 2012]. Сходное неблагоприятное влияние на гаметы оказывает и оксид азота, содержание которого при наружном генитальном эндометриозе повышено за счет активации NO-синтазы [Osborn B.H. et al., 2002; Wang J.H. et al., 2005].

Генетические и хромосомные изменения в ооцитах могут быть одной из причин infertility при генитальном эндометриозе, которые приводят к снижению качества гаметы и нарушению процессов имплантации [Lin X.N. et al., 2012; Macer M.L. et al., 2012; Stilley J.A. et al., 2012].

Эндометриоз, как известно, эстроген-зависимое заболевание, которое влечет за собой развитие бесплодия [Ozkan S., 2008]. Так, при наружном генитальном эндометриозе нарушается выработка гонадотропных гормонов: понижается овуляторный пик лютеинизирующего гормона, появляются его хаотичные выбросы в лютеиновую фазу, происходят изменения соотношения различных фракций эстрогенов, комплексное их повышение и развитие абсолютной гиперэстрогении [Курило Л.Ф., 2006]. Кроме того, выявлены специфические изменения в структуре лютеинизирующего гормона, а также снижена чувствительность к фолликулостимулирующему гормону [Somigliana E. et al., 2006].

В различных работах, анализирующих бесплодие при наружном генитальном эндометриозе, особое место отводилось характерной патологии эндометрия. Так, у пациенток с наружным генитальным эндометриозом часто регистрируется задержка фазы секреторной трансформации с нарушением различных биохимических показателей эндометрия [Адамян Л. В. и соавт., 2006]. Определенную роль в формировании бесплодия играют и воспалительные изменения эндометрия, и нарушения васкуляризации слизистой оболочки матки [Gupta S. et al., 2006].

Ухудшается рецепция к стероидным гормонам [Pellicer A. et al., 2001; Wang W. et al., 2012]. Для 15% женщин с наружным генитальным эндометриозом считается характерным наличие полипоза и гиперплазии эндометрия [Баскаков В.П., 2002]. В то же время существуют результаты некоторых исследований, указывающие на преобладание полипоза эндометрия в группе пациенток с бесплодием и эндометриозом [Shen L. et al., 2011]. Некоторые данные указывают на формирование гормонально-

зависимой патологии эндометрия, препятствующей имплантации [Gupta S., 2008].

В целом, основываясь на данных литературы, можно сказать, что эндометрий при наружном генитальном эндометриозе приобретает неадекватные свойства, имеет эмбриотоксический эффект, подвергается аутоиммунной агрессии, что приводит к нарушениям имплантации, плацентации и эмбриогенеза [Gupta S., 2008; Olovsson M. et al., 2011]. Но не все авторы соглашались с этим мнением, указывая на то, что у больных с наружным генитальным эндометриозом отсутствуют различия с фертильными женщинами в процессах имплантации и в прогрессировании самой беременности [Norenstedt S.N. et al., 2001].

Наружный генитальный эндометриоз влияет на процессы фолликулогенеза и яйцеклетку. Изменения ооцита при наружном генитальном эндометриозе выражаются в дегенерации яйцеклеток даже в не пораженном эндометриоидными гетеротопиями яичнике [Курило Л.Ф., 2006].

Причина этого процесса скрывается в гормональных сдвигах, дистрофических изменениях в тканях фолликула, а также в нарушении стероидогенеза в гранулезных клетках, что влечет за собой изменения биохимического состава фолликулярной жидкости, а именно: изменения концентрации фактора некроза опухолей, IL-1, IL-6, фактора роста эндотелия сосудов, снижение концентрации лютеинизирующего гормона [Garrido N. et al., 2000], уровня кортизола [Smith M.P. et al., 2002], изменение показателей ингибина и активина [Cahill D.J. et al., 2000; Nishida M. et al., 2011]. Указанные изменения ведут к уменьшению чувствительности фолликула к гонадотропной стимуляции, изменению процессов апоптоза, ооцитов, а также снижению процента оплодотворения [Герасимов А.М., 2008].

Одной из очевидных причин бесплодия при эндометриозе является «механический фактор», обусловленный развитием спаечно-рубцового процесса в области малого таза, что приводит к нарушению нормальных

анатомо-функциональных взаимоотношений между яичником и маточной трубой, вызывает нарушение транспортной функции и проходимости маточных труб [Ledger W.L., 1999; Корсак, В.С. и соавт., 2006; Somigliana E. et al., 2012; Harris-Glocker M. et al., 2012].

Некоторые авторы считают, что бесплодие при эндометриозе обусловлено наличием спаечного процесса. Данный факт подтверждается тем, что при эндометриозе III-IV степени распространения (согласно классификации R-AFS, 1985) присутствует выраженный спаечный процесс придатков и органов малого таза [Pjevic M. et al., 2002; Monti B., 2007].

Совершенно понятны причины бесплодия в случаях, когда придатки находятся в едином конгломерате, при этом яичник окружен спайками, а маточные трубы значительно изменены в области фимбриального отдела за счет активного спаечного процесса. Формирование инфертильности в данном случае обеспечивается фиброзными барьерами между яйцеклеткой и мужскими половыми клетками и нарушением функции как яичников, так и маточных труб. «Минимальный» же спаечный процесс при наружном генитальном эндометриозе может провоцировать развитие инфертильности за счет нарушения гомеостаза в системе цитокинов [Carvalho L.F. et al., 2012].

1.2.3. Иммунопатогенез бесплодия, сочетанного с эндометриозом

Эндометриоз приводит к функциональным и структурным изменениям в репродуктивной системе, к стойкому болевому синдрому и бесплодию [Iwabe T., 2002; Адамян Л.В. и соавт., 2004, 2006; Falcone T. et al., 2011; Fanta M. et al., 2012; Marana R. et al., 2012]. Полученные прижизненные фазово-интерференционные изображения клеток перитонеальной жидкости и периферической крови больных глубоким инфильтративным эндометриозом убедительно свидетельствуют об активном участии иммунной системы в патогенезе этого заболевания. Большинство современных исследований посвящено роли перитонеальных макрофагов, цитокинов, интегринов, а также факторов роста, ангиогенеза и протеолиза, благоприятствующих

имплантации клеток эндометрия и обуславливающих развитие infertility [Langebrekke A., 2006; Адамян Л.В. и соавт., 2006; Burney R.O. et al., 2012; Stilley J.A. et al., 2012].

Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом, определено нарушениями в иммунной системе, которые могут опосредоваться несколькими механизмами. Установлено, что женское бесплодие формируется вследствие воспалительного ответа на увеличение содержания макрофагов в перитонеальной жидкости при генитальном эндометриозе [Посисеева Л.В., 2001; Сидорова И.С., 2002; Maeda N. et al., 2002; Савельева Г.М., 2005; Luciano D.E. et al., 2011; Burney R.O. et al., 2012].

Инфертильность при генитальном эндометриозе может развиваться из-за усиленного фагоцитоза макрофагами сперматозоидов и яйцеклеток. При этом активация фагоцитарной активности макрофагов обусловлена увеличением содержания ионов железа, попадающих в брюшную полость с ретроградной менструацией [Iwabe T., 2002; Allaire C., 2006; Герасимов А.М., 2008; Крутова В.А., 2008].

Кроме того, изменения иммунного гомеостаза могут оказать неблагоприятное влияние на репродуктивные процессы [Ledger W.L., 1999; Корсак В.С. и соавт., 2006; Olovsson M., 2011; Petraglia F. et al., 2012]. Угнетающим действием на двигательную активность сперматозоидов, имплантацию и развитие эмбриона, оплодотворение яйцеклетки, а также пролиферацию трофобласта характеризуются лимфокины и монокины перитонеальной жидкости, концентрация которых также различна при наружном генитальном эндометриозе [Сотникова Н.Ю. и соавт., 2001; Sarobianco A. et al., 2010]. В перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе также выявлен белковый фактор, ингибирующий развитие эмбриона [Nisolle M., 2007; Nasu K., 2009]. Кроме того, повышенное содержание антиспермальных антител и антител к фосфолипидам в перитонеальной жидкости может быть одним из факторов, предрасполагающих к развитию нарушения репродуктивной функции [Shu-

Huei K., 2005; Корсак В.С. и соавт., 2006]. Показано также, что фактор некроза опухоли, выделяемый стимулированными макрофагами в перитонеальной жидкости при генитальном эндометриозе, вызывает нарушение реагирования сперматозоидов с zona pellucida [Грищенко В.И., 2003; Герасимов А.М., 2008].

Способность макрофагов брюшины синтезировать активные формы кислорода создает в перитонеальной жидкости постоянно высокое содержание радикалов, которые усиливают процессы перекисного окисления липидов, что оказывает повреждающее действие на здоровые клетки и ткани, нарушая при этом процесс оплодотворения [Harada T., 2007; Agic A., 2009; Zubor P., 2009]. Однако в других исследованиях эти данные не подтверждаются, и в них показано, что у женщин с эндометриозом и бесплодием в перитонеальной жидкости отмечаются низкие показатели активности перекисного окисления липидов по сравнению с таковыми у женщин с идиопатическим бесплодием [Герасимов А.М., 2008] и, более того, вовсе не отмечается связи перекисного окисления липидов с наружным генитальным эндометриозом [Polak G. et al., 2001].

Показано, что в эндометрии женщин, страдающих эндометриозом, выражена генетическая дисфункция, проявляющаяся изменением экспрессии большого числа генов и приводящая к нарушению синтеза различных регуляторных белков, таких как интегрины, трансферазы, интерлейкины, гликоделин и другие эндометриальные белки, при отсутствии признаков гистологической патологии [Као L.C. et al., 2003; Крутова В.А., 2008]. Это приводит к нарушению адгезии зародыша, имплантации, процессов апоптоза, неоангиогенеза, ароматазной активности и синтеза рибонуклеиновой кислоты [Scholl B., 2009; Hou Z., 2009].

Нарушение имплантации, эмбриогенеза и плацентации при наружном генитальном эндометриозе расценивается и как следствие повышенной выработки иммуноглобулинов класса G к гликопротеину базальной мембраны эндометрия Laminin-1 [Tomassetti C. et al., 2006; Caccavo D. et al.,

2011; Inagaki J., 2011]. Этими явлениями некоторые авторы объясняют и неудачи при вспомогательных репродуктивных мероприятиях, отмечая, что при экстракорпоральном оплодотворении шанс наступления беременности значительно ниже у женщин с наружным генитальным эндометриозом, и чем явнее стадия процесса, тем меньше шанс возникновения беременности [Du Y.B. et al., 2012].

Нарушения в системе цитокинов эндометрия у женщины могут быть одной из причин infertility при генитальном эндометриозе. Так, у женщин с наружным генитальным эндометриозом отмечаются сниженная плотность рецепторов к пролактину в эндометрии и гетеротопиях [Герасимов А.М., 2008] и диссонанс в системе интегринов [May K.E. et al., 2011], который проявляется снижением уровня $\beta 3$ -интегрина и значительным повышением уровня белка ICAM [Wu J. et al., 1999]. Однако это не является специфичным для эндометриоза, так как может быть и при нарушенной функции маточных труб, и в случае бесплодия неясного генеза [Dun E.C. et al., 2012; Kamath M.S., 2012].

При эндометриозе также изменен уровень инсулиноподобного фактора роста: повышен в сыворотке крови и снижен в эндометрии, и это также может быть причиной бесплодия, поскольку инсулиноподобный фактор роста – белок, инициирующий инвазию тканей эмбриона в подлежащий децидуальный эндометрий. Изменения в секреции инсулиноподобного фактора роста приводят к осложнениям в течение беременности: спонтанным выкидышам, развитию позднего гестоза, а также дефектам зародыша [Грищенко В.И., 2003; Ищенко А.И., 2008].

В перитонеальной жидкости у пациенток с генитальным эндометриозом и нарушением репродуктивной функции значительно увеличено содержание ингибитора миграции макрофагов, что располагает к росту эндометриоидных гетеротопий. Последние секретируют специфические вещества (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted), стимулирующие макрофагально-макроцитарную систему

[Герасимов А.М., 2008; Крутова В.А., 2008]. В результате стимуляции данной системы изменяется концентрация интерлейкинов (IL (интерлейкин)-2, IL-6, IL-8), фактора некроза опухоли, сосудистого эндотелиального фактора роста, трансформирующего ростового фактора [Nisolle M., 2007]. Имеются сведения, что данные сдвиги способствуют развитию инфертильности, нарушая взаимодействие сперматозоидов с zona pellucida [Faber V.M. et al., 2001], иммобилизируя сперматозоиды [Tsudo T. et al., 2000], вызывая эмбриотоксический эффект (IL-6) [Iwabe T., 2002; Крутова В.А., 2008]. Однако некоторые авторы не находят взаимосвязи указанных параметров с формированием инфертильности, мало того, и вовсе не находят специфических изменений иммунологических параметров при эндометриозе [Polak G. et al., 2001].

Существуют данные, что выраженной связи с бесплодием изменение концентрации IL-6, IL-8 и НК (натуральные киллеры)-клеток, несмотря на их значительный эмбриотоксический эффект, не отмечается [Neukomm C., 2007]. При усугублении процесса в перитонеальной жидкости активно накапливаются продукты, приводящие к эндогенной интоксикации, и нарушаются процессы взаимоотношения в системе реакций арахидоновой кислоты [Герасимов А.М., 2008].

Высвобождение факторов роста дополняет эффект иммунорегуляторных цитокинов, способствуя не только пролиферации, но и дистрофическим изменениям в тканях: факторы роста способствуют развитию спаек. Развитие спаечного процесса в области малого таза приводит к нарушению нормальных анатомо-функциональных взаимоотношений между яичником и маточной трубой, вызывает нарушение транспортной функции и проходимости маточных труб, а также может препятствовать овуляции и «захвату» или транспорту оплодотворенной яйцеклетки [Корсак В.С. и соавт., 2006; Endometriosis and infertility: a committee opinion: the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2012].

Таким образом, нарушения иммунного гомеостаза, а особенно изменения в системе цитокинов, представляются весьма важными для понимания патогенеза бесплодия, сочетанного с эндометриозом, развитие которого тесно связано с пролиферацией элементов гетеротопий и разрастанием соединительной ткани.

1.3. Современные представления о системе цитокинов

Цитокины представляют собой продукты синтеза активированных иммунокомпетентных клеток. Они являются биологически активными пептидами. При этом сами иммунные клетки служат мишенями для действия цитокинов. Продуцентами цитокинов могут быть макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, тромбоциты, фибробласты, эндотелиоциты, кератиноциты, стромальные клетки, а также ряд других типов клеток [Фрейдлин И.С., 1998; Черешнев В.А. и соавт., 2001; Кадагидзе З.Г., 2003; Симбирцев А.С., 2004; Кетлинский С.А., 2008].

Свою иммунорегуляторную функцию цитокины осуществляют через специфические взаимодействия с рецепторами клеток. Они являются сигнальными молекулами. В организме цитокины обеспечивают связь между различными системами, которая интегрирует их в целостную сеть защитных и приспособительных реакций, так как они способны проявлять биологическую активность как опосредованно, так и непосредственно при межклеточном контакте [Ройт А., 2006].

Цитокины имеют следующие характерные черты: полифункциональность действия, точность действия, зависимость от функционального состояния клетки, действие на различные виды клеток, кооперативность и избыточность действия, тотальность и избирательность продукции. Разные цитокины способны дублировать свои эффекты в одном случае и конкурировать в другом [Мейл Д., 2007].

Интерлейкинами являются колониестимулирующие факторы, интерфероны, трансформирующие ростовые факторы, фактор некроза

опухоли, хемокины, различные интерлейкины и некоторые другие. Они могут разделяться по их биохимическим и биологическим свойствам, строению, по типам рецепторов [Симбирцев А.С., 2004].

Иммунорегуляторные молекулы и их рецепторы синтезируются в ответ на стимуляцию клеток антигеном. Система цитокинов обеспечивает взаимодействие клеток, принимающих участие в формировании иммунного ответа. Каждому из участников специфического и неспецифического иммунного ответа присущ индивидуальный набор цитокинов [Ройт А., 2006].

Несомненно, важная роль в развитии бесплодия, сопровождающегося эндометриозом, принадлежит синтезу про- и противовоспалительных цитокинов и их влиянию на различные иммунные механизмы.

Провоспалительные цитокины при эндометриозе продуцируются и оказывают свое действие на иммунокомпетентные клетки через рецепторы на ранней стадии воспалительной реакции, участвуют в пуске специфического иммунного ответа в эффекторной фазе. В указанную группу относят: IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN (интерферон)- γ . Группу противовоспалительных цитокинов, участвующих в патогенезе бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, представляют: IL-4, IL-10, TGF (трансформирующий фактор роста)- β [Кетлинский С.А., 2008].

IL-1 синтезируется многими клетками организма, в первую очередь активированными макрофагами, кератиноцитами, стимулированными В-клетками и фибробластами и существует в виде двух полипептидов – IL-1 α и IL-1 β , синтез которых кодируется различными генами. Обе эти формы образуются из соответствующих молекул-предшественников, имеющих одинаковую молекулярную массу (31кДа (килодальтон)). Предшественник IL-1 α биологически активен и способен соединяться с рецептором в форме димера. IL-1 β приобретает способность соединяться с рецептором для IL-1 только после ферментативного расщепления. Преобладающей формой IL-1 является IL-1 β [Соколов Е.И., 1998].

Участие IL-1 в реакции воспаления определено его высокой тропностью к нейтрофилам, базофилам, эндотелиоцитам. Это составляет основу местного (аутокринного и паракринного), а также системного гуморального действия. При действии IL-1 увеличивается пул моноцитов и нейтрофилов в крови и очагах воспаления [Кетлинский С.А., 2008]. Нейтрофилы при действии IL-1 запускают реакцию респираторного взрыва и усиливают синтез активных форм кислорода. IL-1 активирует пролиферацию сенсебилизированных антигеном Т и В-лимфоцитов [Симбирцев А.С., 2004; Мейл Д., 2007].

Согласно данным литературы следует, что содержание IL-1 β в сыворотке крови больных генитальным эндометриозом значимо выше, чем у здоровых женщин [Ермолова Н. В., 2008]. По результатам зарубежных исследований также установлено, что при эндометриозе имеет место повышение уровня IL-1 β в перитонеальной жидкости [Michaud N. et al., 2011].

Одним из основных цитокинов клеточного звена иммунного ответа является IL-2. Синтезируется IL-2 CD (антигены кластеров дифференцировки клеток) 4^+ Т-лимфоциты после дифференцировки в Th (Т-хелпер)1. Известно, что ген *IL2* инициирует активную экспрессию только после контакта CD 4^+ Т-лимфоцитов с антигеном, презентированным в комплексе с HLA (человеческий лейкоцитарный антиген) II [Simpson J.L. et al., 1984; Симбирцев А.С., 2004; Кетлинский С.А., 2008].

Продуцируемый IL-2 молекулярной массой 15 кДа состоит из 133 а.о. (аминокислотных остатков). IL-2 является способным к формированию вторичной структуры. Одновременно с экспрессией гена *IL2* активируется экспрессия гена рецептора IL-2, в результате чего образуются растворимые формы рецептора. Рецепторный комплекс IL-2 состоит из 3-х субъединиц, которые представляют собой полипептиды разного размера и обозначаются как α (CD25), β (CD122) и γ (CD132) цепи [Gerosa F., 2002].

IL-2 участвует в регуляции пролиферации клеток-мишеней, с которыми взаимодействует: Т-и В-лимфоциты, НК-клетки, моноциты, макрофаги. IL-2 является фактором роста и дифференцировки для CD8⁺ Т-лимфоцитов. После первичного контакта с чужеродными агентами IL-2 способствует формированию Т-клеток памяти. Основная функция IL-2 – взаимодействие с CD4⁺ Т-лимфоцитами и образование клонов Th1. После получения активирующего сигнала в Th1-лимфоцитах начинают экспрессироваться гены *IL2*, *IFNG*, *TNF* (фактор некроза опухолей). Оказывая аутокринное действие на Th1-клетки и паракринное на субпопуляцию Th2, IL-2 вызывает смещение баланса Th1/Th2 в сторону клеточного звена [Janas M.L. et al., 2005].

Подавление синтеза IL-2 приводит к изменению показателей клеточного иммунного ответа и, можно сказать, к иммунодепрессии, что способствует пролиферации эндометриoidных гетеротопий [Nisolle M., 2007; Ищенко А.И., 2008].

Немаловажна роль IFN- γ в иммунопатогенезе эндометриоза [Podgaec S. et al., 2007; Gmyrek G.B. et al., 2008]. IFN- γ секретируется CD4⁺ Т-лимфоцитами (Th0 и Th1), CD8⁺ Т-лимфоцитами и активированными НК-клетками и оказывает многообразие биологических эффектов. IFN- γ представлен гликопротеином с молекулярной массой 20-25 кДа. Две идентичные субъединицы ассоциируются в антипараллельной ориентации [Киселев В.И. и соавт., 2005; Хаитов Р.М., 2006].

IFN- γ является сильным активатором макрофагов, способствующим росту их фагоцитарной и антимикробной активности: активируются мембранные процессы, синтез оксида азота и свободных радикалов кислорода, реализуется антигенпрезентирующая функция, способность макрофагов продуцировать белки системы комплемента и цитокины. IFN- γ выступает индуктором натуральных киллеров, результатом чего является активация цитолиза клеток-мишеней. Также он увеличивает экспрессию молекул HLA I и HLA II на поверхности клеток, осуществляя таким образом свою

антигенпрезентирующую функцию [Кашкин К.П., 1998].

Антагонистом IFN- γ является противовоспалительный цитокин IL-4. Подавляя транскрипцию генов, он может ингибировать все IFN- γ -зависимые свойства макрофагов. IL-4 принадлежит важная роль в реализации гуморального иммунного ответа, так как определяет дифференцировку Th0 в сторону Th2, а также активирует пролиферацию В-лимфоцитов и, как следствие, приводит к формированию гуморального иммунитета [Kelly-Welch A. E. et al., 2003; Воронкова О.В. и соавт., 2007].

IL-4 представляет собой гликопротеид с молекулярной массой 19-22 кДа. Продуцентами данного интерлейкина являются тучные клетки, Th2-лимфоциты [Фрейдлин И.С., 1998; Кадагидзе З.Г., 2003]. Инициация транскрипции гена *IL4* осуществляется при участии транскрипционных факторов NFAT (ядерный фактор активированных Т-клеток). Выделяют их пять, NFAT5 находится в ядре Т-лимфоцита в промоторной зоне гена *IL4*, другие 4 белковые молекулы располагаются в цитоплазме в неактивной дефосфорилированной форме. Связывание антигена с Т-клеточным рецептором вызывает активацию Ca^{2+} (кальций) - кальмодулинзависимой фосфоорилазы, которая, в свою очередь, путем фосфорилирования активирует белки цитоплазмы NFAT, далее это приводит к началу транскрипции через ядерный NFAT5 [Loh C. et al., 1996; Okamura H. et al., 2000].

Достаточно выраженный эффект IL-4 оказывает на регуляцию синтеза других интерлейкинов при иммунном ответе. IL-4 ингибирует синтез макрофагами и моноцитами провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α), простогландина E2, продуктов метаболизма кислорода и азота. IL-4 снижает экспрессию FcR (Fc-рецептор) всех трех типов, угнетая тем самым антителозависимую клеточную цитотоксичность [Balasubramanian S.P. et al., 2006; Yannopoulos A. et al., 2007; Шевченко А.В. и соавт., 2010].

Благодаря тому, что IL-4 является сильным ростовым фактором для В-лимфоцитов, он способствует активации и размножению покоящихся клеток, усиливает выработку Ig (иммуноглобулин)E и IgG, участвуя в аллергических

и противопаразитарных реакциях, поддерживает пролиферацию серозных тучных клеток. Этот цитокин стимулирует апоптоз опухолевых клеток и предотвращает рост опухолей посредством снижения экспрессии онкогенов, но увеличения экспрессии HLA на мембране опухолевых клеток [Шевченко А.В. и соавт., 2010].

Роль IL-6 в патогенезе эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия в литературных источниках освещена недостаточно и неоднозначно. Согласно одним данным, достоверной связи между содержанием интерлейкина в сыворотке крови и развитием генитального эндометриоза не установлено [Wieser F. et al., 2003]. По другим же данным, при эндометриозе отмечается повышение содержания IL-6, обеспечивающих активацию ангиогенеза, а также повышение уровня TNF- α , который усиливает адгезию стромальных клеток эндометриоидных гетеротопий на мезотелий, тем самым инициируя имплантацию элементов эндометрия, попавших в брюшную полость [Татарчук Т.Ф., 2007]. В связи с этим изучение роли IL-6 в патогенезе эндометриоза представляется нам интересным.

Интерлейкин-6 синтезируется активированными моноцитами макрофагами, эндотелиальными клетками, фибробластами, активированными Т-клетками, а также рядом других клеток, не имеющих отношения к иммунной системе. Основное действие IL-6 ассоциировано с его участием как ко-фактора при дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании и трансформации в плазматические клетки, продуцирующие иммуноглобулины [Шевченко А.В. и соавт., 2010]. Продуцируемый IL-6 представлен 184 аминокислотными остатками и имеет молекулярный вес 21 кДа. Биологическое действие IL-6 на клетки реализуется путем взаимодействия с рецепторами, представляющими из себя мономер, состоящий из 468 аминокислотных остатков. Последний имеет участок из 90 аминокислот, последовательность которых гомологична определенным доменам [Кетлинский С.А., 2008].

При воспалении последовательно секретируются такие цитокины, как TNF- α , IL-1 и IL-6. Затем IL-6 начинает подавлять секрецию TNF- α и IL-1, активировать продукцию печенью белков острой фазы воспаления и стимулировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, что способствует регуляции воспалительного процесса. В этом смысле IL-6 можно рассматривать и как провоспалительный, и как противовоспалительный цитокин [Yannopoulos A. et al., 2007; Кетлинский С.А., 2008; Шевченко А.В. и соавт., 2010].

IL-10 является физиологическим антагонистом IFN- γ , относится к противовоспалительным регуляторным цитокинам и способствует смещению баланса в сторону Th2-пути [Кетлинский С.А., 2008]. IL-10 (с молекулярной массой 17-21 кДа) оказывает ингибирующее действие на продукцию IFN- γ (как НК-клетками, так и Th1-лимфоцитами), инициированную любыми цитокинами или бактериальными агентами. IL-10 подавляет продукцию макрофагами иммунорегуляторных пептидов, которые активируют НК-клетки, а именно TNF- α и IL-12 [Mason J., 1994; Khoufache K., 2012]. Также он тормозит активирующий пролиферацию иммунный ответ Т-клеток на антигены и митогены, в то же время подавляет синтез активированными моноцитами IL-1 β , TNF- α и IL-6. Однако одновременно с этим IL-10 стимулирует секрецию иммуноглобулинов В-лимфоцитами [Tagashira Y. et al., 2009].

Синтезируется IL-10 активированными CD4⁺ Т-хелперами (клонами Th0, Th1 и Th2), Т-клетками (Treg, Tr1, CD8⁺CD28⁻) и CD8⁺ Т-лимфоцитами, индуцированными В-лимфоцитами, а также клетками лимфом, представленными В-клетками, тучными клетками и активированными липополисахаридами моноцитами/макрофагами [Кноринг Б.Е., 1999].

Установлено, что уровень IL-10 в перитонеальной жидкости при эндометриозе статистически значимо увеличивается [Zhang X. et al., 2007]. Активная продукция IL-10 Т-клетками и моноцитами/макрофагами влечет за собой снижение антигенспецифического иммунного ответа при генитальном

эндометриозе вследствие поляризации баланса в сторону Th2. Подобным образом TGF- β , IL-10 оказывает ингибирующее воздействие на макрофаги при генитальном эндометриозе, хотя и механизм этого воздействия изучен недостаточно [Адамян Л. В., 2006; Podgaec J.A. et al., 2010].

TGF- β – семейство из некоторого числа родственных молекул: TGF- β 1, - β 2, - β 3 и др. Указанный иммунный цитокин синтезируют хондроциты, остеобласты, остеокласты, тромбоциты, фибробласты, активированные Т-лимфоциты, моноциты, а также макрофаги, при этом Т-лимфоциты и моноциты синтезируют главным образом TGF- β 1 [Ройт А., 2006; Кетлинский С.А., 2008]. Данный противовоспалительный цитокин принимает участие в процессах воспаления, репарации, активирует рост фибробластов и образование коллагена, оказывает выраженный противовоспалительный и иммуносупрессивный эффекты. В случае возникновения патологических процессов TGF- β является основным стимулятором формирования фиброза, с чем связывают возможную роль цитокина в патогенезе эндометриоза [Iwabe T. et al., 2002; Li C.L. et al., 2011].

TGF- β ингибирует как процессы пролиферации, так и функции иммунокомпетентных клеток: цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов, Т-хелперов 1 и 2 типа (что препятствует индукции и реализации Т-зависимых реакций), макрофагов (ингибируется продукция ими как цитокинов, так и реактивных соединений азота и кислорода), естественных киллеров и лимфокинактированных клеток. Также TGF- β угнетает секрецию иммуноглобулинов активированными В-лимфоцитами и синтез цитокинов Т-клетками [Фрейдлин И. С., 1998; Кетлинский С.А., 2002, 2008].

Таким образом, изменение соотношения цитокинов у больных наружным генитальным эндометриозом и бесплодием может обуславливать функциональные изменения, влекущие за собой диссонанс в формировании защитных реакций, что находит отражение в развитии бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

1.3.1. Структурные основы функционального полиморфизма генов цитокинов

Одной из наиболее актуальных проблем медицинской науки настоящего времени становятся вопросы индивидуального прогноза возникновения заболевания на доклинической стадии, прогноза его течения и возможного исхода. Гены цитокинов, которые обеспечивают постоянный контроль иммунного ответа, представляют собой одну из полиморфных генетических систем в организме человека. Различные гены цитокинов лежат в основе формирования предрасположенности или устойчивости человеческого организма к мультифакториальным заболеваниям, в основном связанной механизмами развития с нарушением функции иммунной системы [Авдошина В.В. и соавт., 2006].

За время воплощения в жизнь программы «Геном человека» представилось возможным окончательно расшифровать нуклеотидную последовательность ДНК и установить, что у человека существует около 35000 генов, кодирующих соответствующие пептиды [Пузырев В.П. и соавт., 2007; Levy S., Sutton G. et al., 2007]. При этом было установлено, что гены различных людей при практически абсолютной идентичности не являются полностью одинаковыми. При анализе последовательностей генов было зарегистрировано, что различия между двумя индивидуумами составляют около 0,1% [Сенников С.В., 2001]. Основной причиной разнородности в структуре генов считаются точечные мутации – замены единичных нуклеотидов или т.н. SNP (SNP - single-nucleotide polymorphism) [Симбирцев А.С. и соавт., 2005].

Частота образования замен нуклеотидов вследствие редупликации составляет более 1%. Учитывая то, что в геноме человека около 3,2 миллиардов оснований, у конкретного индивидуума допустимо наличие нескольких миллионов SNP. Все же значительная часть SNP в кодирующих участках генов (экзонах) элиминируется в процессе репарации ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) и в результате естественного отбора,

потому что ведет к серьезным деструктивным изменениям структуры кодируемого пептида. Поэтому SNP в кодирующих участках генов, влекущие за собой замену аминокислоты, встречаются только в 5% случаев всех выявляемых точечных мутаций [Сенников С.В. и соавт., 2004].

Большая часть регистрируемых SNP-замен затрагивают концевые регуляторные участки генов, область промотора, или же располагаются в некодирующих областях и не сказываются на последовательности аминокислот транслируемого белка. Но часть из них может повлиять на скорость транскрипции генов, стабильность мРНК и тем самым приводить к увеличению или снижению количества и уровня биологической активности синтезируемого белка. Данный феномен получил название «функционального аллельного полиморфизма гена» [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005].

Множество аллельных вариантов генов цитокинов выявлено только для их промоторных участков, которые являются ответственными за связывание РНК-полимеразы с ДНК, а они также различаются в основном лишь по интенсивности экспрессии генов. Воздействие указанных полиморфизмов на транскрипцию производится путем изменения структуры сайтов связывания транскрипционных факторов внутри промоторов генов. Установленный полиморфизм может менять сайты присоединения пространственных факторов транскрипции в ядерном матриксе, что также может изменить саму пространственную структуру промоторов [Козлов В.А., 2004].

Полиморфизм генов, белковые продукты которых вовлечены в механизм иммунологической защиты, определяют степень резистентности к эндометриозу и, как следствие, бесплодию при эндометриозе.

Важным цитокином, принимающим участие в патогенезе эндометриоза, является IL-1 β . Ген *IL1B* располагается в регионе 2q13-q21 2-ой хромосомы, содержит 22 экзона, 20 из которых – альтернативные (т. е. имеют структурные варианты) и 9 интронов, из которых альтернативных – 8. Ген имеет нетранслируемые области на 3' и 5' концах. В регуляторной

области гена *IL1B* содержится последовательность ТАТА-бокс (очень консервативная, богатая аденином и тимином последовательность ДНК), характерная для многих индуцибельных белков [Громова А.Ю., 2005]. Выявлены точечные маркеры высокопродуцирующего варианта гена *IL1B*: полиморфизмы С-511Т и Т-31С. У лиц с гаплотипом, сочетающим полиморфизмы С-511Т и Т-31С, продукция IL-1 β в два-три раза увеличивается, что приводит к активации воспалительных реакций [Hall S.K. et al., 2004].

Одним из основополагающих цитокинов, играющих важную роль в патогенезе эндометриоза, как указывалось ранее, является IL-2. Ген *IL2* располагается в регионе 4 хромосомы (q24-q26) и включает в себя 6684 пар нуклеотидов, в том числе 5'- и 3'-последовательности. Контроль транскрипции гена *IL2* связан с определенными зонами в 5'-области, где находятся участки связывания энхансеров транскрипции NFAT-1, NF- κ B, AP-1 [Симбирцев А.С., 1998; Кетлинский С.А., 2008].

Полиморфизм гена указанного цитокина определяется двумя точечными мутациями в положениях -330 и +166 относительно стартовой точки транскрипции. SNP в регионе +166 локализована и не влияет на последовательность аминокислот (молчащая мутация), а замена Т-330G (замена тимина на гуанин) в промоторном регионе влияет на уровень продукции IL-2. Так, показано, что аллель -330G ассоциирован со сниженной способностью активированных клеток к продукции IL-2 [Коненков В.И., 2003; Авдошина В.В. и соавт., 2006].

Не менее актуальным в патогенезе генитального эндометриоза провоспалительным цитокином является IFN- γ , кодируемый геном *IFNG*, расположенным на хромосоме 12q24.1, который содержит 4 экзона и 3 интрона [Losana G. et al., 2002]. Полиморфный сайт +874А/Т расположен в первом интроне гена *IFNG* и также относится к SNP-заменам [Ананько Е.А., 2008]. Установлено, что наличие аллеля +874Т в гене *IFNG* ассоциировано с повышенной экспрессией гена и, следовательно, с увеличением продукции

этого цитокина иммунокомпетентными клетками [Bream J.H. et al., 2000; Соколова Ю.В., 2007].

Большой интерес представляют результаты исследования аллельного полиморфизма гена *IL4*. Ген *IL4* располагается в q23-q31 регионе 5 хромосомы и состоит из 9900 п.н. Кодированная последовательность этого гена высоко консервативна [Коненков В.И., 2003; Кучер А.Н. и соавт., 2009]. Описан полиморфизм гена *IL4*, связанный с наличием tandemных повторов в пределах второго и третьего интронов [Шабалдин А.В. и соавт., 2005]. В то же время выявлено несколько полиморфизмов в промоторной области гена: С-590Т, С-285Т, А-81G. Наиболее изученный полиморфизм С-590Т (замена цитозина на титмин) обуславливает повышенную, по сравнению с аллельным вариантом -590С, активность промотора и, как результат, увеличенную экспрессию и продукцию ИЛ-4 [Смольникова М.В. и соавт., 2002; Коненков В.И., 2003].

Актуально также изучение аллельного полиморфизма гена *IL6*. Ген *IL6* располагается в регионе 7p15-21 седьмой хромосомы. Наиболее часто исследуемый полиморфизм G-174С (замена нуклеотида гуанина на цитозин в регуляторной области гена) промоторной области гена. Этот полиморфизм приводит к функциональным изменениям, которые затрагивают транскрипцию гена и, соответственно, уровень ИЛ-6 в плазме. Частота встречаемости мутантного варианта гена – 18-23% [Коненков В.И., 2003].

При варианте -174С уровень продукции интерлейкина-6 понижен, что приводит к нарушению элиминации инфекционных агентов и ингибирует резорбцию костной ткани. Показано, что аллель -174G ассоциирован с более высоким уровнем ИЛ-6 в плазме [Fishman D. et al., 1998; Кетлинский С.А., 2008].

Ген *IL10* картирован на первой хромосоме (1q31-32) и содержит 4 экзона. В 1996 году были описаны полиморфизмы этого гена в позициях -1082, -819, -652, -592, -127, -41 относительно транскрипционного сайта [Tso H.W. et al., 2005; Ates O. et al., 2008]. Данные полиморфизмы относятся к

функциональным, поскольку расположены в промоторном регионе гена. Установлено, что присутствие аллеля -1082А и -592А гена *IL10* связано с увеличением продукции этого цитокина [Vasilescu A. et al., 2003; Авдошина В.В., 2006; Смольникова М.В. и соавт., 2006].

Был проведен анализ распределения аллельных вариантов промоторных участков гена *IL10* полиморфного варианта С-592А у женщин с генитальным эндометриозом. В результате проведенных исследований была выявлена ассоциация генетического полиморфизма варианта -592СС гена *IL10*, ведущая к снижению экспрессии белка, с генитальным эндометриозом [Riiskjaer M. et al., 2011].

TGF- β играет важную роль в патогенезе эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия. Ген *TGF β* расположен на 19 хромосоме (19q13) и имеет несколько полиморфных участков в нетранслируемой области и промоторном регионе (-988, -800, -590). Отмечают, что полиморфизм в позиции +915 сигнальной последовательности, который приводит к замене аргинина на пролин в 25 кодоне, ассоциирован с повышенным уровнем продукции TGF- β [Коненков В.И., 2003].

Согласно некоторым данным литературы, полиморфизм С-509Т гена *TGF β* не ассоциированы с развитием эндометриоза [Kim J.J. et al., 2010], однако информации о связи данного полиморфизма с бесплодием, сочетанным с эндометриозом, в литературе недостаточно, поэтому этот аспект требует более тщательного исследования.

В настоящее время накоплено множество сведений о взаимосвязи аллельных вариантов генов цитокинов, а также их рецепторов с патологическими состояниями, однако результаты, полученные различными исследователями, не всегда имеют однозначный характер [Landi S. et al., 2006; Hollegaard M.V. et al., 2006; Рудко А.А. и соавт., 2008]. Основной причиной разногласий в результатах ассоциативных исследований является этноспецифичность подверженности мультифакториальным заболеваниям, в том числе межэтнические различия в распределении аллельных вариантов

привлеченных к исследованию генов [Kim Y.K. et al., 2007; Moreno O. et al., 2007; Rasouli M., 2007].

1.3.2. Связь полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов с развитием заболеваний

Исследования ассоциаций аллельных вариантов генов цитокинов с заболеваниями *in vivo* связаны с попытками установить иммуногенетические маркеры ряда заболеваний человека [Buchts N. et al., 2000; Ярилин А.А., 2001]. Важно отметить, что изолированное изучение полиморфизма того или иного цитокина или цитокинового рецептора, индивидуальные ассоциации с заболеваниями могут быть неинформативными, в то время как комбинации генотипов цитокинов служат предрасполагающими факторами восприимчивости к заболеванию или особенностей его клинического течения [Смольникова М.В., 2002].

По данным литературы, выявлено, что при носительстве у пациентов с шизофренией аллеля Т локуса -511 гена *IL1B* течение заболевания более тяжелое, чем у больных-носителей генотипа СС полиморфизма С511Т гена *IL1B* [Fatjó-Vilas M. et al., 2012]. Согласно последним данным, высокий риск развития болезни Альцгеймера связан с носительством генотипа СС сайта С511Т гена *IL1B* [Yuan H. et al., 2012]. В источниках литературы последних лет указывается на повышение риска развития инсульта при носительстве генотипа СС локуса С511Т гена *IL1B* [Тимашева Я. Р., 2008].

Аллельный полиморфизм промотора гена *IL2* изучен недостаточно. В настоящее время проводятся исследования ассоциаций указанного полиморфизма с различными инфекционными и онкологическими заболеваниями [Hollegaard M.V., 2005]. В то же время для полиморфизма Т-330G гена *IL2* была выявлена взаимосвязь наличия аллеля Т с развитием алкогольного цирроза печени [Marcos M. et al., 2008].

Также выявлено, что SNP Т-330G гена *IL2* относится к кандидатным маркерам для поиска ассоциаций с аутоиммунными заболеваниями, что

связано с аутоиммунными расстройствами, возникающими при его дефиците [Коненков В.И., 2003].

По результатам некоторых исследований, высокопродуцирующий аллель - 590Т гена *IL4* значимо чаще встречался у пациентов с колоректальной аденокарциномой и метастазирующим раком почки [Yannopoulos A. et al., 2007; Шевченко А.В. и соавт., 2010]. Присутствие в структуре гена *IL4* полиморфизма -590ТТ является фактором риска формирования аллергических реакций реактивного типа, так как IL-4 играет важную роль в синтезе IgE [Wen H.J. et al., 2006]. Подверженность неблагоприятному течению медленных вирусных инфекций (хроническое рецидивирующее течение герпеса, быстро прогрессирующее течение HIV-инфекции) ассоциирована с аллелем Т (С-590Т) гена *IL4* [Сухаленцева Н.А., 2011].

В отношении гена *IL6* учеными установлено, что наличие у женщин с раком яичников хотя бы одного аллеля -174С ассоциировано с увеличением безрецидивной выживаемости, а пациенты с генотипом -174СС имели наилучший прогноз [Hefler L.A. et al., 2003].

По данным американских исследователей, генотипы GC и CC полиморфизма -174G>C гена *IL6* значительно снижают риск возникновения рака груди (OR 0,69 и 0,68 соответственно) [Garg R. et al, 2006]. Согласно результатам других исследований, было установлено, что у пациентов с генотипом -174СС колоректальный рак встречается в 1,5 раза чаще [Landi S. et al., 2003].

В то же время выявлен и тот факт, что аллель -174С связан с более высоким систолическим давлением и в полтора раза большим риском развития ишемической болезни сердца, причем этот эффект был наиболее выражен среди курильщиков [Humphries S.E. et al., 2001].

Интересно отметить, что среди ВИЧ-инфицированных мужчин с саркомой Капоши была установлена ассоциация между полиморфизмом локуса G-174C гена *IL6* и возникновением саркомы Капоши. Гомозиготы GG

достоверно чаще встречались в группе больных с саркомой Капоши, а гомозиготы *CC* – реже [Lehrnbecher T. et al., 2000].

Исследование пациентов с диабетом второго типа показало, что люди, являющиеся носителями аллеля -174G гена *IL6*, более чем в полтора раза подвержены возникновению данного заболевания. Было установлено, что генотипы *GC* и *CC* полиморфизма G-174C гена *IL6* ассоциированы с уменьшением риска формирования диабета 2-го типа на 9% [Illig T. et al., 2004].

Установлена ассоциация увеличения частоты аллеля -592A гена *IL10* с тяжестью сепсиса, а также развитием полиорганной недостаточности и высокой вероятностью летального исхода, что указывает на важный вклад аллельного полиморфизма гена данного цитокина в индивидуальные отличия больных сепсисом по характеру течения инфекционного процесса и эффективности механизмов защитного иммунитета [Курганова Е.В. и соавт., 2007].

По данным литературы, полиморфизм +874A/T гена *IFNG* (замена аденина на тимин) с восприимчивостью к атипичной пневмонии, с тяжелым респираторным синдромом, с туберкулезом легких и гепатитом В имеет связь [Pereira C.V. et al., 2004; Tso H.W. et al., 2005; Henaо M.I. et al., 2006]. Также указанный полиморфизм, согласно результатам некоторых исследований, представляет собой маркер проявления артрита при системной красной волчанке [Quesniaux V. et al., 2004].

Получены результаты, которые свидетельствуют, что наследование полиморфизма C-509T гена *TGFB* может быть связано с повышенным риском формирования цирроза печени при хронической HCV-инфекции [Романов А.О. и соавт., 2006].

Подводя итог, следует подчеркнуть, что изучение ассоциаций аллельных вариантов генов цитокинов с заболеваниями связаны с попытками установить иммуногенетические маркеры заболеваний. Подобные исследования перспективны в попытке установить причинно-следственные

связи цитокиновых генов с заболеваниями. Но они требуют продолжения из-за трудности выбора возможных претендентов из большого числа генов-кандидатов и из-за незначительного влияния любого отдельного гена на восприимчивость к заболеванию.

Заключение

Медицинская значимость проблемы женского бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, определяется необходимостью решения ряда вопросов, связанных со своевременной и достоверной диагностикой, повышением эффективности лечения и профилактики. Несмотря на имеющиеся теоретические данные и накопленный клинический опыт, не существует однозначного ответа на вопросы: «Есть ли достоверная патогенетическая связь между эндометриозом и бесплодием? Существуют ли молекулярно-генетические маркеры, позволяющие неинвазивно, без оперативного вмешательства ставить диагноз и формировать группы риска с целью профилактики? Каковы пути системной патогенетической терапии эндометриоза и бесплодия?».

Чтобы ответить на поставленные вопросы, следует расширять и углублять клинические и фундаментальные исследования, касающиеся изучения механизмов молекулярно-генетических, иммунных и гормональных нарушений в организме женщины. Изучение содержания в крови иммунорегуляторных цитокинов в ассоциации с анализом полиморфизма их генов при эндометриозе и ассоциированном с ним бесплодии представляется весьма актуальным, поскольку позволит уточнить аспекты иммунопатогенеза бесплодия, сопровождающегося эндометриозом. Полученные результаты могут быть положены в основу разработки новых методов диагностики, лечения, профилактики развития тяжелых форм бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе кафедр патологической физиологии СибГМУ (зав. кафедрой, академик РАМН, д.м.н., профессор Новицкий В.В.) и акушерства и гинекологии СибГМУ (зав. кафедрой, д.м.н., профессор Евтушенко И. Д.). Исследования проводились в лаборатории экспериментальной патофизиологии кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России и Центральной научно-исследовательской лаборатории (зав. – д.м.н., профессор Байков А.Н.).

Для достижения поставленной цели исследования и решения задач было обследовано 236 женщин с бесплодием, находившихся на стационарном лечении с 2010-го по 2012-й гг. в гинекологическом отделении МАУЗ «Родильный дом №4» (зав. отделением – Милешина А.В.), а так же в гинекологической клинике ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (зав. отделением – канд. мед. наук Ткачев В.Н.), 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 женщин 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;
- тяжелые экстрагенитальные заболевания в стадии декомпенсации;
- онкологические заболевания;
- хромосомные болезни;
- участие женщины в другом клиническом исследовании;
- отказ женщины от продолжения исследования.

У всех женщин изучали анамнез, проводили общее и гинекологическое (бимануальное) обследование, инструментальное обследование, лапароскопию и гистероскопию, гистологическое исследование операционного материала. При изучении анамнеза учитывали и 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. Выяснялись клинические проявления генитального эндометриоза и проводилась оценка интенсивности болей согласно шкале MacLavery C.M., Shaw R.W. [1995] (табл. 1).

Таблица 1

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

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

2.1. Лапароскопия, гистероскопия, гистологическое исследование операционного материала

При проведении настоящей работы всем обследованным женщинам лапароскопию и гистероскопию выполняли на 5-7 день менструального цикла с целью дифференциальной диагностики причин бесплодия, в том числе эндометриоза, уточнения локализации и степени распространения процесса, определения объёма предстоящей операции, проведения лечебных мероприятий.

Лапароскопию проводили согласно общепринятой методике. Использовались лапароскопы фирмы «Karl Storz» (Германия). Операцию выполняли под эндотрахеальным наркозом. Пациентке придавали положение Тренделенбурга (положение лежа на спине под углом 45° с приподнятым по отношению к голове тазом). Для наложения пневмоперитонеума использовали углекислый газ. После введения лапароскопа в брюшную полость производили общий осмотр органов малого таза, ревизию кишечника, сальника, аппендикулярного отростка, печени. Затем выполняли хромогидротубацию, разделение спаек, коагуляцию и иссечение очагов эндометриоза, удаление эндометриоидных кист яичников с использованием электрохирургии. Степень распространения выраженность спаечного процесса оценивали по шкале Американского общества фертильности (1985), беря во внимание структуру, площадь распространения спаек и вовлечения в спаечный процесс органов брюшной полости. При I степени спаечного процесса (1-5 баллов) регистрировались единичные, тонкие, пленчатые, неваскуляризированные спайки в области одного или обоих яичников и/или маточных труб. Площадь их распространения не превышала 1/3 площади придатков матки. При II степени спаечного процесса (6-15 баллов) были выявлены аваскулярные паутинные и пленчатые спайки, более распространенные в полости малого таза и зачастую закрывающие собой 1/3-2/3 площади яичников и маточных труб, чаще локализованные с одной стороны. При III степени (16-40 баллов) спаечный процесс, как правило,

носил двусторонний характер, спайки плотные, часто васкуляризированные, площадь их распространения превышала 2/3 площади придатков матки. При IV степени выраженности (более 40 баллов) спайки обнаруживались как в области малого таза, захватывая придатки с обеих сторон, так и в области соседних органов, нарушая их топографию. Спайки плотные, васкуляризированные, при натяжении приводили к деформации подлежащей ткани, отделялись с большим трудом.

Образцы тканей для проведения морфологического исследования были взяты при выполнении гистероскопии и во время лапароскопии до коагуляции очагов эндометриоза и доставлялись в патологоанатомические отделения МАУЗ «Городская больница №3» (зав. отделением Ерендеева Л.Э.), ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (зав. отделением – д.м.н. Вторушин С.В.).

2.2. Материал исследования

Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая из локтевой вены утром натощак в день операции в количестве 5 мл, а также сыворотка крови, полученная путем центрифугирования венозной крови в течение 10 мин при скорости 1000 оборотов в минуту. Венозная кровь была стабилизирована ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Сыворотка замораживалась при низких температурах (-70°C).

2.3. Методы исследования

2.3.1. Выделение ДНК

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

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

Ход работы. Перед началом работы лизирующий раствор и раствор

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

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

Добавляли в пробы по 300 мкл раствора для отмывки 1 и перемешивали на вортексе до полного ресуспендирования сорбента. Осаждали сорбент центрифугированием при 5000 об/мин на микроцентрифуге в течение 30 с. Удаляли супернатант вакуумным отсасывателем и отдельным наконечником для каждой пробы. Далее в пробы вносили по 500 мкл раствора для отмывки 2, перемешивали до полного ресуспендирования сорбента, центрифугировали 30 с при 10000 об/мин, отбирали супернатант вакуумным отсасывателем и отдельным наконечником для каждой пробы (процедуру отмывки повторяли дважды).

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

2.3.2. Исследование полиморфизма генов цитокинов [Кофиади И.А., 2006]

Исследование полиморфных участков генов цитокинов проводили с использованием аллель-специфической амплификации специфических

участков генома.

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

Ход работы. Амплификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к набору «АмплиСенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф» путём ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе, с применением амплификатора «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия). Было исследовано семь полиморфных вариантов генов семи цитокинов С-511Т гена *IL1B* (rs16944), Т-330G гена *IL2* (rs2069762), С-590Т гена *IL-4* (rs2243250), G-174С гена *IL6* (rs1800795), С-592А гена *IL10* (rs1800872), А-874Т гена *IFNG* (rs2340561), С-509Т гена *TGFB* (rs1800469).

Общая реакционная смесь для амплификации объёмом 25 мкл содержала: «нижнюю» смесь, состоящую из смеси праймеров («Синтол», Россия) и смеси дезоксинуклеотидтрифосфатов 2мМ (dNTP-mix) в равных частях в отдельных пробирках на каждую пару праймеров; «верхнюю» смесь в конечной концентрации Mg^{2+} 2,5, 10 мкл ПЦР-буфера, 2,5 мкл 50мМ $MgSO_4$, 6,5 мкл H_2O и 1,0 мкл Tag-полимеразы (из расчёта на одну пробирку). Раскапывали в микропробирки для ПЦР по 5 мкл «нижней» смеси и по 10 мкл «верхней» смеси. Сверху капали по 1 капле масла для ПЦР. Вносили сверху на масло по 10 мкл исследуемой ДНК.

Программа амплификации включала в себя предварительную денатурацию при 96°C в течение 1 мин, с последующими 10 циклами, каждый из которых состоял из денатурации при 96°C (15 с), отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (50 с), элонгации цепи при 72°C (40 с). Затем – 20 циклов, состоящих из денатурации при 96°C (10 с), отжига при 60°C (50 с) и элонгации при 72°C (40 с). Программу

завершала финальная элонгация при 72°C в течение 1 мин (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика исследованных полиморфных вариантов генов цитокинов

Ген, полиморфный сайт	Структура праймеров	Длина продукта амплификации	Температура отжига праймеров (°C)
<i>IL1B</i> C-511T	IL1B common: 5'- ACAGGT GGC ATC TTG GGA GGA A- 3' IL1B C: 5'-CTA TTG GGA GAA CAT ACC TGT C- 3' IL1B T: 5'- ACC TTG GGA CTA GAA CAT TGT T- 3'	122 п.о.	62,0
<i>IL2</i> T-330G	IL2 common: 5'-ACG CCT TCT GTA TGA AAC-3' IL2 T: 5'-TCA CAT GTT CAG TGT AGT TTT AT-3' IL2 G: 5'-TCA CAT GTT CAG TGT AGT TTT AG-3'	104 п.о.	55,0
<i>IL4</i> C-590T	IL4 common: 5'-AGT ACAGGT GGC ATC TTG GGA A- 3' IL4 C: 5'-CTA ACC TTG GGA GAA CAT TGT C- 3' IL4 T: 5'-CTA ACC TTG GGA GAA CAT TGT T- 3'	131 п.о.	64,0
<i>IL6</i> G-174C	IL6 common: 5'-ACG TAA TCT GTA AAC TGA -3' IL6 G: 5'-TCA CAT GTT CAG TGT AGT TTT AG-3' IL2 C: 5'-TCA CAT GTT CAG TGT AGT TTT AT-3'	120 п.о.	61,5
<i>IL10</i> C-592A	IL10 common: 5'- TAA CTT AGG CAG TCA CCT TAG G- 3' IL10 C: 5'-ACA TCC TGT GAC CCC GCC TGT C- 3' IL10 A: 5'-ACA TCC TGT GAC CCC GCC TGT A- 3'	151 п.о.	65,5
<i>IFNG</i> A-874T	IFNG common: 5'-CAT CTA CTG TGC CTT CCT GT-3' IFNG T: 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCT-3' IFNG A: 5'-TTCTTACAACACAAAATC AAA TCA-3'	116 п.о.	61,0
<i>TGFB</i> C-509T	TGFB common: 5'-CTA CGG CGT GGA CTG AG-3' TGFB C: 5'-AAG GGG CAA CAG GAC TGG G-3' TGFB T: 5'-AAG GGG CAA CAG GAC ACC TGG A-3'	349 п.о.	61,0

Анализ продуктов амплификации проводили разделением фрагментов ДНК в 2% агарозном геле: 2 г агарозы смешивали с 2 мл 50xТАЕ буфера (242 г трисаминометана, 37,2 г ЭДТА, 57,1 мл ледяной уксусной кислоты, доводили до 1 л H₂O, pH 8,0) и нагревали в микроволновой печи до полного расплавления агарозы. Охлаждали раствор до 50-60° С и заливали в камеру для электрофореза, в которой предварительно устанавливали гребенку для формирования лунок. Для формирования геля оставляли его на 20-30 мин, затем камеру заполняли 1xТАЕ буфером (10 мл 50xТАЕ буфера, 490 мл H₂O) так, чтобы он слегка покрывал гель, и убирали гребенку.

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

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

2.3.3. Иммуноферментный анализ для оценки уровня цитокинов в сыворотке крови

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).

Принцип метода заключается в конъюгации одного эпитопа молекулы цитокина мышинными моноклональными антителами, сорбированными на твердой фазе микропланшета. Другой тип антител – кроличьи поликлональные, специфичные против человеческих цитокинов, антитела соединяются с независимым эпитопом цитокина. Избыток кроличьих антител удаляется. К сорбированным на твердой фазе комплексам цитокин-антитела добавляется окрашивающий раствор. Оптическая плотность раствора пропорциональна концентрации определяемого вещества и регистрируется колориметрически. Калибровочная кривая строится с использованием среды,

не содержащей продукты жизнедеятельности клеток («0 доза») и стандартных растворов цитокинов с известной концентрацией.

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

Для оценки уровня IL-1 β , IL-2, IL-4 и IFN- γ микропипеткой добавляли по 100 мкл «0 дозы» и стандартов данных цитокинов с известными концентрациями в соответствующие ячейки предварительно промытого буфером микропланшета. В остальные лунки вносили сыворотку крови в объеме 200 (для определения IFN- γ и IL-4) и 100 (IL-1 β и IL-2) мкл и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. После нескольких циклов промывки в каждую ячейку добавляли по 100 (для определения IFN- γ и IL-4) и 200 (IL-1 β и IL-2) мкл раствора вторых антител и проводили часовую инкубацию при 37°C. Промыв планшеты буфером и дистиллированной водой, в каждую лунку вносили по 100 (IFN- γ и IL-4) и 200 (IL-1 β и IL-2) мкл конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена и инкубировали 30 мин при 20-25°C (IFN- γ и IL-4) и 1 ч при 37°C (IL-1 β и IL-2). По окончании инкубации, промыв микропланшеты, в каждую ячейку добавляли по 100 (IFN- γ и IL-4) и 200 (IL-1 β и IL-2) мкл раствора субстрата с красителем. Через 15-20 мин в лунки вносили по 50 мкл стоп-реагента.

Для исследования уровня IL-6, IL-10 и TGF- β в сыворотке крови в лунки предварительно промытого микропланшета вносили по 200 мкл «0 дозы» и стандартов IL-6, IL-10 и TGF- β с известными концентрациями. В оставшиеся ячейки помещали по 100 мкл сыворотки крови и фосфатного буфера, инкубировали в течение 1 ч при 37°C. После трехкратного цикла промывки в лунки микропланшета добавляли по 200 мкл вторых антител и также инкубировали 1 ч при 37°C. Трижды промыв планшет буфером, в каждую ячейку вносили 200 мкл конъюгата пероксидазы хрена с антивидовыми поликлональными антителами и ставили в термостат на 1 ч. После трехкратного цикла промывки в лунки добавляли 200 мкл раствора

субстрата с красителем. Через 15-20 мин инкубации в затемненном месте при комнатной температуре вносили 50 мкл стоп-реагента.

Учет результатов ИФА производили с помощью фотометра для микропланшетов «Multiscan EX» («ThermoLabSystems», Финляндия) при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов вычисляли по калибровочной кривой.

2.4. Статистическая обработка результатов

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

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

Для определения соответствия распределения количественных признаков нормальному закону использовали критерий Шапиро-Уилка. Так как проверка показала, что ни одна из выборок не была распределена по нормальному закону, проверка статистической значимости равенства выборочных средних независимых выборок осуществлялась для двух групп с помощью U -критерия Манна-Уитни, для трех групп – с помощью критерия Крускала-Уолиса. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ и $p < 0,001$. Для анализа качественных независимых данных использовали хи-квадрат Пирсона либо точный критерий Фишера [Гланц С., 1998, Гмурман В. Е., 2006].

Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью точного

теста Фишера [Вейр Б., 1995]. Рассчитывали ожидаемую гетерозиготность полиморфизма исследуемых генов. Относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой (D) рассчитывали по формуле:

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

где hobs и hexp – ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность соответственно.

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

$$OR= (A/B)/(C/D), \text{ где}$$

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

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

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

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

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

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Общая характеристика женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

В ходе исследования было установлено, что средний возраст всех обследованных женщин составил $30,22 \pm 0,28$ лет. В результате анализа возрастного состава женщин между группами статистически значимые различия выявлены не были ($p > 0,05$), в связи с чем группы являлись сопоставимыми по возрастному составу (табл. 3). При анализе антропометрических данных статистически значимых различий весового и ростового факторов также выявлено не было ($p > 0,05$) (табл. 4).

Таблица 3

Возрастной состав обследованных женщин

Название группы	Женщины с бесплодием	Женщины с бесплодием и эндометриозом
Количество человек в группе (n)	91	145
Возраст, $M \pm m$, (мин.-макс.)	$30,05 \pm 0,39$ (от 25 до 37)	$30,33 \pm 0,38$ (от 26 до 40)

Примечание: данные представлены в виде средней (M) и ошибки средней (m). Анализ количественных данных, подчиняющихся нормальному закону распределения, проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимые различия не найдены ($p > 0,05$).

Таблица 4

Антропометрические данные обследованных женщин, Me ($Q_{25\%} - Q_{75\%}$)

Показатель	Женщины с бесплодием	Женщины с бесплодием и эндометриозом	p
	n=91	n=145	
Рост, см	165 (160,5 – 170)	167 (164 – 170)	$p > 0,05$
Вес, кг	60 (55,5 – 69)	60 (54 – 65)	$p > 0,05$

Примечание: здесь и в табл. 6, 8: n – количество человек в группе. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующие разброс значений показателя у 50% респондентов ($Q_1 - Q_3$), где Q_1 – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль, Q_3 – 75% перцентиль. Анализ количественных данных, не имеющих нормальное распределение, проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимые различия не найдены ($p > 0,05$).

По социальному статусу обследованные женщины были разделены на работающих, студенток и домохозяек. При анализе социального статуса женщин двух групп статистически значимые различия не были обнаружены ($p>0,05$) (табл. 5).

Таблица 5

Социальный статус обследованных женщин (абс., %)

Социальный статус	Женщины с бесплодием		Женщины с бесплодием и эндометриозом	
	n=91		n=145	
	абс.	%	абс.	%
Работающие	79	86,8	119	82,1
Студентки	4	4,4	5	3,4
Домохозяйки	8	8,8	21	14,5

Примечание: n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера, статистически значимые различия не найдены ($\chi^2=1,755$, $p>0,05$).

Длительность бесплодия у обследованных женщин колебалась в пределах от 1 года до 11 лет, однако статистически значимых различий по продолжительности бесплодия в группах не было выявлено ($p>0,05$) (табл. 6).

Таблица 6

Длительность бесплодия у обследованных женщин, Me ($Q_{25\%}$ - $Q_{75\%}$)

Показатель	Женщины с бесплодием	Женщины с бесплодием и эндометриозом	p
	n=91	n=145	
Длительность бесплодия (годы)	2 (2 – 4)	3 (2 – 5)	$p>0,05$

При анализе частоты встречаемости первичного и вторичного бесплодия у обследованных женщин были зарегистрированы статистически значимые различия ($p<0,05$). Было обнаружено, что у женщин без эндометриоза чаще встречалось вторичное бесплодие (52,7%). А у женщин с

эндометриозом статистически значимо чаще наблюдалось первичное бесплодие, частота которого составляла 67,6% (табл. 7).

Таблица 7

Частота встречаемости первичного и вторичного бесплодия у обследованных женщин (абс., %)

Бесплодие	Женщины с бесплодием		Женщины с бесплодием и эндометриозом		χ^2 , p
	n=91		n=145		
	абс.	%	абс.	%	
Первичное бесплодие	43	47,3	98	67,6	9,612; p<0,05
Вторичное бесплодие	48	52,7	47	32,4	9,621; p<0,05

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

При изучении анамнеза женщин, страдающих бесплодием и эндометриозом, особое внимание уделялось выяснению отягощенного семейного анамнеза по наличию эндометриоза в первом и (или) во втором поколении (сестра, при ее наличии, мать и бабушка). Было установлено, что женщины с бесплодием и эндометриозом имели отягощенный семейный анамнез по сравнению с женщинами, страдающими только бесплодием (p<0,05), так у 21(14,5%) женщины с бесплодием и эндометриозом семейный анамнез был отягощен эндометриозом.

3.2. Акушерско-гинекологический анамнез женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

При изучении акушерско-гинекологического анамнеза мы обращали внимание на возраст начала менструальной функции, характер и длительность менструального цикла, число аборт, самопроизвольных выкидышей, замерших беременностей.

Возраст наступления менархе во всех группах был одинаковый и составил 13 лет ($p>0,05$). Длительность менструального цикла и менструальных кровотечений у обследованных женщин статистически значимо не различались (табл. 8). Менструальный цикл у женщин в исследованных группах в 96% случаев был регулярным, а менструации носили умеренный характер ($p>0,05$).

Таблица 8

Характеристика менструального цикла обследованных женщин

Me ($Q_{25\%}$ - $Q_{75\%}$)

Показатель	Женщины с бесплодием	Женщины с бесплодием и эндометриозом	p
	n=91	n=145	
Возраст менархе (годы)	13 (12 – 14)	13 (12 – 14)	$p>0,05$
Длительность менструального цикла (дни)	28 (28-30)	28 (27-28)	$p>0,05$
Длительность менструального кровотечения (дни)	5 (4-5)	5 (4-6)	$p>0,05$

В процессе сбора акушерско-гинекологического анамнеза было установлено, что искусственные аборт имели место у 26 (28,6%) женщин, страдающих бесплодием, и у 21 (14,5%) женщины с бесплодием и эндометриозом ($\chi^2=6,958$, $p<0,05$). 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 ($p>0,05$).

При анализе частоты встречаемости в анамнезе других операций (резекция яичника, аппендэктомия, сальпинготомия и келифозэктомия) у обследованных женщин установлено, что в основной группе оперативные вмешательства встречались у 34 (23%), а в контрольной группе лишь у 13 (14,3%) пациенток. Однако статистически значимые различия между группами выявлены не были ($p>0,05$).

3.3. Жалобы женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

При изучении жалоб было отмечено, что, кроме отсутствия беременности при регулярной половой жизни без контрацепции в течение года и более, женщины предъявляли жалобы на тазовую боль, дисменорею, диспареунию.

При анализе распространенности тазовой боли у женщин обеих групп были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,001$). Установлено, что жалобы на тазовую боль предъявляли 33,8% женщин с бесплодием и эндометриозом и лишь 1,1% женщин с бесплодием, но без эндометриоза (табл. 9). Среди женщин с бесплодием и эндометриозом 16,6% отмечали слабую, 14,5% - умеренную и 2,1% - сильную тазовую боль.

У всех женщин с бесплодием без эндометриоза жалобы на дисменорею и диспареунию отсутствовали, при этом у пациенток, страдающих бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, дисменорея встречалась в 35,8% случаев, а диспареуния в 22,8% случаев ($p < 0,001$).

Таблица 9

Частота встречаемости тазовой боли у обследованных женщин (абс., %)

Тазовая боль	Женщины с бесплодием		Женщины с бесплодием и эндометриозом	
	n=91		n=145	
	абс.	%	абс.	%
Отсутствие	90	98,9	96	66,2
Наличие	1	1,1	49	33,8*

Примечание: n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера. * – статистически значимые различия по сравнению с группой 2 ($\chi^2=35,792$, $p < 0,001$).

Дисменорея была слабо выражена в 86,5% случаев, умеренно - у 13,5% пациенток. Среди пациенток с диспареунией 87,9% жаловались на слабую, 9% - на умеренную, 3,1% - на выраженную боль.

3.4. Результаты лапароскопического и гистероскопического исследования женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

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. 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 ($p < 0,05$; $\chi^2 = 9,421$). Таким образом, у 48 (53%) женщин контрольной группы имело место неуточненное бесплодие. В ходе лапароскопии у обследованных женщин был выявлен спаечный процесс органов малого таза различной степени (табл. 10).

Таблица 10

Частота встречаемости спаечного процесса у обследованных женщин
(абс., %)

Показания		Женщины с бесплодием		Женщины с бесплодием и эндометриозом		χ^2 , p
		n=91		n=145		
		абс.	%	абс.	%	
Спаечный процесс	Отсутствует	90	98,9	70	48,28	67,09 p<0,001
	1 ст.	1	1,1	24	16,55	
	2 ст.	0	0	33	22,76	
	3 ст.	0	0	14	9,65	
	4 ст.	0	0	4	2,76	

Примечание: n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой на правдоподобие или точного критерия Фишера, p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при $p < 0,001$.

При анализе частоты встречаемости спаечного процесса в обеих группах были зарегистрированы статистически значимые различия ($p < 0,001$).

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 (табл. 10).

В ходе выполнения гистероскопии всем обследованным женщинам патологии выявлено не было, что подтверждалось результатами гистологического исследования эндометрия.

3.5. Распределение аллельных вариантов и генотипов генов *IL1B*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IFNG*, *TGFB* среди женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

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

При изучении частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма С511Т гена *IL1B* было установлено, что среди женщин, страдающих бесплодием, генотип СС встречался в 69,2% случаев, СТ – в 30,8% случаев. При этом редкий аллель Т наблюдали лишь в 15,4%, а аллель С – в 84,6%. Исследование распределения генотипов полиморфизма С511Т гена *IL1B* у инфертильных больных, страдающих эндометриозом, позволило установить, что гетерозиготный генотип встречался в 35,9% случаев. Наряду с этим 48,3% больных этой группы оказались гомозиготами по аллелю С. Генотип ТТ был обнаружен у 15,9% обследованных пациентов (табл. 11).

Следует также отметить, что у женщин с бесплодием и эндометриозом распределение генотипов ($\chi^2=19,74$; $p < 0,05$) и аллелей ($\chi^2=19,36$; $p < 0,05$) значительно отличалось от такового у пациенток только с бесплодием, а именно: генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С511Т гена *IL1B* встречались значимо

чаще, чем в контрольной группе (табл. 11).

Таблица 11

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма С511Т гена *IL1β* (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма С511Т гена <i>IL1β</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , р
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
СС	63 (69,20)	70 (48,30)	19,74 р<0,05
СТ	28 (30,80)	52 (35,90)	
ТТ	0(0)	23 (15,90)	
С	154 (84,60)	192 (66,20)	19,36 р<0,05
Т	28 (15,40)	98 (33,80)	

Примечание: здесь и в табл. 13,17: n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона. р – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при $p < 0,05$.

Для полиморфизма Т-330G гена *IL2* у женщин контрольной группы было выявлено преобладание гомозиготного генотипа ТТ (58,2%) над гетерозиготным TG (33,0%) и гомозиготным по аллелю G (8,8%) (табл. 12).

Таблица 12

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма Т-330G гена *IL2* (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма Т-330G гена <i>IL2</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , р
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
ТТ	53 (58,20)	71 (49,00)	3,43 р>0,05
TG	30 (33,00)	50 (34,50)	
GG	8 (8,80)	24 (16,60)	
Т	136 (74,70)	192 (66,20)	3,83 р>0,05
G	46 (25,30)	98 (33,80)	

Примечание: здесь и в табл. 16: n – количество человек в группе. Анализ качественных независимых данных проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера. р – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия выявлены не были ($p > 0,05$).

Аналогичное распределение генотипов и аллелей наблюдалось у женщин с бесплодием и эндометриозом. Интересно отметить, что по результатам анализа полиморфизма Т-330G гена *IL2* у пациенток с бесплодием и эндометриозом значимых различий в распределении генотипов и аллелей по сравнению с пациентками контрольной группы выявлено не было ($p>0,05$) (табл. 12).

Анализ аллельного полиморфизма С-590Т гена *IL4* у инфертильных женщин без эндометриоза показал преобладание частот гомозиготного генотипа СС (70,3%) над гетерозиготным СТ (27,9%) и отсутствие редкого генотипа ТТ. Распределение генотипов полиморфного варианта С-590Т гена *IL4* у женщин с бесплодием и эндометриозом было аналогичным, однако редкий генотип ТТ был обнаружен у 15 (10,3%) пациенток (табл. 13).

Весьма интересные, на наш взгляд, данные были получены по результатам анализа распределения аллелей и генотипов полиморфизма С-590Т гена *IL4* у женщин с бесплодием и эндометриозом, а именно: частоты встречаемости генотипа ТТ и аллеля Т у пациенток с бесплодием и эндометриозом значительно превышали ($\chi^2=10,23$; $p<0,05$; и $\chi^2=6,74$; $p<0,05$ – соответственно) соответствующие показатели у женщин с бесплодием без эндометриоза (табл. 13).

Таблица 13

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма С-590Т гена *IL4* (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма С-590Т гена <i>IL4</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , р
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
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)	
С	155 (85,20)	218 (75,20)	6,74 $p<0,05$
Т	27 (14,80)	72 (24,80)	

При изучении частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма G-174C гена *IL6* среди женщин с бесплодием было зарегистрировано, что преобладал генотип GG (72,5%), в то время как генотип GC и гомозиготный генотип по аллелю C встречались в 25,3 и 2,2% случаев – соответственно. Результаты генотипирования аллельных вариантов гена *IL6* у больных с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, показали преобладание гомозиготного генотипа GG (47,6%) над гетерозиготным GC(35,2%) и гомозиготным CC (17,2%) генотипами (табл. 14).

При сопоставлении данных, полученных в результате генетического анализа контрольной группы и группы пациенток, страдающих бесплодием, сопровождающемся эндометриозом, было зарегистрировано значимое увеличение частоты генотипа CC и аллеля C полиморфизма G-174C гена *IL6* у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом ($\chi^2=18,89$; $p<0,001$; $\chi^2=22,62$; $p<0,001$ соответственно) (табл. 14).

Таблица 14

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма G-174C гена *IL6* (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма G-174C гена <i>IL6</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , p
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
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)	
G	155 (85,20)	189 (65,20)	22,62 p<0,001
C	27 (14,80)	101 (34,80)	

Примечание: здесь и в табл. 15: n – количество человек в группе. 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 $p<0,001$.

При исследовании распределения генотипов и аллелей полиморфизма С-592А гена *IL10* у лиц контрольной группы было показано преобладание гомозиготного генотипа СС (78,0%) над гетерозиготным СА (22,0%) и отсутствие гомозиготного генотипа АА (табл. 15).

Среди пациенток с инфертильностью, сочетанной с генитальным эндометриозом, частота встречаемости генотипов полиморфного сайта С-592А гена *IL10* значительно отличалась от таковой в группе контроля ($\chi^2=87,22$; $p<0,001$): в 48,3% случаев был обнаружен генотип СС, в 37,9% – генотип СА и в 13,8% – генотип АА (табл. 15).

Анализ частоты аллелей и генотипов изучаемого полиморфизма гена *IL10* позволил установить, что генотип АА ($\chi^2=87,22$; $p<0,001$) и аллель А значительно чаще ($\chi^2=28,76$; $p<0,001$) встречались среди пациенток с бесплодием и эндометриозом, чем среди женщин с бесплодием без эндометриоза (табл. 15).

Таблица 15

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма С-592А гена *IL10*
(абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма С-592А гена <i>IL10</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , р
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
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)	
С	162 (89,00)	195 (67,20)	28,76 p<0,001
А	20 (11,00)	95 (32,80)	

Анализ характера распределения генотипов и аллелей полиморфизма А-874Т гена *IFNG* не выявил значимых различий ($p>0,05$). Было показано, что среди всех обследованных нами женщин преобладающим оказался

генотип АА, а редким – генотип ТТ полиморфизма А-874Т гена *IFNG* (табл. 16).

Таблица 16

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма А-874Т гена *IFNG*
(абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма А-874Т гена <i>IFNG</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , р
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
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)	
А	148 (8,13)	233 (80,30)	0,07 p>0,05
Т	34 (18,70)	57 (19,70)	

Для полиморфизма С-509Т гена *TGFB* у женщин с бесплодием было выявлено преобладание гомозиготного генотипа СС (62,6%), в то время как редким генотипом оказался ТТ(6,6%), аналогичную тенденцию имело распределение частот встречаемости генотипов в группе пациенток, страдающих бесплодием и эндометриозом (табл. 17).

Таблица 17

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма С-509Т гена *TGFB*
(абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма С-509Т гена <i>TGFB</i>	Характеристика обследованных лиц		χ^2 , р
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
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)	
С	142 (78,00)	194 (67,20)	6,36 p<0,05
Т	40 (22,00)	95 (32,80)	

У женщин с бесплодием и эндометриозом генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С-509Т гена *TGFB* выявлялись значимо чаще ($\chi^2=5,49$; p<0,05;

и $\chi^2=6,36$; $p<0,05$ – соответственно), чем у пациенток контрольной группы (табл. 17).

3.6. Содержание цитокинов в сыворотке крови у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

В процессе нами были получены интересные результаты, которые представлены в таблице 18.

Таблица 18

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: здесь и в табл. 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 28:

n – количество человек в группе. Данные представлены в виде медианы (Me), характеризует центральную тенденцию, и верхнего и нижнего квартилей, характеризующие разброс значений показателя у 50% респондентов (Q_1 – Q_3), где Q_1 – 25% перцентиль, Me – 50% перцентиль, Q_3 – 75% перцентиль. Анализ количественных данных, не имеющих нормальное распределение, проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. p – уровень статистической значимости различий между группами. Статистически значимые различия считали при $p<0,005$; $p<0,001$; $p<0,05$.

Проведенный иммуноферментный анализ у женщин с бесплодием без эндометриоза позволил установить, что уровень IL-1 β был равным 14,40 (8,13 – 24,88) пг/мл, содержание IFN- γ составляло 45,50 (24,50 – 57,12) пг/мл, при этом концентрация таких провоспалительных цитокинов, как IL-2 и IL-6, оказалась равной 35,82 (27,80 – 47,60) и 15,60 (7,87 – 27,72) пг/мл – соответственно. Содержание противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10 и TGF- β составляло 11,00 (8,75 – 15,88), 11,00 (7,87 – 14,00) и 590,54 (515,54 – 687,75) пг/мл – соответственно. Исследование уровня цитокинов в сыворотке крови у пациенток с бесплодием и эндометриозом позволило зарегистрировать ряд отличий. Так, было обнаружено значимое увеличение содержания IL-1 β (в три раза), IL-4 (более, чем в пять раз), IL-6 (в четыре раза), IL-10 (более, чем в два раза), TGF- β (на 48%), которое сопровождалось достоверным снижением уровня IL-2 более, чем в два раза по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы (табл. 18).

Следует отметить также, что у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, наблюдалась тенденция к снижению уровня IFN- γ (табл. 18).

Таким образом, полученные нами фактические данные свидетельствуют в пользу того, что бесплодие, ассоциированное с генитальным эндометриозом, сопровождается выраженным дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови.

3.7. Ассоциированность аллельного полиморфизма генов цитокинов с их уровнем в сыворотке крови у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

Исследование аллельного полиморфизма генов в целом и отдельных аллелей генов, ассоциированных с повышенным либо сниженным содержанием соответствующего цитокина, весьма актуальны при изучении функционирования цитокиновой сети при эндометриозе и бесплодии.

В контрольной группе лиц, имеющих различные генотипы

промоторного участка C511T гена *IL1B*, уровень IL-1 β в сыворотке крови у индивидов с генотипом CC был ниже, чем у лиц с генотипом CT, женщины с генотипом TT в данной группе не встречались ($p_{CT/CC}<0,001$). У пациенток, страдающих бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, с генотипами CT и TT было обнаружено повышение концентрации IL-1 β в сыворотке крови по сравнению с лицами с генотипом CC ($p_{CC/TT}<0,001$; $p_{CT/CC}<0,05$) (табл. 19).

Таблица 19

Концентрация IL-1 β в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса C511T гена *IL1B*, Me (Q_{25%} - Q_{75%})

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
CC	10,00 (6,79 – 14,97) $p_{CC/TT}<0,001$	30,54 (19,6 – 50,0) $p<0,001$ $p_{CC/TT}<0,001$
CT	30,92 (24,88 – 44,86) $p_{CT/CC}<0,001$	47,55 (38,6 – 68,58) $p<0,05$ $p_{CT/CC}<0,05$
TT	0 $p_{TT/CT}<0,001$	99,77 (78,0 – 114,75) $p<0,001$ $p_{TT/CT}<0,001$

Примечание: p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{CC/TT}$, $p_{CT/CC}$, $p_{CT/TT}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса C511T гена *IL1B*.

Наибольшая концентрация IL-1 β в данной группе наблюдалась при носительстве генотипа TT ($p_{TT/CT}<0,001$; $p_{CC/TT}<0,001$). При изучении зависимости содержания цитокина от полиморфизма соответствующего гена было получено, что у пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, и у женщин группы контроля, носителей разных генотипов полиморфного участка C511T гена *IL1B*, уровень IL-1 β в сыворотке крови статистически значимо различался. В то же время у женщин с бесплодием и

эндометриозом при наличии генотипа СС полиморфизма С511Т гена *IL1B* регистрировалось повышение концентрации цитокина более чем в три раза, СТ - более чем в полтора раза по сравнению с концентрацией интерлейкина у пациенток с аналогичными генотипами в контрольной группе (табл. 19).

У обследованных женщин с бесплодием без эндометриоза, имеющих различные аллели полиморфного сайта Т-330G гена *IL2*, выявлено, что при наличии генотипа GG содержание IL-2 в сыворотке крови было ниже, чем у лиц с генотипами TT и TG ($p_{TT/GG} < 0,001$; $p_{GG/TG} > 0,05$) (табл. 20).

Таблица 20

Концентрация IL-2 в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса Т-330G гена *IL2*, Ме ($Q_{25\%}$ - $Q_{75\%}$)

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
TT	35,50 (29,03 – 49,05) $p_{TT/GG} < 0,001$	16,78 (14,53 – 22,93) $p < 0,001$ $p_{TT/GG} < 0,001$
TG	38,55 (29,87 – 61,85) $p_{TG/TT} > 0,05$	12,67 (11,0 – 15,2) $p < 0,001$ $p_{TG/TT} < 0,001$
GG	18,36 (16,56 – 20,08) $p_{GG/TG} < 0,001$	10,00 (8,97 – 11,4) $p < 0,001$ $p_{GG/TG} > 0,05$

Примечание:

p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{TT/GG}$, $p_{TG/TT}$, $p_{GG/TG}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса Т-330G гена *IL2*.

В свою очередь, у женщин без эндометриоза с гетерозиготным генотипом TG концентрация IL-2 значимо не отличалась от показателя в случае носительства генотипа TT. В группе женщин с бесплодием и эндометриозом отмечалась наибольшая концентрация IL-2 в сыворотке крови при наличии генотипа TT, а наименьшим было содержание его в сыворотке крови у женщин-носителей генотипа GG полиморфизма Т-330G гена *IL2*

($p_{TT/GG} < 0,001$; $p_{TG/TT} < 0,001$; $p_{GG/TG} > 0,05$). В сыворотке крови пациенток с эндометриозом и бесплодием со всеми вариантами генотипов гена *IL2* концентрация соответствующего цитокина была ниже, чем у женщин из группы сравнения, имеющих эти же варианты гена ($p < 0,001$) (табл. 20).

Для полиморфизма С-590Т гена *IL4* в контрольной группе выявлено, что концентрация IL-4 в крови у лиц с генотипами СС и СТ значимо не различалась ($p_{СТ/СС} > 0,05$) (табл. 21).

Таблица 21

Концентрация IL-4 в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса С-590Т гена *IL4*, Ме ($Q_{25\%} - Q_{75\%}$)

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
СС	11,00 (8,0 – 16,0) $p_{СС/ТТ} < 0,001$	50,45 (40,0 – 70,5) $p < 0,001$ $p_{СС/ТТ} < 0,001$
СТ	11,00 (9,5 – 15,38) $p_{СТ/СС} > 0,05$	58,96 (44,0 – 82,3) $p < 0,001$ $p_{СТ/СС} > 0,05$
ТТ	0 $p_{ТТ/СТ} < 0,001$	100,75 (97,11 – 103,77) $p < 0,001$ $p_{ТТ/СТ} < 0,001$

Примечание:

p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{СС/ТТ}$, $p_{СТ/СС}$, $p_{СТ/ТТ}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса С-590Т гена *IL4*.

У женщин с бесплодием и эндометриозом при этом наиболее высокая концентрация IL-4 в сыворотке крови была установлена при носительстве генотипа ТТ полиморфизма С-590Т гена *IL4* ($p_{ТТ/СТ} < 0,001$; $p_{СС/ТТ} < 0,001$), в то же время у женщин с генотипами СТ и СС содержание IL-4 крови значимо не различалось ($p_{СТ/СС} > 0,05$). Следует отметить, что у женщин с бесплодием и эндометриозом вне зависимости от генотипа локуса С-590Т гена *IL4*

концентрация IL-4 была выше, чем у женщин с бесплодием без эндометриоза (табл. 21).

Проведенное нами исследование показало, что для полиморфизма G-174C гена *IL6* в обеих группах выявлена максимальная концентрация IL-6 в сыворотке крови у лиц с генотипом GG по сравнению с обследованными с другими полиморфными вариантами исследуемого гена. Минимальная концентрация IL-6 в сыворотке крови как у женщин с эндометриозом и бесплодием, так и у пациенток контрольной группы была ассоциирована с гомозиготным генотипом CC полиморфного варианта G-174C гена *IL6*. Однако у женщин с бесплодием и эндометриозом, по сравнению с пациентками с бесплодием без эндометриоза, наблюдалось повышение концентрации цитокина в крови вне зависимости от генотипа ($p < 0,05$; $p < 0,001$) (табл. 22).

Таблица 22

Концентрация IL-6 в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса G-174C гена *IL6*, Me ($Q_{25\%}$ - $Q_{75\%}$)

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
GG	55,93 (54,20 – 57,69) $p_{CC/GG} < 0,001$	89,00 (65,60 – 108,40) $p < 0,05$ $p_{CC/GG} < 0,05$
GC	12,36 (5,68 – 26,78) $p_{GC/GG} < 0,001$	70,00 (49,90 – 89,34) $p < 0,001$ $p_{GC/GG} < 0,05$
CC	15,80 (8,00 – 26,25) $p_{CC/GC} > 0,05$	43,32 (32,50 – 69,40) $p < 0,001$ $p_{CC/GC} < 0,05$

Примечание:

p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{CC/GG}$, $p_{GC/CC}$, $p_{GG/GC}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса G-174C гена *IL6*.

В группе пациенток с бесплодием без эндометриоза, имеющих различные генотипы промоторного участка С-592А гена *IL10*, у индивидов с генотипом СС уровень в крови IL-10 незначительно различался в сравнении с лицами-носителями генотипа СА ($p_{CA/CC}>0,05$), а женщины с генотипом АА вообще отсутствовали ($p_{CC/AA}<0,001$; $p_{AA/CA}<0,001$) (табл. 23).

Таблица 23

Концентрация IL-10 в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса С-592А гена *IL10*, Ме ($Q_{25\%}$ - $Q_{75\%}$)

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
СС	11,00 (8,67 – 14,63) $p_{CC/AA}<0,001$	27,79 (23,0 – 38,9) $p<0,001$ $p_{CC/AA}<0,001$
СА	9,00 (5,96 – 11,53) $p_{CA/CC}>0,05$	30,00 (29,0 – 44,45) $p<0,001$ $p_{CA/CC}>0,05$
АА	0 $p_{AA/CA}<0,001$	15,93 (15,0 – 17,83) $p<0,001$ $p_{AA/CA}<0,001$

Примечание:

p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{CC/AA}$, $p_{CA/CC}$, $p_{CA/AA}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса С-592А гена *IL10*.

При изучении результатов распределения генотипов промоторного сайта С-592А гена *IL10* среди пациенток с инфертильностью, ассоциированной с эндометриозом, была выявлена сходная закономерность распределения генотипов, однако минимальное значение интерлейкина регистрировалось при носительстве АА генотипа ($p_{CC/AA}<0,001$; $p_{CA/CC}>0,05$; $p_{AA/CA}<0,001$). Интересно отметить, что у пациенток с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, наблюдалась общая тенденция к значительному росту концентрации IL-10 вне зависимости от генотипа, по

сравнению с женщинами контрольной группы ($p < 0,001$) (табл. 23).

Среди больных бесплодием без эндометриоза была выявлена значимая зависимость между содержанием IFN- γ в крови и полиморфными вариантами гена *IFNG*. При этом обнаружено, что у пациенток, несущих генотип ТТ полиморфизма +874А/Т гена *IFNG*, содержание IFN- γ в сыворотке крови было выше, чем в случае носительства генотипа АТ; в свою очередь, при генотипе АА содержание IFN- γ в крови было минимальным ($p_{AA/TT} < 0,001$; $p_{AT/AA} < 0,001$; $p_{TT/AT} < 0,05$). У женщин с бесплодием и эндометриозом, имеющих различные аллели промоторного локуса +874А/Т гена *IFNG*, не были выявлены статистически значимые различия концентрации IFN- γ , однако максимальное содержание цитокина обнаружено среди лиц с генотипом ТТ (46,84 пг/мл), в то время как минимальный уровень был зарегистрирован у пациенток с генотипом АА (33,15 пг/мл) (табл. 24).

Таблица 24

Концентрация IFN- γ в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса А-874Т гена *IFNG*, Ме (Q_{25%} - Q_{75%})

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
АА	33,50 (21,08 – 46,65) $p_{AA/TT} < 0,001$	33,15 (21,9 – 47,8) $p > 0,05$ $p_{AA/TT} > 0,05$
АТ	59,75 (51,25 – 71,07) $p_{AT/AA} < 0,001$	46,30 (24,72 – 62,32) $p < 0,05$ $p_{AT/AA} > 0,05$
ТТ	70,91 (64,4 – 77,12) $p_{TT/AT} < 0,05$	46,84 (32,85 – 58,35) $p < 0,05$ $p_{TT/AT} > 0,05$

Примечание:

p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{AA/TT}$, $p_{AT/AA}$, $p_{AT/TT}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса +874А/Т гена *IFNG*.

Кроме того, концентрация IFN- γ в сыворотке крови у инфертильных женщин с эндометриозом, несущих генотипы АТ и ТТ, оказалась ниже по сравнению с пациентками из группы контроля с теми же генотипами ($p < 0,05$), в то же время содержание IFN- γ в сыворотке крови при генотипе АА локуса +874А/Т гена *IFNG* значимо не различались в двух группах ($p > 0,05$) (табл. 24).

В контрольной группе среди лиц, имеющих различные аллели локуса С-509Т гена *TGFB*, у пациенток с генотипом СТ уровень TGF- β в крови превышал его содержание у лиц, имеющих генотипы СС ($p_{СТ/СС} < 0,05$) и ТТ ($p_{ТТ/СТ} < 0,05$) (табл. 25).

Таблица 25

Концентрация TGF- β в сыворотке крови (пг/мл) у обследованных женщин в зависимости от генотипа локуса С-509Т гена *TGFB*, Ме ($Q_{25\%}$ - $Q_{75\%}$)

Генотип	Характеристика обследованных лиц	
	Женщины с бесплодием n=91	Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145
СС	571,44 (520,0 – 685,04) $p_{СС/ТТ} > 0,05$	865,00 (743,35 – 968,84) $p < 0,001$ $p_{СС/ТТ} < 0,05$
СТ	750,00 (640,0 – 920,45) $p_{СТ/СС} < 0,05$	900,75 (735,92 – 1060,55) $p < 0,001$ $p_{СТ/СС} > 0,05$
ТТ	607,42 (484,11 – 684,08) $p_{ТТ/СТ} < 0,05$	1087,21 (840,0 – 1245,65) $p < 0,001$ $p_{ТТ/СТ} < 0,05$

Примечание:

p – значимость различий показателей по сравнению с их значениями у лиц контрольной группы;

$p_{СС/ТТ}$, $p_{СТ/СС}$, $p_{СТ/ТТ}$ – значимость различий показателей в зависимости от аллельного варианта локуса С-509Т гена *TGFB*.

Среди женщин с бесплодием и эндометриозом значимое, более высокое содержание TGF- β в сыворотке крови отмечалось у лиц с генотипом ТТ по сравнению с пациентками, несущими генотипы СТ и СС промоторного сайта соответствующего гена ($p_{ТТ/СТ} < 0,05$; $p_{СС/ТТ} < 0,05$). Установлено, что вне

зависимости от генотипа локуса С-509Т гена *TGFB* у пациенток, страдающих бесплодием и эндометриозом, регистрировалось значимое увеличение концентрации IFN- γ в сыворотке крови по сравнению с женщинами группы контроля ($p < 0,001$) (табл. 25).

3.8. Комбинации полиморфных вариантов генов цитокинов у женщин с бесплодием, сочетанным с эндометриозом

С целью возможной оценки комплексного вклада изученных полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов в развитие бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, нами был проведен анализ сочетаний генотипов полиморфизма С511Т гена *IL1B*, полиморфизма Т-330G гена *IL2*, полиморфизма С-590Т гена *IL4*, полиморфизма G-174C гена *IL6*, полиморфизма С-592А гена *IL10*, полиморфизма А-874Т гена *IFNG*, полиморфизма С-509Т гена *TGFB* (табл. 26).

Результатом проведенного исследования явились выявленные комбинации генотипов трех групп: протекторные, предрасполагающие и интактные. Установлено протекторное влияние сочетания полиморфных вариантов генотипов СС гена *IL1B* + СС гена *IL4* + СС гена *IL6* + СС гена *IL10* + СС гена *TGFB*, частота встречаемости которого у инфертильных женщин без эндометриоза составила 5 случаев из 91 (5,5%), а у женщин с бесплодием и эндометриозом данное сочетание генотипов отсутствовало ($p < 0,05$). Риск развития бесплодия, сопровождающегося эндометриозом, у носителей данного сочетания вариантных генов был равен 0,766 (0,736 – 0,796), что подтверждает протективную роль данного генотипа (табл. 26).

К сочетаниям, обладающим предрасполагающими свойствами, были отнесены следующие комбинации «рисковых» генотипов: СС гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + TT гена *TGFB*, частота встречаемости которой у больных бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, составила 6 случаев, а в группе женщин с бесплодием без эндометриоза обнаруживалась лишь у 1 пациентки ($p < 0,05$); сочетание

геноипов СТ гена *IL1B* + СС гена *IL4* + GG гена *IL6* + СА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB* встречалось у 21 больной с бесплодием и эндометриозом и только в 2 случаях из 91 – у пациенток с бесплодием без эндометриоза ($p < 0,05$). Риск развития бесплодия и эндометриоза при носительстве данного сочетания генов у женщин увеличивался более чем в 20 раз; у 7 пациенток с бесплодием, сопровождающемся эндометриозом, была выявлена комбинация генотипов СС гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + GG гена *IL6* + СС гена *IL10* + СС гена *TGFB*, а среди женщин без эндометриоза отсутствовала ($p < 0,05$). Риск развития бесплодия, сочетанного с эндометриозом в этом случае увеличивался более чем в 2 раза. Все остальные комбинации описанных генов оказались интактными к развитию бесплодия, сочетанного с эндометриозом (табл.26).

Таким образом, наличие в генотипе женщины данных сочетаний полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов следует расценивать как предрасполагающий фактор возникновения бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

Комбинации полиморфных вариантов С511Т гена *IL1B*, С-590Т гена *IL4*, G-174С гена *IL6*, С-592А гена *IL10*, С-509Т гена *TGFB* у обследованных женщин

Комбинации генотипов	Женщины с бесплодием n=91		Женщины с бесплодием и эндометриозом n=145	
	n	%	n	%
1	2	3	4	5
IL1BCC+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBTT	4	4,4	0	0
χ^2, p			4,00	$p>0,05$
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6GC+IL10CA+TGFBCT	0	0	2	1,4
$p; \chi^2$			1,99	$p>0,05$
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CC+IL10CC+TGFBCT	2	2,2	2	1,4
$p \chi^2$			0,199	$p>0,05$
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CC+IL10CC+TGFBCC	5	5,5	0	0
$p \chi^2$			5,02	$p<0,05$
OR (CI95%)			0,766 (0,736 – 0,796)	
IL1BCC+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBCT	4	4,4	3	2,1
$p \chi^2$			0,95	$p>0,05$
OR (CI95%)			Не определялся	

1	2	3	4	5
IL1BCC+IL4CC+IL6GC+IL10CC+TGFBCC	5	5,5	5	3,4
$p \chi^2$			0,51 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GC+IL10AA+TGFBCC	0	0	3	2,1
$p \chi^2$			2,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBCC	5	5,5	5	3,4
$p \chi^2$			0,51 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CC+IL10CC+TGFBCT	2	2,2	2	1,4
$p \chi^2$			0,199 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6GC+IL10CC+TGFBCT	1	1,1	3	2,1
$p \chi^2$			0,36 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBTT	1	1,1	3	2,1
$p \chi^2$			0,36 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GC+IL10CA+TGFBCT	1	1,1	2	1,4
$p \chi^2$			0,043 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	0	0	4	2,8

1	2	3	4	5
$p \chi^2$			4,00 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10AA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6GG+IL10CA+TGFBCC	2	2,2	2	1,4
$p \chi^2$			0,199 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4TT+IL6GC+IL10CC+TGFBCC	2	2,2	2	1,4
$p \chi^2$			0,199 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CC+IL10AA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4TT+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6CC+IL10CC+TGFBCC	0	0	2	1,4
$p \chi^2$			1,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBTT	1	1,1	6	4,1
$p \chi^2$			6,72 $p < 0,05$	

1	2	3	4	5
OR (CI95%)			9,931 (1,176 – 83,875)	
IL1BCC+IL4TT+IL6CC+IL10CA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	2	2,2	21	14,5
$p \chi^2$			30,73 $p < 0,05$	
OR (CI95%)			20,854 (4,758 – 91,409)	
IL1BCC+IL4TT+IL6GG+IL10CA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	1	1,1	1	0,7
$p \chi^2$			0,09 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CC+IL10AA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4TT+IL6CC+IL10CC+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6CC+IL10CA+TGFBCT	0	0	2	1,4
$p \chi^2$			1,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	

1	2	3	4	5
IL1BCC+IL4CC+IL6CG+IL10AA+TGFBTT	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			1,88 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CC+IL10AA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CG+IL10CA+TGFBCC	2	2,2	1	0,7
$p \chi^2$			0,943 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6CG+IL10CC+TGFBTT	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			1,88 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CG+IL10AA+TGFBTT	2	2,2	1	0,7
$p \chi^2$			0,943 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6CG+IL10AA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6CG+IL10CC+TGFBCC	1	1,1	1	0,7
$p \chi^2$			0,09 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBCC	0	0	7	4,8

1	2	3	4	5
$p \chi^2$			13,48 p<0,05	
OR (CI95%)			2,281 (2,02 – 2,146)	
IL1BCC+IL4CT+IL6CG+IL10CA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 p>0,05	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6CG+IL10CC+TGFBCT	1	1,1	2	1,4
$p \chi^2$			0,043 p>0,05	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 p>0,05	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCC+IL4CC+IL6GG+IL10AA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 p>0,05	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4TT+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 p>0,05	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	3	3,3	0	0
$p \chi^2$			2,99 p>0,05	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 p>0,05	

1	2	3	4	5
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBC	4	4,4	1	0,7
$p \chi^2$			0,85 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CG+IL10CC+TGFBC	5	5,5	1	0,7
$p \chi^2$			1,46 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBC	3	3,3	3	2,1
$p \chi^2$			0,30 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4TT+IL6CG+IL10CA+TGFBT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6CG+IL10CC+TGFBC	3	3,3	1	0,7
$p \chi^2$			0,36 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBC	3	3,3	2	1,4
$p \chi^2$			0,91 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CC+IL10CA+TGFBC	0	0	3	2,1
$p \chi^2$			2,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	

1	2	3	4	5
IL1BCT+IL4CT+IL6GG+IL10AA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBCC	5	5,5	5	3,4
$p \chi^2$			0,51 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1bCT+IL4CT+IL6GG+IL10AA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10AA+TGFBCT	1	1,1	2	1,4
$p \chi^2$			0,043 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4TT+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	2	2,2	1	0,7
$p \chi^2$			0,043 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6CG+IL10CA+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CG+IL10CA+TGFBCT	2	2,2	3	2,1
$p \chi^2$			0,002 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CG+IL10CA+TGFBCC	3	3,3	1	0,7

1	2	3	4	5
$p \chi^2$			0,36 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CC+IL10AA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CG+IL10AA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CG+IL10CC+TGFBCT	1	1,1	1	0,7
$p \chi^2$			0,09 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6CG+IL10CC+TGFBCT	1	1,1	1	0,7
$p \chi^2$			0,09 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6CG+IL10CC+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4TT+IL6GG+IL10CC+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	

1	2	3	4	5
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6CG+IL10CA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CT+IL6CG+IL10CA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BCT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBCC	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			1,88 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6GG+IL10CC+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CT+IL6GG+IL10AA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	

1	2	3	4	5
IL1BTT+IL4CT+IL6GC+IL10AA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4TT+IL6CG+IL10CC+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6CC+IL10AA+TGFBCC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBTT	0	0	2	1,4
$p \chi^2$			1,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6CC+IL10CC+TGFBTT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CT+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CT+IL6GG+IL10CC+TGFBCT	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBCT	1	1,1	0	0

1	2	3	4	5
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6CG+IL10CC+TGFBCT	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6GG+IL10CA+TGFBTT	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4TT+IL6GG+IL10CC+TGFBCC	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6CG+IL10CC+TGFBCC	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4TT+IL6CG+IL10CC+TGFBCC	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6CG+IL10CA+TGFBCT	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4TT+IL6GG+IL10CA+TGFBCC	1	1,1	0	0
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	

1	2	3	4	5
OR (CI95%)			Не определялся	
IL1BTT+IL4CC+IL6CC+IL10CA+TGFBC	0	0	1	0,7
$p \chi^2$			0,99 $p > 0,05$	
OR (CI95%)			Не определялся	

Примечание: n – количество человек в группе. 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 $p < 0,05$. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом.

3.9. Ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с наличием трубного фактора у женщин с бесплодием

На заключительном этапе нашего исследования был проведен анализ взаимосвязи изученных полиморфных генов иммунорегуляторных цитокинов с наличием трубного фактора бесплодия.

По результатам проведенной лапароскопии у женщин обеих групп был выявлен трубный фактор бесплодия. Зарегистрировано, что у 47% пациенток с бесплодием и 63,4% женщин с бесплодием и эндометриозом маточные трубы были непроходимы.

Мы провели анализ комбинаций полиморфных вариантов С511Т гена *IL1B*, С-590Т гена *IL4*, G-174С гена *IL6*, С-592А гена *IL10*, С-509Т гена *TGFB* среди этих пациенток (табл. 27).

Таблица 27

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: n – количество человек в группе. 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 $p < 0,05$; $\chi^2 = 11,18$; $\chi^2 = 19,1$ соответственно. OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом.

Были зарегистрированы две рисковые комбинации генотипов: у женщин-носителей сочетания генотипов СТ гена *IL1B* + СТ гена *IL4* + СС гена *IL6* + АА гена *IL10* + ТТ гена *TGFB* и комбинации ТТ гена *IL1B* + ТТ

гена IL4 + GC гена IL6 + СА гена IL10 + СТ гена TGFB в основной группе непроходимость маточных труб встречалась значимо чаще (табл. 27).

Таким образом, выявленные нами рискованные комбинации генотипов полиморфных вариантов генов иммунорегуляторных цитокинов позволяют определить вероятность развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом. По результатам исследования было установлено, что существуют рискованные комбинации генов, которые чаще выявлялись у женщин с трубным фактором бесплодия, что могло бы быть использовано в программе обследования infertильных женщин.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Бесплодие является актуальной проблемой современного общества. Медицинская значимость нарушения репродуктивной функции у женщин определяется необходимостью решения некоторых проблем, 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].

Установлено, что частота бесплодия, превышающая 15%, значительно влияет на демографические показатели, превосходя суммарное воздействие на численность населения невынашивания беременности и перинатальной патологии [Гаспаров А. С., 2000; Овсянникова Т. В., 2001; Kamath M.S. et al., 2012; McLaren J.F. et al., 2012].

Попытки проведения эпидемиологических исследований женского бесплодия предпринимались медицинскими службами различных территорий нашего государства. В частности, в Сибирском регионе исследования, посвященные проблеме бесплодия, немногочисленны и фрагментарны. В городе Томске О.С. Филипповым в 1995 г. было проведено полевое эпидемиологическое исследование, по результатам которого выявленная частота бесплодия составила 16,7% [Филиппов О.С., 1995]. Позже, в 1999 г., в Западно-Сибирском регионе были уточнены показатели частоты бесплодия: среди городского населения – 16,4%, среди сельского – 17% [Филиппов О.С., 1999]. По данным работы Е.Т. Кузьменко, распространенность нарушения репродуктивной функции среди женского населения в Иркутской области за период 2000-2005 гг. в среднем составляла 19,56% [Кузьменко Е.Т., 2008]. Как свидетельствуют результаты исследования, проведенного в 2010 году, частота бесплодия в городе Кемерово составила 20,5% [Устинова Т.А. и соавт., 2010].

Наиболее спорными являются причины развития бесплодия при наружном генитальном эндометриозе, а также патогенетическая связь этих двух состояний. Несмотря на длительную историю изучения заболевания,

многие вопросы этиологии и патогенеза этой болезни остаются лишь на уровне гипотез [Guo S.W., 2006]. Некоторые исследователи не находят патогенетической связи эндометриоза и бесплодия [Fujishita A. et al., 2002; Samonte I.E. et al., 2002]. Тем не менее, неоднократными исследованиями показана ассоциация этих двух состояний [Кулаков В.И. и соавт., 1997; Garrido N. et al., 2000; Hansen K.A. et al., 2006; Fanta M. et al., 2012; Marana R. et al., 2012; Soriano D. et al., 2012]. Но до сих пор не сформулирована единая точка зрения на причины развития бесплодия при наружном генитальном эндометриозе [Горбушин С.М., 1999; Collinet P. et al., 2006; Senapati S., 2011].

Диагностика эндометриоза основана на анализе клинических проявлений, данных гинекологического обследования и применения специальных методов исследования. Эндометриоз отличается большим разнообразием клинической картины от практически бессимптомного течения до ярких клинических проявлений в виде дисменореи, диспареунии, дисхезии, изнуряющих тазовых болей [Dessole M. et al., 2012]. Порой основной жалобой женщины с эндометриозом является отсутствие беременности, а генитальный эндометриоз является находкой исключительно во время лапароскопии [Адамян Л.В. и соавт., 2006; Ozkan S., 2008; Lobo R.A. et al., 2012].

Нами было обследовано 236 женщин с бесплодием, 91 из которых страдала изолированным бесплодием, 145 – бесплодием, ассоциированным с эндометриозом. Средний возраст всех обследованных женщин составил $30,22 \pm 0,28$ лет. Длительность бесплодия у обследованных женщин колебалась в пределах от 1 года до 11 лет. У более чем половины инфертильных женщин без эндометриоза встречалось вторичное бесплодие. В то же время у женщин с бесплодием и эндометриозом значимо чаще мы выявляли первичное бесплодие (табл. 7). Описанные результаты находят подтверждение в некоторых данных литературы. Так, Ищенко А.И. и соавт. [2008] указывают в своей монографии на преобладание первичного бесплодия среди женщин с эндометриозом.

При анализе акушерско-гинекологического анамнеза обследованных нами женщин статистически значимых различий между группами выявлено не было. Однако прослеживался наследственный характер эндометриоза у женщин с бесплодием, эта особенность заболевания также отмечается и другими исследователями [Адамян Л.В. и соавт., 2006; Ищенко А.И. и соавт., 2008].

Основной жалобой у женщин с бесплодием и эндометриозом была дисменорея (она наблюдалась более чем у трети пациенток); на втором месте по распространенности находилась тазовая боль (ее предъявляла треть женщин). Тазовая боль, как правило, нарушает качество жизни женщин и является актуальной проблемой, требующей устранения [Luciano D.E. et al., 2011]. Механизм боли при эндометриозе достаточно многообразен. Причиной боли при инвазии эндометриодных гетеротопий могут являться местные воспалительные изменения, сопровождающиеся изменениями в синтезе цитокинов, хемокинов, простагландинов [Burney R.O. et al., 2012]; поражение нервных волокон тканей эктопическими эндометриальными клетками, провоцирующее также продукцию аллогенных веществ в перитонеальной жидкости; наиболее очевидным источником тазовых болей при эндометриозе представляется изменение топографии органов малого таза вследствие образования спаек и их натяжения [Mac Lavery C.M., Shaw R.W., 1995; Чернуха Г.Е., 2011; Wenger J.M. et al., 2012].

Диспареунию отмечала пятая часть женщин с бесплодием и эндометриозом. Сходное распределение симптомов по частоте встречаемости находит отражение в литературе [MacLavery C.M., Shaw R.W., 1995; Адамян Л.В. и соавт., 2006; Ищенко А.И. и соавт., 2008; Khoufache K. et al., 2012]. В группе пациенток с бесплодием без эндометриоза лишь у одной женщины была выявлена тазовая боль, а жалобы на дисменорею и диспареунию отсутствовали вовсе.

Основным лечебно-диагностическим методом, применяемым нами для диагностики и хирургической коррекции бесплодия, сопровождающегося

эндометриозом, была лапароскопия. С целью исключения патологических процессов в эндометрии всем пациенткам выполнялась гистероскопия и биопсия эндометрия, в то время, как для верификации трубного фактора бесплодия была проведена хромогидротубация.

Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, которые ссылаются на то, что при наружном генитальном эндометриозе конкретную причину развития инфертильности выявить не удается [Cahill D.J., 2002; Schindler A.E., 2004; do Amaral V.F. et al., 2005; Gupta S., 2008; Senapati S., 2011].

Наиболее очевидной причиной бесплодия при эндометриозе является спаечный процесс в области малого таза, что приводит к нарушению нормальных анатомо-функциональных взаимоотношений между яичником и маточной трубой, вызывает нарушение транспортной функции и проходимости маточных труб [Ledger W.L., 1999; Корсак В.С. и соавт., 2006; Harris-Glocker M. et al., 2012; Somigliana E. et al., 2012].

В процессе обследования женщин, страдающих эндометриозом и бесплодием, спаечный процесс наблюдался более чем у половины этих пациенток, а в группе женщин, имеющих только бесплодие, – лишь у одной.

Этиопатогенетическая ассоциация эндометриоза и бесплодия на сегодняшний момент достоверно не раскрыта. Имеются различные данные о возможных механизмах сочетания этих патологических состояний. Одной из возможных причин нарушения репродуктивной функции при генитальном эндометриозе может являться нарушение в цитокиновой системе эндометрия, фолликулов яичников, перитонеальной жидкости [Tsudo T. et al., 2000; Iwabe T., 2002; Langebrekke A., 2006; Адамян Л.В., 2006; Герасимов А.М., 2008; Крутова В.А., 2008; Nishida M. et al., 2011]. В связи с этим последнее время значительное внимание уделяется анализу роли цитокинов в патогенезе формирования очагов гетеротопного эндометрия [Iwabe T. et al., 2002; Адамян Л.В. и соавт., 2006; Ищенко А.И. и соавт., 2008; Gupta S., 2008; Olovsson M. et al., 2011].

В ходе проведения иммуноферментного анализа нами было установлено статистически значимое увеличение содержания IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TGF- β в сыворотке крови у инфертильных пациенток с эндометриозом. При этом выявлялось снижение уровня IL-2, а концентрация IFN- γ значимо не изменялась, была отмечена лишь тенденция к ее снижению (табл.18).

Гармоничное функционирование иммунной системы основывается на генетически детерминированном балансе Th1- и Th2-реакций, который базируется, в первую очередь, на равноценной продукции регуляторных Th1- и Th2-цитокинов [Хаитов Р.М., 2006; Симбирцев А.С., 2004]. На ранней стадии воспалительного ответа синтезируются провоспалительные цитокины, которые оказывают свое воздействие на иммунокомпетентные клетки через рецепторы, а также принимают участие в эффекторной фазе иммунного ответа, запуская специфическое его звено. К этой группе относят: IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, IFN- γ , TNF- α , TNF- β , GM-CSF, MIF. Альтернативную группу представляют противовоспалительные цитокины: IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , IFN- α , IFN- β [Фрейдлин И.С., 1998; Кетлинский С.А., 2008].

В организме человека главным источником цитокинов являются Т-хелперы. Так, Th0 лимфоциты, являясь предшественниками Th1 и Th2 клеток, продуцируют следующий набор цитокинов: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ и др. Активация Th1 лимфоцитов, которые синтезируют IL-1 β , IL-2, IL-3, IFN- γ и TNF- α , влечет за собой стимуляцию Т-лимфоцитов, макрофагов и реализацию клеточного иммунного ответа, который является решающим в защите от чужеродных агентов. В свою очередь, формирование иммунного ответа по гуморальному типу происходит при доминирующем влиянии Th2-цитокинов – IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, TGF- β и др. [Лебедев К.А., Понякина И.Д., 2003].

Согласно современным представлениям, именно нарушение баланса продукции Th1/Th2-цитокинов может иметь значение в реализации

иммунопатогенеза многих заболеваний, в том числе и генитального эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия [Manaseki S., Searle R.F., 1989; Сотникова Н.Ю. и соавт., 2001; Кетлинский С.А., 2002; Айламазян Э.К., 2006; Olovsson M. et al., 2011].

Известно, что при генитальном эндометриозе происходят изменения параметров клеточного иммунитета, способствующие «выживанию» клеток эндометрия, проникших в брюшную полость вследствие снижения эффективности защитных клеточных реакций и повышения выработки факторов, стимулирующих рост и размножение клеточных элементов. Согласно данным последних лет, у пациенток с генитальным эндометриозом установлено повышение содержания IL-1 β в сыворотке крови [Ермолова Н. В., 2008] и в перитонеальной жидкости по сравнению с женщинами без эндометриоза [Као А.Р. et al., 2011; Sikora J. et al., 2012]. IL-1 β способствует повышению выработки хемокинов клетками эктопического эндометрия, что приводит к пролиферации и инвазии эндометриодных гетеротопий [Hirata T. et al., 2010].

Как известно, развитие генитального эндометриоза сопровождается активацией Th2-иммунного ответа и угнетением при этом Th1 [Kyama С.М., 2008; Siedentopf F. et al., 2008; Podgaec S. et al., 2007, 2010; Khoufache K. et al., 2012]. IL-2 является характерным представителем клеточного звена иммунного ответа. В литературе имеются данные, указывающие на снижение уровня IL-2 в перитонеальной жидкости при эндометриозе [Drosdzol-Cop A. et al., 2012].

Важную роль в реализации гуморального иммунного ответа играет противовоспалительный IL-4. Известно, что при наружном генитальном эндометриозе концентрация этого интерлейкина в перитонеальной жидкости и в сыворотке крови повышается [Podgaec S. et al., 2007; Drosdzol-Cop A. et al., 2012].

Антагонистом IL-4 является IFN- γ . Ключевая роль цитокина в межклеточных взаимодействиях и в поддержании гомеостаза предполагает

его участие в иммунопатогенезе эндометриоза и сочетанного с ним бесплодия [Podgaec S. et al., 2007]. Установлено, что при генитальном эндометриозе концентрация IFN- γ в перитонеальной жидкости понижается [Gmyrek G.B. et al., 2008], при этом содержание его в сыворотке крови увеличивается [Othman E.D. et al., 2008].

Участие IL-6 в развитии бесплодия, сочетанного с эндометриозом, в литературных источниках освещена недостаточно. Однако имеются указания на повышение уровня интерлейкина в перитонеальной жидкости при генитальном эндометриозе [Wieser F. et al., 2003] и увеличение его продукции в эндометриодных очагах, что, предположительно, приводит к формированию и функционированию очагов эндометриоза при участии нарушений локального цитокинового баланса и повышения способности эндометриальных клеток к пролиферации [Павлов О.В. и соавт., 2005; Banerjee J. et al., 2012].

IL-10, как известно, способствует смещению иммунного ответа в сторону гуморального [Кетлинский С.А., 2008]. IL-10 очень часто рассматривают как общий цитокин, оказывающий выраженное супрессорное действие на Т-лимфоциты [Rabinovitch A., 2003]. В источниках литературы указаны лишь данные о повышенном содержании в перитонеальной жидкости интерлейкина-10 при эндометриозе [Podgaec S. et al., 2010]. Данные изменения, возможно, могут быть связаны с супрессией Th1 ответа, приводящие к развитию эндометриоза и возможной ассоциации с ним бесплодия. Взаимосвязь между цитокинами типов Th1 и Th2 характеризуется взаимоингибирующим свойством. IL-4 и IL-10 оказывают противовоспалительный эффект преимущественно за счет подавления влияния IFN- γ , усиливающего экспрессию антигенов HLA на поверхности антигенпрезентирующих клеток [Кетлинский С.А., 2002; Vasilescu A., 2003; Bonjardim C.A., 2005].

Известно, что TGF- β обладает иммуносупрессивным и противовоспалительным действием [Ройт А., 2006; Кетлинский С.А., 2008].

Его концентрация значительно повышается в перитонеальной жидкости [Podgaec S. et al., 2012], что способствует увеличению числа фибробластов, воспалительных клеток, пролиферации соединительной ткани формированию фиброза при эндометриозе [Li C.L. et al., 2011], а это, вероятно, может предшествовать развитию бесплодия, сопровождающегося эндометриозом. Таким образом, зарегистрированный нами цитокиновый дисбаланс у женщин с бесплодием и эндометриозом приводит к поляризации иммунного ответа в сторону Th2-реакций.

В исследованиях последних лет отражены немногочисленные, но представляющие собой научный интерес данные о возможном участии иммунорегуляторных цитокинов в формировании женского бесплодия [Chaouat G. et al., 2007]. Выявлено, что IL-6, IL-11, TGF- β имеют определенное значение в процессах имплантации, и, вероятно, увеличение их содержания в перитонеальной жидкости и крови приводит к бесплодию [Singh M. et al., 2011]. При этом отмечено, что концентрация IL-6 в сыворотке крови явно выше у женщин, страдающих бесплодием неуточненной этиологии [Demir B. et al., 2009; Ingman W.V. et al., 2009]. В то же время существуют данные об ассоциации дефицита IL-2, IL-4, IL-7 в фолликулярной жидкости и низкого образования «качественных» ооцитов, что тоже может являться причиной инфертильности [Ostanin A.A. et al., 2007]. Таким образом, можно сделать вывод о том, что дисбаланс в системе цитокинов предрасполагает к развитию бесплодия, сочетанного с эндометриозом, и является особенностью инфертильности без сочетания с эндометриозом [Horká P. et al., 2011].

Ведущую роль в механизме развития генитального эндометриоза мы видим в генетически обусловленных нарушениях иммунного гомеостаза, которые определяют своеобразный иммунный ответ на образование эндометриоидных гетеротопий, их инвазию и распространение. 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.

Проведенный нами анализ позволил установить, что аллель Т полиморфизма С511Т гена *IL1B* являлся фактором риска развития эндометриоза, ассоциированного с бесплодием. Риск его развития 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-1B у носителей генотипа ТТ [Al-Tahhan M.A. et al., 2011]. Это подтверждают полученные нами данные о наибольшем уровне продукции цитокина в группе инфертильных пациенток с бесплодием при наличии гомозиготного генотипа по аллелю Т (табл. 19).

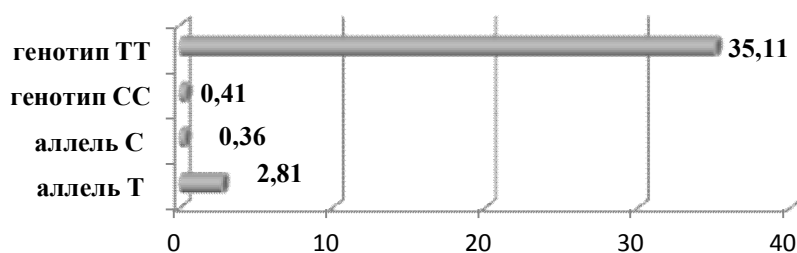


Рис. 1. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей полиморфизма С511Т гена *IL1B*, при $p < 0,05$.

При сравнении распределения генотипов в двух группах пациенток было обнаружено, что в группе женщин с бесплодием и в группе пациенток с бесплодием и эндометриозом характер распределения генотипов полиморфизма Т-330G гена *IL2* значимо не отличался (табл. 13).

В данной работе при изучении ассоциации содержания IL-2 в сыворотке крови с генотипом аллельного полиморфизма Т-330G

соответствующего гена было установлено, что у женщин с генотипом GG (как с эндометриозом, так и без такового) концентрация IL-2 в сыворотке крови была ниже, чем у доноров с генотипами TT и TG. При этом генотип TT чаще регистрировался среди индивидов с более высоким содержанием данного цитокина (табл. 20).

Высокий фоновый уровень IL-2, оказывая стимулирующее воздействие на Th1-клетки и ингибиторный эффект на субпопуляцию Th2, вызывает смещение Th1/Th2-баланса в направлении формирования T-клеточных реакций [Симбирцев А.С., 2002; Кетлинский С.А., 2008]. Однако снижение уровня IL-2 при бесплодии, сопровождающемся эндометриозом, приводит к поляризации иммунного ответа в сторону гуморального, что создает благоприятные условия для инвазии и пролиферации эндометриоидных гетеротопий.

При анализе полиморфизма С-590Т гена *IL4* нами были получены вызывающие интерес результаты. Показана положительная ассоциация генотипа TT и аллеля Т с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, в то время как генотип CC полиморфизма С-590Т гена *IL4* обеспечивал протекцию в отношении сочетания эндометриоза и бесплодия (рис. 2).

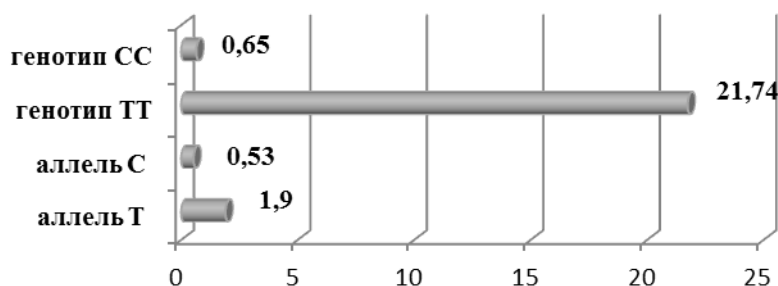


Рис. 2. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена С-590Т *IL4*, при $p < 0,05$.

Также было установлено, что у носителей гомозиготного генотипа TT полиморфизма С-590Т гена *IL4* статистически значимо повышена продукция IL-4 (табл. 21).

IL-4 выступает в качестве главного синергиста IL-10 в реализации положительной цитокиновой регуляции противовоспалительных функций клеток иммунной системы [Koss K. et al., 2000; Фрейдлин И.С., 2001]. IL-10 образуется Т-регуляторными клетками и Th2-лимфоцитами и подавляет продукцию IFN- γ Th1-клетками [Герцог О.А., 2004]. Кроме того, он ингибирует пролиферативную реакцию Т-клеток на антигены и митогены и 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].

Как правило, иммунокомпетентные клетки последовательно синтезируют в первую очередь провоспалительные цитокины, а только затем – противовоспалительные медиаторы [Мезенцева М.В., 2003]. В противном случае избыток IL-10 ведет к снижению активности клеточного звена иммунного ответа, что способствует инвазии и пролиферации эндометриодных гетеротопий [Podgaec S. et al., 2007; Герасимов А.М., 2008; Gupta S. et al., 2008; Tagashira Y. et al., 2009]. В ходе исследования была установлена ассоциация риска развития бесплодия при эндометриозе с генотипом AA и аллелем А полиморфного сайта С-592А гена *IL10* (рис. 3).

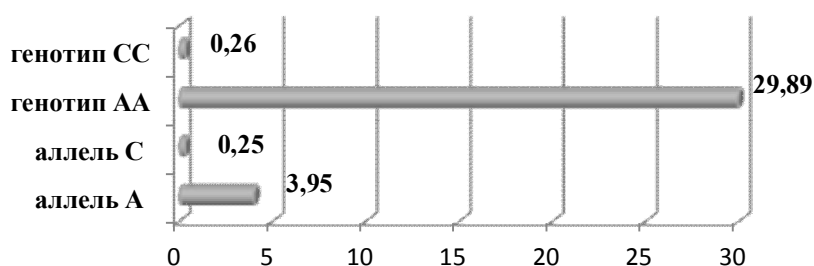


Рис. 3. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена С-592А *IL10*, при $p < 0,001$.

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 AA полиморфизма С-592А гена *IL10*

(табл. 23). Таким образом, можно предположить, что носительство мутантного генотипа AA и повышение концентрации IL-10 в периферической крови у инфертильных женщин с эндометриозом взаимосвязано.

Антагонистом IL-10 является IFN- γ , который обладает большим спектром действия, в том числе имеет многочисленные иммуномодуляторные эффекты, включая стимуляцию экспрессии HLA I и II классов; он оказывает необратимое цитотоксическое действие на трансформированные клетки, тогда как его цитостатическое влияние на нормальные клетки обратимо; к тому же он усиливает цитотоксические реакции, опосредованные Т-лимфоцитами и НК-клетками, и одновременно селективно повышает резистентность нормальных клеток к цитопатическим эффектам НК-клеток [Kaslow R.A., 2004; Smith P.L., 2005].

Согласно результатам некоторых исследований, у больных наружным генитальным эндометриозом было отмечено достоверное повышение содержания общего 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 A-874T 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 IL-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 , IL-1 и IL-6. Далее IL-6 начинает подавлять секрецию TNF- α и IL-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 (табл. 15). 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).

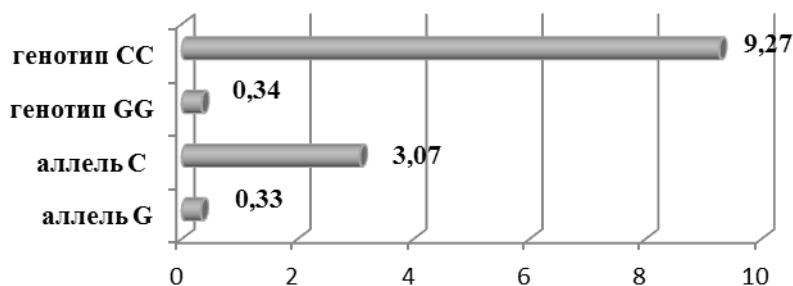


Рис. 4. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена G-174C гена *IL6*, при $p < 0,001$.

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 *TGF β* 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- β : 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 (табл. 18). По полученным нами данным, при носительстве аллеля T риск развития бесплодия, сопровождающегося эндометриозом, увеличивается в 1,7 раза, а в случае наличия генотипа TT локуса C-509T гена *TGFB* – в 2,4 раза. (рис. 5).

Нами была также проанализирована ассоциация аллельного полиморфизма C-509T гена *TGFB* с концентрацией соответствующего цитокина в сыворотке крови и выявлено, что наибольшая продукция цитокина среди инфертильных женщин с эндометриозом была обусловлена носительством генотипа TT (табл. 25).

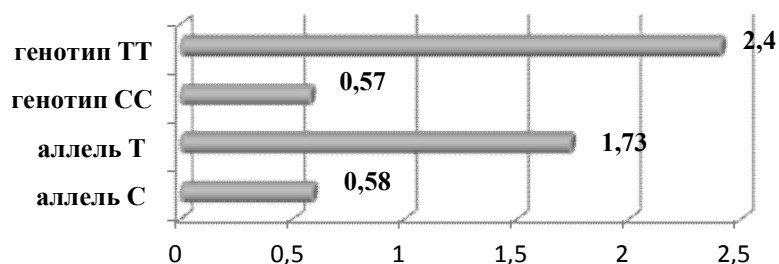


Рис. 5. Показатели относительного риска (OR) развития бесплодия, ассоциированного с эндометриозом, для носителей аллелей и генотипов полиморфизма гена C-509T гена *TGFB*, при $p < 0,05$.

Установлено, что TGF- β является основным медиатором формирования фиброза, с чем связывают возможную роль цитокина в развитии спаечного процесса органов малого таза при бесплодии, ассоциированном с эндометриозом [Harada T. et al., 2001; Iwabe T. et al., 2002; Chegini N., 2008; Li

C.L. et al., 2011].

Полученные нами результаты подтверждают данные, описанные в литературе, результатом которых является супрессия Th1 звена иммунного ответа, пролиферация и инвазия эндометриодных имплантов, что может приводить к развитию инфертильности. 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. При этом генотипы ТТ промоторного региона С-511Т гена *IL1B*, ТТ полиморфизма С-590Т гена *IL4*, ТТ сайта С-509Т гена *TGFB* были ассоциированы с повышенной продукцией соответствующих цитокинов (рис. 6).

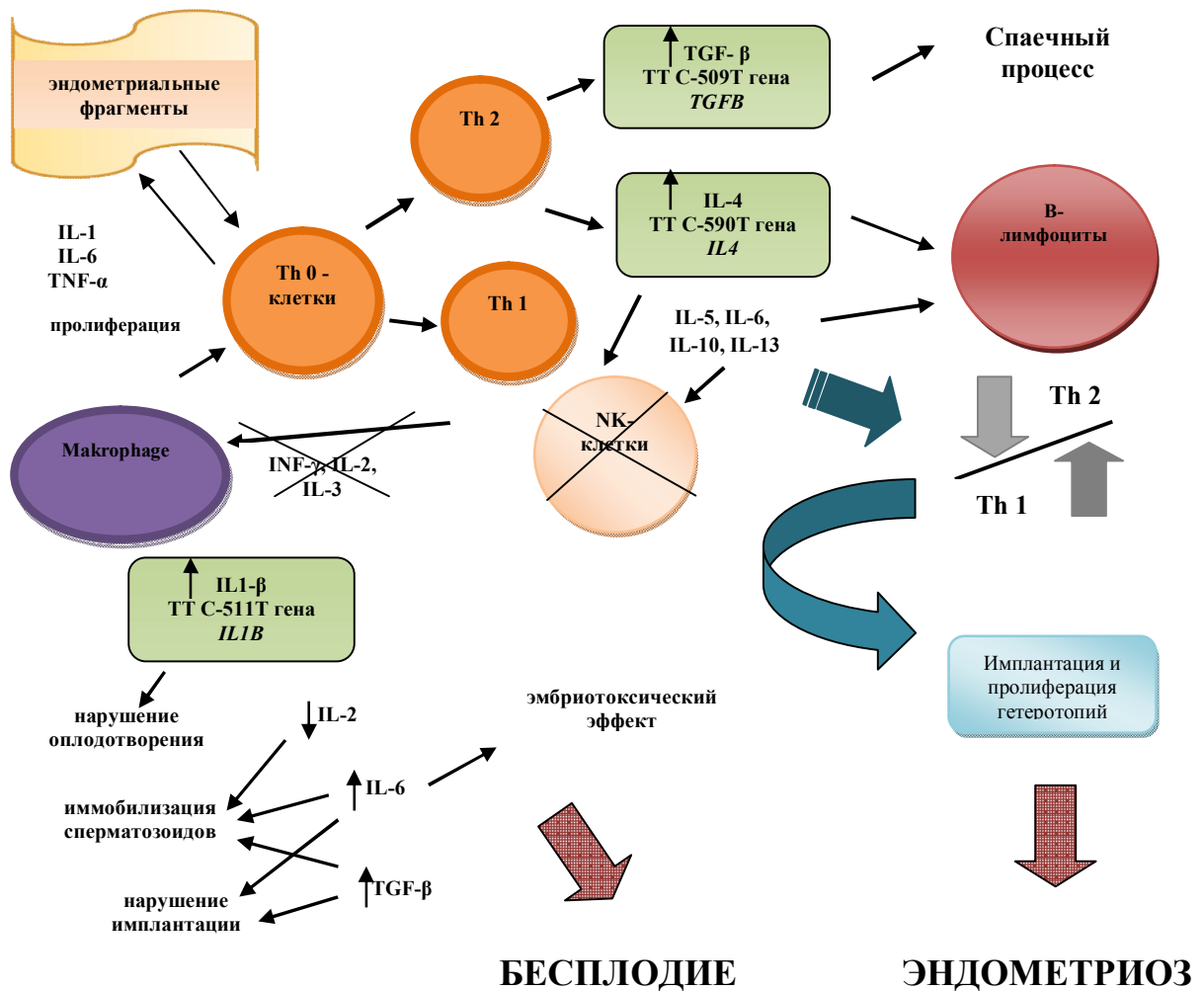


Рис. 6. Иммунопатогенез бесплодия, ассоциированного с эндометриозом (по данным Garrido N. et al., 2000; Faber B.M. et al., 2001; Крутова В.А., 2008; Singh M. et al., 2011; Roger A. Lobo, 2012 и результатам собственных исследований). В зелёных рамках приведены результаты собственных исследований.

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], а снижение концентрации IL-2 и увеличение IL-6, TGF- β в сыворотке крови и перитонеальной жидкости оказывают иммубилизирующий эффект на сперматозоиды [Faber V.M. et al., 2001], увеличение же 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).

Аллельные варианты полиморфизмов генов изученных цитокинов определяют содержание соответствующих белков в сыворотке крови. Ввиду того, что патогенетические аспекты ассоциации генетических параметров с развитием бесплодия, сопровождающегося эндометриозом, в настоящее время раскрыты недостаточно, представляется возможным установить иммуногенетические признаки, характеризующиеся высокой диагностической и прогностической ценностью. Изолированные аллельные варианты генов цитокинов недостаточно информативны для прогнозирования развития эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия, в то время как дополнительный анализ их ассоциативных связей с содержанием соответствующего белкового продукта гена может дать более полноценный персонафицированный прогноз.

Нами был проведен анализ сочетаний генотипов полиморфизма С511Т гена *IL1B*, полиморфизма Т-330G гена *IL2*, полиморфизма С-590Т гена *IL4*, полиморфизма G-174С гена *IL6*, полиморфизма С-592А гена *IL10*, полиморфизма А-874Т гена *IFNG*, полиморфизма С-509Т гена *TGFB*, в результате чего мы определили протекторные, предрасполагающие и интактные комбинации к развитию инфертильности, сопровождающейся эндометриозом. Кроме того, нам удалось определить рискованные комбинации

генотипов в отношении развития трубного фактора бесплодия у пациенток с инфертильностью, сочетанной с эндометриозом.

Подводя итог, следует сказать, что бесплодие в сочетании с эндометриозом характеризуется выраженными сдвигами в системе цитокинов, которые являются генетически детерминированными. Проведенное исследование распределения генетических полиморфизмов у больных бесплодием, сочетанным с эндометриозом, выявило значимость вариантных генотипов генов иммунорегуляторных цитокинов в формировании предрасположенности к развитию заболевания и сочетанного с ним трубного фактора бесплодия. Кроме того, определен вклад как отдельных генных полиморфизмов, так и их сочетаний в увеличении рисков шансов развития инфертильности в сочетании с генитальным эндометриозом.

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 ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и TGF-β при снижении содержания ИЛ-2 в сыворотке крови.
3. У женщин с бесплодием и эндометриозом повышенное содержание ИЛ-1β в сыворотке крови ассоциировано с генотипом ТТ (С-511Т) гена *IL1B*, ИЛ-4 – с ТТ (С-590Т) гена *IL4*; TGF-β – с ТТ (С-509Т) гена *TGFB*. Концентрация ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-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 рисков комбинации генотипов CC гена *IL1B* + CC гена *IL4* + GG гена *IL6* + CC гена *IL10* + TT гена *TGFB*; CT гена *IL1B* + CC гена *IL4* + GG гена *IL6* + CA гена *IL10* + TT гена *TGFB*; CC гена *IL1B* + CT гена *IL4* + GG гена *IL6* + CC гена *IL10* + CC гена *TGFB*.
2. Выявленные рисков 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 литературы

1. Адамян, Л.В. Актуальные вопросы репродуктивной медицины / Л.В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2006. – Спец. выпуск. – С. 5–9.
2. Адамян, Л.В. Современный взгляд на проблему эндометриоза / Л.В. Адамян, Е.Л. Яроцкая, В.Д. Чупрынин // Качество жизни. Медицина. – 2004. – № 3. – С. 21–27.
3. Адамян, Л.В. Эндометриозы: руководство для врачей / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Ю. Андреева. – М.: Медицина, 2006. – 416 с.
4. Ананько, Е.А. Разработка технологии реконструкции и компьютерного анализа генных сетей и ее применение в биологических исследованиях: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.А. Ананько. – Новосибирск, 2008. – 18 с.
5. Баскаков, В.П. Эндометриозная болезнь / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелев, Е.Ф. Кира. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. – 448 с.
6. Бесплодие в Кемеровской области / Т.А. Устинова, Н.В. Артымук, В.В. Власова, А.Я. Пыжов // Мать и Дитя в Кузбассе. – 2012. – № 1. – 2010. – С. 37–39.
7. Бурлеев, В.А. Роль брюшины в патогенезе наружно-генитального эндометриоза / В.А. Бурлеев, Н.И. Лец // Проблемы репродукции. – 2001. – № 1. – С. 24–30.
8. Вейр, Б. Анализ генетических данных: дискретные генетические признаки: пер. с англ. / Б. Вейр. – М.: Мир, 1995. – 400 с.
9. Волков, Н.И. Патогенез бесплодия при наружном генитальном эндометриозе / Н.И. Волков // Проблемы репродукции. – 1999. – № 2. – С. 56–58.
10. Гаспаров, А.С. Репродуктивное здоровье. Бесплодие как медико-социальная проблема: практического руководство / А.С. Гаспаров, Т.А. Назаренко. – М., 2000. – 56 с.

11. Генитальный эндометриоз / Э.К. Айламазян, В.В. Потин, М.А. Тарасова и др. // Гинекология от пубертата до постменопаузы / под ред. Э.К. Айламазяна. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 284–302.
12. Герасимов, А.М. Причины бесплодия при наружном эндометриозе / А.М. Герасимов // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 1. – С. 31–35.
13. Гланц, С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
14. Гмурман, В.Е. Руководство к решению задач по теории вероятностей и математической статистике / В.Е. Гмурман. – 12-е изд., перераб. – М.: Высшее образование, 2006. – 476 с.
15. Горбушин, С.М. О патогенезе бесплодия при перитонеальном эндометриозе / С.М. Горбушин // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 6. – С. 8–10.
16. Ермолова, Н.В. Патогенетическая роль эндотелиальных факторов и половых гормонов в формировании наружного генитального эндометриоза / Е.В. Ермолова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 3. – С. 29–32.
17. Ермошенко, Б.Г. Восстановление репродуктивной функции у пациенток с эндокринным бесплодием / Б.Г. Ермошенко, В.А. Крутова, А.В. Надточий // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 3. – С. 46–50.
18. Изменения в продукции интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α и интерлейкина-2 в зависимости от состояния иммунитета у больных туберкулезом легких / Б.Е. Кноринг, А.С. Симбирцев, И.Я. Сахарова и др. // Проблемы туберкулеза. – 1999. – № 4. – С. 31–35.
19. Изменчивость полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов у представителей четырех этнических групп Сибирского региона / А.Н. Кучер, Н.П. Бабушкина, Е.Ю. Брагина и др. // Медицинская генетика. – 2009. – № 10. – С. 43–52.

20. Иммунопатология туберкулеза легких / О.В. Воронкова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, А.К. Стрелис. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2007. – 194 с.
21. Ищенко, А.И. Эндометриоз: современные аспекты / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина. – М., 2008. – 176 с.
22. Кадагидзе, З.Г. Цитокины / З.Г. Катагидзе // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 131–139.
23. Кашкин, К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность / К.П. Кашкин // Клиническая лабораторная диагностика. – 1998. – № 11. – С. 21–32.
24. Кетлинский, С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета / С.А. Кетлинский // Иммунология. – 2002. – Т. 23, № 2. – С. 77–79.
25. Кетлинский, С.А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
26. Киселев, В.И. Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов / В.И. Киселев, А.А. Ляшенко. – М.: Изд-во Димитрейд График Групп. – 2005. – 348 с.
27. Клиническая иммунология: руководство для врачей / под ред. Е.И. Соколова. – М.: Медицина, 1998. – 266 с.
28. Клинико-иммунологические особенности сепсиса и полиморфизм генов TNFA и IL10 у больных с гнойно-хирургической патологией / Е.В. Курганова, О.В. Голованова, А.В. Шевченко и др. // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 40-45.
29. Количественный анализ состава фолликулов яичника при эндометриозе / Л.Ф. Курило, Л.М. Михалёва, Л.В. Адамян и др. // Проблемы репродукции. – 2006. – № 3. – С. 53–56.
30. Коненков, В.И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В.И. Коненков, М.В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 11–28.

31. Корсак, В.С. Эндометриоз и ВРТ (обзор литературы) / В.С. Корсак, О.Е. Васильева, Э.В. Исакова // Проблемы репродукции. – 2006. – № 3. – С. 41–46.
32. Кофиади, И.А. Методы детекции однонуклеотидных полиморфизмов: аллель-специфическая ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидной пробой / И.А. Кофиади, Д.В. Ребриков // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 1. – С. 22–32.
33. Крутова, В.А. Комплексное лечение женщин, страдающих бесплодием, ассоциированным с генитальным эндометриозом / В.А. Крутова, С.А. Галустян, Н.В. Белкина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 2. – С. 59–63.
34. Крутова, В.А. Причины женского бесплодия (обзор литературы) / В.А. Крутова, Б.Г. Ермошенко // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 11. – С. 16–20.
35. Кузьменко, Е.Т. Клинико-эпидемиологические аспекты женского бесплодия (на примере Иркутской области): автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Т. Кузьменко. – Иркутск, 2008. – 23 с.
36. Кулаков, В.И. Проблемы и перспективы лечения бесплодия в браке / В.И. Кулаков, Т.В. Овсянникова // Акушерство и гинекология. – 1997. – № 3. – С. 5–8.
37. Лебедев, К.А. Иммунная недостаточность / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина. – М.: Медицинская книга; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2003. – 443 с.
38. Макаренко, Л.В. Клинический опыт реабилитации женщин с болевым синдромом при наружном генитальном эндометриозе, обследованных по поводу бесплодия [Электронный ресурс] / Л.В. Макаренко, И.И. Кравцов, В.А. Крутова // Мать и Дитя – 2012: материалы всероссийской научно-практического форума. – Электрон. дан. – М., 2012. – 1 CD-ROM.
39. Мейл, Д. Иммунология: пер. с англ. / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д. Б. Рот, А. Ройт. – М.: Логосфера, 2007. – 568 с.

40. Новый взгляд на природу эндометриоза (аденомиоза) / И.С. Сидорова, Е.А. Коган, О.В. Зайратьянц и др. // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 3. – С. 32–38.
41. Овсянникова, Т.В. Эпидемиология бесплодного брака / Т.В. Овсянникова // Практическая гинекология / под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. – М., 2001. – С. 336–382.
42. Особенности локальной продукции интерлейкинов и ростовых факторов при наружном генитальном эндометриозе / О.В. Павлов, С.А. Сельков, Д.А. Ниаури, Н.Г. Солодовникова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – № 4. – С. 439–442.
43. Пересада, О.А. Эндометриоз: диагностические, клинические, онкологические и лечебные аспекты / О.А. Пересада // Медицинские новости. – 2009. – № 14. – С. 15–26.
44. Полиморфизм генов IL-1 β (+3953) и TNF α (-308) в патогенезе ревматоидного артрита / О.А. Герцог, С.В. Сенников, Л.П. Коненкова и др. // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 52–56.
45. Полиморфизм генов антагониста интерлейкина-1 и интерлейкина-4 при репродуктивных нарушениях / А.В. Шабалдин, М.Л. Филипенко, Е.Н. Воронина и др. // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 6–9.
46. Полиморфизм генов-модификаторов иммунного ответа: влияние на развитие целиакии и вариантов ее клинического течения в Томской популяции / А.А. Рудко, Е.И. Кондратьева, Г.Н. Янкина и др. // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 42–49.
47. 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 / В.В. Авдошина, В.В. Дортман, В.И. Коненков и др. // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 5-6. – С. 715–720.

48. Пузырев, В.П. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека / В.П. Пузырев, М.Б. Фрейдин, А.Н. Кучер. – Томск: Печатная мануфактура, 2007. – 320 с.
49. Пшеничникова, Т.Я. Бесплодие в браке / Т.Я. Пшеничникова. – М.: Медицина, 1991. – 320 с.
50. Ройт, А. Иммунология: пер. с англ. / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2006. – 544 с.
51. Роль показателей неспецифического иммунитета в развитии аденомиоза / В.Е. Радзинский, А.В. Сорокина, С.Г. Морозов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2011. – № 4. – С. 38 – 41.
52. Роль цитокинов в регуляции репродуктивной функции / А.А. Останин, Б.И. Айзикович, И.В. Айзикович и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143, № 1. – С. 81– 85.
53. Романов, А.О. Влияние наследственных факторов на течение хронической HCV-инфекции / А.О. Романов, Т.В. Беляева, Е.В. Эсауленко // Российский биомедицинский журнал. – 2006. – Т. 7, № 36. – С. 378–382.
54. Савельева, Г.М. Справочник по акушерству, гинекологии и перинатологии / Г.М. Савельева. – М. : МИА, 2005. – 164 с.
55. Связь аллельных вариантов промоторных участков генов IL-2 (T-330G), IL-4 (C-590T) и IL-10 (C-592A) с уровнем спонтанной продукции цитокинов *in vitro* мононуклеарными клетками периферической крови здоровых жителей Сибири европеоидного происхождения / В.И. Коненков, И.А. Ракова, В.В. Авдошина и др. // Медицинская генетика. – 2006. – № 3. – С. 46–51.
56. Сенников, С.В. Альтернативный сплайсинг в формировании структуры системы цитокинов / С.В. Сенников, А.Н. Силков, В.А. Козлов // Система цитокинов: Теоретические и клинические аспекты / под. ред. В.А. Козлова, С.В. Сенникова. – Новосибирск: Наука, 2004. – С. 7–23.

57. Сенников, С.В. Роль альтернативного сплайсинга генов цитокинов в формировании полиморфной структуры цитокиновой сети / С.В. Сенников // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 389–400.
58. Симбирцев, А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных цитокинов / А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3–12.
59. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16–21.
60. Смольникова, М.В. Полиморфизм генов цитокинов в норме и при ВИЧ-инфекции: автореф. дис. ...канд. мед. наук / М.В. Смольникова. – Новосибирск, 2002. – 22 с.
61. Современный взгляд на этиологию и патогенез генитального эндометриоза / В.И. Грищенко, Н.А. Щербина, Л.В. Потапова, О.П. Липко // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2003. – № 2. – С. 138–142.
62. Соколова, Ю.В. Особенности секреции цитокинов и их рецепции в динамике ВИЧ-инфекции / Ю.В. Соколова, Л.П. Сизякина // Иммунология. – 2007. – Т. 28, № 6. – С. 324–327.
63. Стрижаков, А. Эндометриоз: спорное и нерешенное / А. Стрижаков // Врач. – 2006. – № 3. – С. 5–9.
64. Сухаленцева, Н.А. Роль аллельного полиморфизма генов цитокинов в иммунопатогенезе медленных вирусных инфекций: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.А. Сухаленцева. – Томск, 2011. – 18 с.
65. Сухих, Г.Т. Внедрение достижений современной науки в акушерско-гинекологическую практику / Г.Т. Сухих // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, №5. – С. 697 – 700.
66. Татарчук, Т.Ф. Эндометриоз: лица и маски [Электронный ресурс] / Т.Ф. Татарчук // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – № 3 (9). – URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/447>.
67. Тимашева, Я.Р. Роль полиморфизма и уровня экспрессии генов цитокиновой сети в формировании молекулярно-генетических основ

предрасположенности к эссенциальной гипертензии: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Я.Р. Тимашева. – М., 2008. – 24 с.

68. Фенотипический профиль лимфоидных клеток на системном и локальном уровне у женщин с внутренним эндометриозом / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, Л.В. Посисеева и др. // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 2. – С. 28–32.

69. Филиппов, О.С. Бесплодный брак в Западной Сибири : автореф. дис. ...д-ра мед. наук / О.С. Филиппов. – М., 1999. – 20 с.

70. Филиппов, О.С. Эпидемиология и структура бесплодного брака в г. Томске : дис. ... канд. мед. наук / О. С. Филиппов. – Томск, 1995. – 114 с.

71. Флейс, Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций: пер. с англ. / Дж. Флейс. – М.: Финансы и статистика, 1989. – 319 с.

72. Фрейдлин, И.С. Иммунная система и ее дефекты: руководство для врачей / И.С. Фрейдлин. – СПб., 1998. – 103 с.

73. Фрейдлин, И.С. Клетки иммунной системы / И.С. Фрейдлин, А.А. Тотолян. – СПб.: Наука, 2001. – 390 с.

74. Хаитов, Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов / Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 320 с.

75. Черешнев, В.А. Иммунология воспаления: роль цитокинов / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 361–368.

76. Чернуха, Г.Е. Эндометриоз и хроническая тазовая боль: причины и последствия / Г.Е. Чернуха // Проблемы репродукции. – 2011. – № 6. – С. 13–19.

77. Шевченко, А.В. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL1, IL4, IL5, IL6, IL10 и TNFA у европеоидного населения Западной Сибири / А.В. Шевченко, О.В. Голованова, В.И. Коненков // Иммунология. – 2010. – № 4. – С. 176–181.

78. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в

лечения женского и мужского бесплодия (теоретические и практические подходы): руководство для врачей / ред. В.И. Кулаков, Б.В. Леонов. – 2-е изд., доп. – М.: МИА, 2004. – 782 с.

79. Электронный ресурс: сайт Министерства здравоохранения РФ, режим доступа: <http://www.rosminzdrav.ru/social/social/146a>

80. Электронный ресурс: сайт ВОЗ, режим доступа: <http://who.int.ru>.

81. Эндометриоз: клиничко-экспериментальные сопоставления / Л.В. Посисеева, А.О. Назарова, И.Ю. Шабанова и др. // Проблемы репродукции. – 2001. – № 4. – С. 27–31.

82. Ярилин, А.А. Симбиотические взаимоотношения клеток иммунной системы / А.А. Ярилин // Иммунология. – 2001. – № 4. – С. 16–20.

83. Ярмолинская, М.И. Иммунокорректирующая терапия наружного генитального эндометриоза: методическое пособие для врачей / М.И. Ярмолинская, С.А. Сельков. – СПб., 2007. – 36 с.

84. Adhesion prevention in endometriosis: a neglected critical challenge / E. Somigliana, P. Vigano, L. et al. // J. Minim Invasive Gynecol. – 2012. – Vol. 19. – P. 415–421.

85. Agarwal, A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction / A. Agarwal, R.A. Saleh, M.A. Bedaiwy // Fertil. Steril. – 2003. – Vol. 79. – P. 829–843

86. Alaina, B.J.-M. Infertility / B.J.-M. Alaina, W.B. Jennifer, A.F. Keith // Am. Family Physician. – 2007. – Vol. 75. – P. 849–856.

87. Allaire, C. Endometriosis and infertility / C. Allaire // J. Reprod. Med. – 2006. – Vol. 51. – P. 164–168.

88. Al-Tahhan, M.A. Association between circulating interleukin-1 beta (IL-1 β) levels and IL-1 β C-511T polymorphism with cervical cancer risk in Egyptian women / M.A. Al-Tahhan, R.L. Etewa, M.M. El-Behery // Mol. Cell. Biochem. – 2011. – Vol. 353 (1-2). – P. 159–165.

89. Altered gene expression and secretion of interleukin-6 in stromal cells derived from endometriotic tissues / T. Tsudo, T. Harada, T. Iwabe et al. // *Fertil. Steril.* – 2000. – Vol. 73. – P. 205–211.
90. A new genetic variant involved in genetic susceptibility to alcoholic liver cirrhosis: -330T>G polymorphism of the interleukin-2 gene / M. Marcos, I. Pastor, R. González-Sarmiento et al. // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – Vol. 20. – P. 855-859.
91. An IL6 promoter polymorphism is associated with a lifetime risk of development of Kaposi sarcoma in men infected with human immunodeficiency virus / T. Lehrnbecher, S. Samuels, S. Stein et al. // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 2562–2567.
92. An interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the biological phenotype of ovarian cancer / L.A. Hefler, C. Grimm, S. Ackermann et al. // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 3066–3068.
93. An investigation of polymorphism in the IL-10 gene promoter / D.M. Turner, D.M. Williams, D. Sankaran et al. // *Eur. J. Immunogenet.* – 1997. – Vol. 24. – P. 1–8.
94. Analysis of an interleukin-6 gene promoter polymorphism in women with endometriosis by pyrosequencing / F. Wieser, G. Fabjani, C. Tempfer et al. // *J. Soc. Gynecol. Investig.* – 2003. – Vol. 10. – P. 32–36.
95. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis / L. Prieto, J.F. Quesada, O. Cambero et al. // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 126–130.
96. Analysis of the transforming growth factor beta1 gene -509 C/T polymorphism in patients with advanced-stage endometriosis / J.J. Kim, Y.M. Choi, S.H. Choung et al. // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 93. – P. 2121–2124.
97. Anomalies in the inflammatory response in endometriosis and possible consequences / K. Khoufache, N. Michaud, N. Harir et al. // *Minerva Endocrinol.* – 2012. – Vol. 37. – P. 75–92.

98. Anti-apoptotic and pro-apoptotic gene expression evaluated from eutopic endometrium in the proliferative phase of the menstrual cycle among women with endometriosis and healthy controls / P. Zubor, J. Hatok, S. Galo et al. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – Vol. 145. – P. 172–176.
99. Anti-laminin-1 antibodies in sera and follicular fluid of women with endometriosis undergoing in vitro fertilization / D. Caccavo, N.M. Pellegrino, I. Totaro et al. // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 24. – P. 481–488.
100. Antizona and antisperm antibodies in women with endometriosis and/or infertility / M. Szczepanska, J. Skrzypczak, M. Kamieniczna, M. Kurpisz // *Fertil. Steril.* – 2001. – Vol. 75. – P. 97–105.
101. Apoptosis and endometriosis / T. Harada, F. Taniguchi, M. Izawa et al. // *Front. Biosci.* – 2007. – Vol. 1. P. 3140–3151.
102. Apoptosis in endometriosis / A. Agic, S. Djalali, K. Diedrich, D. Hornung // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2009. – Vol. 68. – P. 217–223.
103. Association between cord blood IgE and genetic polymorphisms of interleukin-4, the β -subunit of the high-affinity receptor for IgE, lymphotoxin- α , and tumor Necrosis factor- α / H.J. Wen, Y.C. Lin, Y.L. Lee, Y.L. Guo // *Pediatric Allergy and Immunology.* – 2006. – Vol. 17, № 7. – P. 489-494.
104. Association of common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (IL)6, IL8, tumor necrosis factor alpha, NFkB1, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma with colorectal cancer / S. Landi, V. Moreno, L. Gioia-Patricola et al. // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 3560–3566.
105. Association of interleukin-10 promoter polymorphism and endometriosis / M. Riiskjaer, K. Nielsen, R. Steffensen et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 65. – P. 13–19.
106. Associations of IL-2 and IL-4 gene polymorphisms in the Korean population / Y.K. Kim, C.W. Pyo, H.B. Choi et al. // *J. Dermatol. Sci.* – 2007. – Vol. 48. – P. 133–139.
107. Associations of interferon gamma and interleukin 10 genes with tuberculosis in Hong Kong Chinese / H.W. Tso, W.K. Ip, W.P. Chong et al. // *Genes and*

Immunity. – 2005. – Vol. 6. – P. 358–363.

108. Association of an oestrogen receptor gene polymorphism in Chinese Han women with endometriosis and endometriosis-related infertility [Electronic resource] / W. Wang, Y. Li, M. Maitituoheti et al. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2012. – URL: [http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472-6483\(12\)00538-X](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472-6483(12)00538-X).

109. Bonjardim, C.A. Interferons (IFNs) are key cytokines in both innate and adaptive antiviral immune responses-and viruses counteract IFN action / C.A. Bonjardim // *Microbes Infect.* – 2005. – Vol. 3. – P. 569–578.

110. Bulletti, C. Endometriosis and infertility / C. Bulletti // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2010. – Vol. 27. – P. 441–447.

111. Bunting, L. Fertility knowledge and beliefs about fertility treatment: findings from the International Fertility Decision-making Study [Electronic resource] / L. Bunting, I. Tsibulsky, J. Boivin // *Hum. Reprod.* – 2012. – URL: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/early/2012/11/25/humrep.des402.long>

112. Burney, R.O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis / R.O. Burney, L.C. Giudice // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 511–519.

113. Cahill, D.J. Pituitary-ovarian dysfunction and endometriosis / D.J. Cahill, M.G. Hull // *Hum. Reprod. Update.* – 2000. – Vol. 6. – P. 56–66.

114. Cahill, D.J. What is the optimal medical management of infertility and minor endometriosis? Analysis and future prospects / D.J. Cahill // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 135–140.

115. CD4(+) CD25(high) Foxp3(+) cells increased in the peritoneal fluid of patients with endometriosis / S. Podgaec, L.V. Rizzo, L.F. Fernandes et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2012. – Vol. 68. – P. 301–308.

116. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility / J.A. Stilley, J.A. Birt, K.L. Sharpe-Timms // *Cell Tissue Res.* – 2012. – Vol. 349. – P. 849–862.

117. Characteristics of infertile couples / S. Akhter, H. Alam, N.N. Khanam, F. Zabin et al. // *Mymensingh Med. J.* – 2011. – Vol. 20, N 1. – P. 121–127.

118. Chaouat, G. Cytokines: Important for implantation? / G. Chaouat, S. Dubanchet, N. Ledée // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2007. – Vol. 24. – P. 491–505.
119. Chegini, N. TGF-beta system: the principal profibrotic mediator of peritoneal adhesion formation / N. Chegini // *Semin Reprod Med.* – 2008. – Vol. 26. – P. 298–312.
120. Common polymorphism in interleukin 6 influences survival of women with ovarian and peritoneal carcinoma / R. Garg, M. Wollan, V. Galic et al. // *Gynecol. Oncol.* – 2006. – Vol. 103. – P. 793–796.
121. Correlation between symptoms of pain and peritoneal fluid inflammatory cytokine concentrations in endometriosis / B. Scholl, N.A. Bersinger, A. Kuhn, M.D. Mueller // *Gynecol. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 25. – P. 701–706.
122. Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 beta gene with secretion of interleukin-1 beta protein / S.K. Hall, D.G. Perregaux, C.A. Gabel et al. // *Arthritis Rheum.* – 2004. – Vol. 50. – P. 1976–1983.
123. Cytokine array analysis of peritoneal fluid between women with endometriosis of different stages and those without endometriosis / Z. Hou, L. Sun, L. Gao et al. // *Biomarkers.* – 2009. – Vol. 14. – P. 604–618.
124. Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis / M.I. Henao, C. Montes, S.C. Paris, L.F. Garcia // *Tuberculosis.* – 2006. – Vol. 86. – P. 11–19.
125. Decreased concentrations of soluble interleukin-1 receptor accessory protein levels in the peritoneal fluid of women with endometriosis / N. Michaud, M. Al-Akoum, G. Gagnon et al. // *J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 92. – P. 68–73.
126. Deep endometriosis: definition, diagnosis, and treatment / P.R. Koninckx, A. Ussia, L. Adamyan et al. // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 564–571.
127. Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semiinvasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis / K.C.A. Bokor, L. Vercruysse, A. Fassbender et al. // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24. – P. 3025–3032.

128. Dessoie, M. Endometriosis in adolescence [Electronic resource] / M. Dessoie, G.B. Melis, S. Angioni // *Obstet. Gynecol. Int.* – 2012. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3474254>.
129. Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study / M. Al-Jefout, G. Dezarnaulds, M. Cooper et al. // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24. – P. 3019–3024.
130. Different types of small nerve fibers in eutopic endometrium and myometrium in women with endometriosis / N. Tokushige, R. Markham, P. Russell, I.S. Fraser // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 88. – P. 795–803.
131. Drosdzol-Cop, A. Serum and peritoneal fluid immunological markers in adolescent girls with chronic pelvic pain / A. Drosdzol-Cop, V. Skrzypulec-Plinta, R. Stojko // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2012. – Vol. 67. – P. 374–381.
132. Dun, E.C. Tubal factor infertility: diagnosis and management in the era of assisted reproductive technology / E.C. Dun, C.H. Nezhat // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. 39. – P. 551–566.
133. Effect of the interleukin-1 β gene on dorsolateral prefrontal cortex function in schizophrenia: a genetic neuroimaging study / M. Fatjó-Vilas, E. Pomarol-Clotet, R. Salvador et al. // *Biol. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 72. – P. 758–765.
134. Endocrine and inflammatory factors and endometriosis-associated infertility in assisted reproduction techniques [Electronic resource] / Y.B. Du, M.Z. Gao, Y. Shi et al. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2012. – URL.: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00404-012-2567-0>.
135. Endometrial alterations in endometriosis: a systematic review of putative biomarkers / K.E. May, J. Villar, S. Kirtley et al. // *Hum. Reprod. Update.* – 2011. – Vol. 17. – P. 637–653.
136. Endometrial quality in infertile women with endometriosis / A. Pellicer, J. Navarro, E. Bosch et al. // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2001. – Vol. 943. – P. 122–130.
137. Endometriosis: an essential differential diagnosis of chronic pelvic pain / J.M. Wenger, M. Zormpa, P. Dällenbach, L. Weber // *Rev. Med. Suisse.* – 2012. – Vol. 8. – P. 1998, 2000–2002.

138. Endometriosis and infertility / P. Collinet, C. Decanter, C. Lefebvre et al. // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2006. – Vol. 34. – P. 379–384.
139. Endometriosis and Infertility - a consensus statement from ACCEPT (Australasian CREI Consensus Expert Panel on Trial evidence) / J. Koch, K. Rowan, L. Rombauts et al. // *Aust. NZ J. Obstet Gynaecol.* – 2012. – Vol. 52. – P. 513–522.
140. Endometriosis and infertility: a committee opinion: the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 591–598.
141. Endometriosis: the gynecologist's opinion / R. Marana, A. Lecca, A. Biscione et al. // *Urologia.* – 2012. – Vol. 79. – P. 160–166.
142. Endometriosis, recurrent miscarriage and implantation failure: is there an immunological link? / C. Tomassetti, C. Meuleman, A. Pexsters et al. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2006. – Vol. 13. – P. 58–64.
143. Endometriosis: an inflammatory disease with a Th2 immune response component / S. Podgaec, M.S. Abrao, J.A. Dias et al. // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 1373–1379.
144. Endoscopic treatment of deep infiltrating endometriosis (DIE) involving the bladder and rectosigmoid colon / A. Langebrenke, O. Istre, B. Busund et al. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2006. – Vol. 85. – P. 712–715.
145. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility / L.C. Kao, A. Germeyer, S. Tulac et al. // *Endocrinology.* – 2003. – Vol. 144. – P. 2870–2881.
146. Expressions and roles of TGF β /Smad signal pathway in peritoneum of endometriosis / C.L. Li, J.H. Leng, M.H. Li et al. // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2011. – Vol. 46. – P. 826–830.
147. Falcone, T. Clinical management of endometriosis / T. Falcone, D.I. Lebovic // *Obstet Gynecol.* – 2011. – Vol. 118. – P. 691–705.

148. Fanta, M, Endometriosis / M. Fanta, P. Koliba, H. Hrušková // *Ceska Gynecol.* – 2012. – Vol. 77. – P. 314–319.
149. Flow cytometric evaluation of intracellular cytokine synthesis in peripheral mononuclear cells of women with endometriosis / G.B. Gmyrek, U. Sieradzka, M. Goluda et al. // *Immunol. Invest.* – 2008. – Vol. 37. – P. 43–61.
150. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis / N. Garrido, J. Navarro, J. Remohi et al. // *Hum. Reprod. Update.* – 2000. – Vol. 6. – P. 67–74.
151. Genetic polymorphism of interleukin 1 β -511C/T and susceptibility to sporadic Alzheimer's disease: a meta-analysis [Electronic resource] / H. Yuan, Q. Xia, P. Ge, S. Wu // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11033-012-2237-0>.
152. Genomic analysis of Th1-Th2 cytokine genes in an AIDS cohort: identification of IL4 and IL10 haplotypes associated with the disease progression / A. Vasilescu, S.C. Heath, R. Ivanova et al. // *Gen. Immun.* – 2003. – Vol. 4. – P. 441–449.
153. Gesundheitsforschung im Raum Augsburg/Cooperative Research in the Region of Augsburg. Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes / T. Illig, F. Bongardt, A. Schöpfer et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 5053–5058.
154. Giudice, L.N. Endometriosis / L.N. Giudice // *Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 362. – P. 2389–2398.
155. Guo, S.W. Nuclear Factor-kappaB (NF-kappaB): An Unsuspected Major culprit in the Pathogenesis of Endometriosis That Is Still at Large? / S.W. Guo // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2006. – Vol. 63. – P. 71–97.
156. Gupta, S. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility / S. Gupta // *Fertil. Steril.* – 2008. – Vol. 90. – P. 247–257.
157. Hansen, K.A. A review of current management of endometriosis in 2006: an evidence-based approach / K.A. Hansen, K.M. Eyster // *S. D. Med.* – 2006. Vol. 59. – P. 153–159.

158. Harris-Glocker, M. Role of female pelvic anatomy in infertility / M. Harris-Glocker, J.F. McLaren // *Clin. Anat.* – 2013. – Vol. 26. – P. 89–96.
159. High prevalence of endometrial polyps in endometriosis-associated infertility / L. Shen, Q. Wang, W. Huang et al. // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95. – P. 2722–2724.
160. HLA Associations in endometriosis / J.L. Simpson, L.R. Malinak, S. Elias et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1984. – Vol. 148. – P. 395–397.
161. Hollegaard, M.V. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, Supplement 3 / M.V. Hollegaard, J.L. Bidwell // *Genes and Immun.* – 2006. – Vol. 7 – P. 269–276.
162. IFN- γ and IL-12 differentially regulate CC-chemokine secretion and CCR5 expression in human T lymphocytes / G. Losana, C. Bovolenta, L. Rigamonti et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2002. – Vol. 72. – P. 735–742.
163. IL-6 and mouse oocyte spindle [Electronic resource] / J. Banerjee, R. Sharma, A. Agarwal et al. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 4. – e35535. – URL: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0035535>
164. IL-2 Regulates Perforin and Granzyme Gene Expression in CD8⁺ T Cells Independently of Its Effects on Survival and Proliferation / M.L. Janas, P. Groves, N. Kienzle, A. Kelso // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175. – P. 8003–8010.
165. IL-4 VNTR gene polymorphism in chronic polyarthritis. The rare allele is associated with protection against destruction / N. Buchs, T. Silvestri, F.S. di Giovine et al. // *Rheumatology.* – 2000. – Vol. 39. – P. 1126–1131.
166. Immune status, psychosocial distress and reduced quality of life in infertile patients with endometriosis / F. Siedentopf, N. Tariverdian, M. Rucke et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2008. – Vol. 60. – P. 449–461.
167. Immunological aspects of endometriosis: an update / M. Olovsson // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 66. – Suppl. 1. – P. 101–104.

168. Inagaki, J. A possible mechanism of autoimmune-mediated infertility in women with endometriosis / J. Inagaki // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 66. – P. 90–99.
169. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors / S.A. Missmer, S.E. Hankinson, D. Spiegelman et al. // *Am. J. Epidemiol.* – 2004. – Vol. 160. – P. 784–796.
170. Increased killer inhibitory receptor KIR2DL1 expression among natural killer cells in women with pelvic endometriosis / N. Maeda, C. Izumiya, Y. Yamamoto et al. // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 77. – P. 297–302.
171. Inducible nitric oxide synthase expression by peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility / B.H. Osborn, A.F. Haney, M.A. Misukonis, J.B. Weinberg // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 77. – P. 46–51.
172. Inflammation: a link between endometriosis and preterm birth / F. Petraglia, F. Arcuri, D. de Ziegler, C. Chapron // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98. – P. 36–40.
173. Influence of pelvic endometriosis and ovarian endometrioma on fertility / A. Fujishita, K.N. Khan, H. Masuzaki, T. Ishimaru // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2002. – Vol. 53. – Suppl. 1. – P. 40–45.
174. Influences of gonadotropin releasing hormone agonist treatment on nitric oxide synthase expression in women with endometriosis and infertility / J.H. Wang, F.Z. Zhou, M.Y. Dong, L. Yuan // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2005. – Vol. 40. – P. 383–387.
175. Ingman, W.V. The essential roles of TGFB1 in reproduction / W.V. Ingman, S.A. Robertson // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2009. – Vol. 20. – P. 233–239.
176. Innate immune cells: gatekeepers of endometriotic lesions growth and vascularization / A. Capobianco, L. Cottone, A. Monno et al. // *J. Endometriosis.* – 2010. – Vol. 2. – P. 55–62.
177. Interferon- γ -Receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guerin infection / C.B. Pereira, M. Palaci, O.H. Leite et al. // *Microb. Infect.* – 2004. – Vol. 6. – P. 25–33.

178. Interleukin gene polymorphisms and breast cancer: a case control study and systematic literature review / S.P. Balasubramanian, I.A.F. Azmy, S.E. Higham et al. // *BMC Cancer*. – 2006. – Vol. 188. – P. 349–357.
179. Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor- α genes polymorphisms in tuberculosis / O. Ates, B. Mussellim, G. Ongen, A. Topal-Sarikaya // *J. Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 28. – P. 232-236.
180. Interleukin-10 attenuates TNF-alpha-induced interleukin-6 production in endometriotic stromal cells / Y. Tagashira, F. Taniguchi, T. Harada et al. // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 91, suppl. – P. 2185–2192.
181. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms and their protein production in peritoneal fluid in patients with endometriosis / X. Zhang, P. Hei, L. Deng, J. Lin // *Mol. Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 13. – P. 135–140.
182. Interleukin-1 β induces cyclooxygenase-2 expression and promotes the invasive ability of human mesenchymal stem cells derived from ovarian endometrioma / A.P. Kao, K.H. Wang, C.Y. Long et al. // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 96. – P. 678–684.
183. Interleukin-4 and interleukin-13 signaling connections maps / A. E. Kelly-Welch, E. M. Hanson, M. R. Boothby et al. // *Science*. – 2003. – Vol. 5625. – P. 1527–1528.
184. Intracellular cytokine production in peripheral blood lymphocytes: a comparison of values in infertile and fertile women / P. Horká, R. Jarošová, K. Malíčková et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 65. – P. 466–469.
185. Involvement of resistance to apoptosis in the pathogenesis of endometriosis / K. Nasu, A. Yuge, A. Tsuno et al. // *Histol. Histopathol.* – 2009. – Vol. 24. – P. 1181–1192.
186. Iwabe, T. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility / T. Iwabe, T. Harada, N. Terakawa // *Gynec. Obstet. Invest.* – 2002. – Vol. 53. – P. 19–25.

187. Kamath, M.S. Demographics of infertility and management of unexplained infertility / M.S. Kamath, S. Bhattacharya // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2012. – Vol. 26. – P. 729–738.
188. Koss, K. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in English and Polish healthy controls. Polymerase chain reaction haplotyping using 3'- mismatches in forward and reverse primers / K. Koss, G.C. Fanning, K.I. Welsh, D.P. Jewell // *Gen. Immun.* – 2000. – Vol.1. – P. 321–324.
189. Ledger, W.L. Endometriosis and infertility: an integrated approach / W.L. Ledger // *Int. J. Gynecol. Obstet.* – 1999. – Vol. 64. – P. 3340.
190. The Diploid Genome Sequence of an Individual Human [Electronic resource] / Levy S., Sutton G., Ng P.C., Feuk L., Halpern A.L., et al. // *PLoS Biology.* – 2012. – Vol. 5, N 10. – e254. – URL: <http://www.plosbiology.org/article/info:doi/10.1371/journal.pbio.0050254>.
191. Linkage relationships of genes coding for alpha2-macroglobulin, C3 and C4 in the zebrafish: implications for the evolution of the complement and Mhc systems / I.E. Samonte, A. Sato, W.E. Mayer et al. // *Scand. J. Immunol.* – 2002. Vol. 56. – P. 344–352.
192. Lipid peroxidation in the peritoneal fluid of infertile women with peritoneal endometriosis / V.F. do Amaral, S.P. Bydlowski, T.C. Peranovich et al. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2005. – Vol. 119. – P. 72–75.
193. Lipid peroxides, tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and interferon gamma (IFNgamma) in peritoneal fluid from infertile women with minimal and mild endometriosis / G. Polak, M. Koziol-Montewka, J. Niedzwiadek et al. // *Ginekol. Pol.* – 2001. – Vol. 72. – P. 422–426.
194. Lobo, R.A. Infertility: Etiology, Diagnostic Evaluation, Management, Prognosis / R.A. Lobo // *Comprehensive Gynecology* / G.M. Lentz, R.A. Lobo, D.M. Gershenson, V.L. Katz. – 6th ed. – Elsevier, 2012. – P. 869–895.
195. Luciano, D.E. Management of endometriosis-related pain: an update / D.E. Luciano, A.A. Luciano // *Womens Health (Lond Engl).* – 2011. – Vol. 7. – P. 585–590.

196. Macer, M.L. Endometriosis and Infertility: A Review of the Pathogenesis and Treatment of Endometriosis-associated Infertility / M.L. Macer, H.S. Taylor // *Obstet Gynecol. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. 39. – P. 535–549
197. Macrophage secretory products and sperm zona pellucida binding / B.M. Faber, N. Chegini, M.C. Mahony, C.C. Coddington // *Obstet Gynecol.* – 2001. – Vol. 98. – P. 668–673.
198. Manaseki, S. Natural killer (NK) cells activity of first trimester human decidua / S. Manaseki, R.F. Searle // *Immunology Lett.* – 1989. – Vol. 121. – P. 166.
199. Mason, J. The clinical importance of leucocyte and endothelial cell adhesion molecules in inflammation / J. Mason, D. Haskard // *Vascular Medicine Review.* – 1994. – Vol. 5. – P. 249–275.
200. McLaren, J.F. Infertility evaluation / J.F. McLaren // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. 39. – P. 453–463.
201. Minimal and mild endometriosis negatively impact on pregnancy outcome / L.F. Carvalho, A. Below, M.S. Abrão, A. Agarwal // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2012. – Vol. 58. – P. 607–614.
202. Monti, B. Fertility after surgery for rAFS stage III and IV endometriosis / B. Monti // *Minerva Ginecol.* – 2007. – Vol. 59. – P. 27–34.
203. Neukomm, C. New insights into the pathophysiology of endometriosis / C. Neukomm, M.D. Mueller // *Gynekol. Geburtshilfliche Rundsch.* – 2007. – Vol. 47. – P. 113–117.
204. Non-steroidal targets in the diagnosis and treatment of endometriosis / C.M. Kyama, A. Mihalyi, P. Simsa et al. // *Curr. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 15. – P. 1006–1017.
205. Okamura, H. Transcriptional regulation in lymphocytes/ H. Okamura, A. Rao // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2000. – Vol. 13. – P. 239–243.
206. Okeke, L.C. Endometriosis / T.C. Okeke, L.C. Ikeako, C.C. Ezenyeaku // *Niger J. Med.* – 2011. – Vol. 20. – P. 191–199.

207. Outcome of in vitro fertilization in endometriosis-associated infertility: a 5-year database cohort study / X.N. Lin, M.L. Wei, X.M. Tong et al. // *Chin. Med. J.* – 2012. – Vol. 125. – P. 2688–2893.
208. Ozkan, S. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments / S. Ozkan, W. Murk, A. Arici // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 1127. – P. 92–100.
209. Pathogenesis of endometriosis / M. Nisolle, M.L. Alvarez, M. Colombo, J.M. Foidart // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2007. – Vol. 35. – P. 898–903.
210. Pearce, N. What Does the Odds Ratio Estimate in a Case-Control Study? / N. Pearce // *Int. J. Epidemiol.* – 1993. – Vol. 22. – P. 1189–1192.
211. Pjevic, M. Endometriosis and infertility / M. Pjevic, A. Trninic-Pjevic, A. Radulovic // *Med. Pregl.* – 2002. – Vol. 55. – P. 120–124.
212. Polymorphisms in the IL-4 and IL-4A genes in Colombian patient with rheumatoid arthritis / O. Moreno, C.I. Gonzalez, D.L. Saaibi et al. // *J. Rheumatol.* – 2007. – Vol. 34. – P. 36–42.
213. Polymorphisms of the human IFNG gene noncoding regions / J.H. Bream, M. Carrington, S. O'Toole et al. // *Immunogenetics.* – 2000. – Vol. 51. – P. 50–58.
214. Polymorphisms within inflammatory genes and colorectal cancer / S. Landi, F. Gemignani, F. Bottari et al. // *J. Negat. Results Biomed.* – 2006. – Vol. 5. – P. 1–15.
215. Rabinovitch, A. Immunoregulation by cytokines in autoimmune diabetes / A. Rabinovitch // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2003. – P. 159–193.
216. Rasouli, M. Association of the interferon-gamma and interleukin-4 polymorphisms with susceptibility to brucellosis in Iran patients / M. Rasouli, S. Kiany // *Cytokine.* – 2007. – Vol. 38. – P. 49–53.
217. Reciprocal Activating Interaction between Natural Killer Cells and Dendritic Cells / F. Gerosa, B. Baldani-Guerra, C. Nisii et al. // *J. Exp. Med.* – 2002. – Vol. 195. – P. 327–333.
218. Recruitment of CCR6-expressing Th17 cells by CCL 20 secreted from IL-1 beta-, TNF-alpha-, and IL-17A-stimulated endometriotic stromal cells / T. Hirata,

- Y. Osuga, M. Takamura et al. // *Endocrinology*. – 2010. – Vol. 151. – P. 5468–5476.
219. Reduced developmental potential in oocytes from women with endometriosis / S.N. Norenstedt, C. Linderoth-Nagy, A. Bergendal et al. // *J. Ass. Reprod. Genet.* – 2001. – Vol. 18. – P. 644–649.
220. Role of chemokines in the pathogenesis of endometriosis / M. Nishida, K. Nasu, H. Narahara // *Front Biosci (Schol Ed)*. – 2011. – Vol. 3. – P. 1196–204.
221. Schindler, A.E. Pathophysiology, diagnosis and treatment of endometriosis / A.E. Schindler // *Minerva Ginecol.* – 2004. – Vol. 56. – P. 419–435.
222. Schmidt, L. The psychosocial consequences of infertility and fertility treatment / L. Schmidt, C.S. Sejbæk // *Ugeskr Laeger.* – 2012. – Vol. 174. – P. 2459–2462.
223. Senapati, S. Managing endometriosis-associated infertility / S. Senapati, K. Barnhart // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 54. – P. 720–726.
224. Serum and peritoneal abnormalities in endometriosis: potential use as diagnostic markers / S. Gupta, A. Agarwal, L. Sekhon et al. // *Minerva Ginecol.* – 2006. – Vol. 58. – P. 527–551.
225. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis / Eel-D. Othman, D. Hornung, H.T. Salem et al. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2008. – Vol. 137. – P. 240–246.
226. Serum IL-6 level may have role in the pathophysiology of unexplained infertility / B. Demir, S. Guven, E.S. Guven et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2009. – Vol. 62. – P. 261–267.
227. Shu-Huei, K. Oxidative Damage and Mitochondrial DNA Mutations with Endometriosis / K. Shu-Huei // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2005. – Vol. 1042. – P. 186–194.
228. Sikora, J. Imbalance in cytokines from interleukin-1 family - role in pathogenesis of endometriosis / J. Sikora, A. Mielczarek-Palacz, Z. Kondera-Anasz // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2012. – Vol. 68. – P. 138–145.

229. Singh, M. Bridging endometrial receptivity and implantation: network of hormones, cytokines, and growth factors / M. Singh, P. Chaudhry, E. Asselin // *J. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 210. – P. 5–14.
230. Smith, P.L. Type I interferons and the innate immune response-more than just antiviral cytokines / P.L. Smith, G. Lombardi, G.R. Foster // *Mol. Immunol.* – 2005. – Vol. 5. – P. 869–877.
231. Stratton, P. Chronic pelvic pain and endometriosis: translational evidence of the relationship and implications / P. Stratton, K.J. Berkley // *Hum. Reprod. Update.* – 2011. – Vol. 17. – P. 327–324.
232. T-cell receptor stimulation elicits an early phase of activation and a later phase of deactivation of the transcription factor NFAT1 / C. Loh, J. A. Carew, J. Kim et al. // *Mol. Cell Biol.* – 1996. – Vol. 16. – P. 3945–3954.
233. Th1 and Th2 immune responses related to pelvic endometriosis / S. Podgaec, J.A. Diaas Junior, C. Chapron et al. // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2010. – Vol. 56. – P. 92–98.
234. The (-590C/T) polymorphism in the interleukin-4 gene is associated with increased risk for early stages of colorectal adenocarcinoma / A. Yannopoulos, N. Nikiteas, A. Chatzitheofylaktou et al. // *In Vivo.* – 2007. – Vol. 21. – P. 1031–1035.
235. The effect of novel polymorphisms in the interleukin 6 (IL6) gene on IL6 transcription and plasma IL6 levels, and an association with systemic onset juvenile chronic arthritis / D. Fishman, G. Faulds, R. Jeffery et al. // *J. Clin. Invest.* – 1998. – Vol. 102. – P. 1369–1376.
236. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men / S.E. Humphries, L.A. Luong, M.S. Ogg et al. // *Eur. Heart J.* – 2001. – Vol. 22. – P. 2243–2252.
237. The presence of ovarian endometriomas is associated with a reduced responsiveness to gonadotropins / E. Somigliana, M. Infantino, F. Benedetti et al. // *Fertil. Steril.* – 2006. – Vol. 86. – P. 192–196.

238. The prevalence of endometriosis in women with infertile partners / K.G. Waller, P. Lindsay, P. Curtis, R.W. Shaw // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1993. – Vol. 48. – P. 135–139.
239. Thoracic endometriosis syndrome is strongly associated with severe pelvic endometriosis and infertility / D. Soriano, R. Schonman, I. Gat et al. // *J. Minim. Invasive. Gynecol.* – 2012. – Vol. 19. – P. 742–748.
240. Toll-like receptor pathways in the immune responses to mycobacteria / V. Quesniaux, C. Fremont, M. Jacobs et al. // *Microbes Infect.* – 2004. – Vol. 6. – P. 946–959.
241. Total cortisol levels are reduced in the periovulatory follicle of infertile women with minimal-mild endometriosis / M.P. Smith, S.D. Keay, F.C. Margo et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2002. – Vol. 47. – P. 52–56.
242. Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphism in tuberculosis patients / V. Kumar, R. Khosla, A.Kumar et al. // *Int. J. Hum. Genet.* – 2007. – Vol. 7. – P. 249–252.
243. Wu, J. Expression of integrin beta 3 and intracellular adhesion molecule in endometrium and endometriotic tissue / J. Wu, J. Zhang, Y. Liu // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 1999. – Vol. 34. – P. 204–206.