

Ассоциированность полиморфных вариантов генов цитокинов, фактора роста эндотелия и матричных металлопротеиназ с развитием миомы матки среди русских женщин

Е.Г. Королева¹, В.И. Коненков², А.В. Шевченко², В.Ф. Прокофьев², Н.Б. Орлов²,
Ю.С. Тимофеева³, С.В. Айдагулова³, И.О. Маринкин³

¹ Клинический госпиталь «Авиценна» группы компаний «Мать и дитя»
630099, г. Новосибирск, ул. Коммунистическая, 17/1

² НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Резюме

Одним из факторов развития миомы матки (ММ) является генетическая предрасположенность к ее возникновению у части женщин, однако реальные молекулярно-генетические механизмы реализации этого феномена остаются неизвестными. Целью исследования явился анализ распределения полиморфных вариантов генов ряда факторов регуляции активности воспаления (цитокинов TNF α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10), интенсивности ангиогенеза (фактора роста сосуда эндотелия VEGF) и ремоделирования внеклеточного матрикса (металлопротеиназ MMP2, MMP3, MMP9), ассоциированных с уровнем продукции тех факторов, структура которых кодируется экзонами соответствующих генов. **Материал и методы.** Генотипирование осуществляли в режиме реального времени с использованием коммерческих тест-систем на основе интеркалирующего красителя SYBR GreenI (Литех, Россия) и методом TaqMan-зондов (Синтол, Россия) на амплификаторе «ДТ-96» (ДНК-Технология) согласно инструкции фирм-производителей. Содержание цитокинов в сыворотке крови определяли методом проточной флуориметрии с использованием микросфер, покрытых моноклональными антителами к цитокинам (Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay), согласно инструкции к прибору Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, США). Для оценки полученных результатов кроме общепринятых методов статистической обработки, используемых в генетических эпидемиологических исследованиях типа «случай – контроль», также использованы вычислительные методы биоинформатики для сравнительного анализа диагностической ценности различных комбинированных генетических признаков. **Результаты.** Показано, что максимальным значением отношения шансов развития ММ обладают комбинированные генетические признаки, в состав которых входят одновременно представители всех четырех семейств регуляторных факторов: цитокинов с провоспалительной активностью, цитокинов с противовоспалительной активностью, факторов роста сосуда эндотелия и металлопротеиназ ($p = 0,002$). **Заключение.** Представленные данные выявляют реальные механизмы проявления генетической предрасположенности отдельных женщин к развитию ММ, связанные с наличием в их геноме вариантов полиморфных участков генов, которые обеспечивают варианты структуры цитокиновых сетей с преобладанием тех или иных активностей в регулировании тканевых процессов в матке. Помимо чисто научного интереса, эти результаты указывают на реальную возможность их клинического использования в форме прогностических критериев с известным уровнем прогностической значимости.

Ключевые слова: миома матки, полиморфизм, TNFA, IL1B, IL4, IL6, IL10, VEGFA, MMP2, MMP3, MMP9, QTL.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках Государственного задания НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, тема № 122022800132-1 и Государственного задания ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ на осуществление научных исследований и разработок № 121021700349-8.

Автор для переписки: Коненков В.И., e-mail: vikonenkov@gmail.com

Для цитирования: Королева Е.Г., Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Орлов Н.Б., Тимофеева Ю.С., Айдагулова С.В., Маринкин И.О. Ассоциированность полиморфных вариантов генов цитокинов, фактора роста эндотелия и матричных металлопротеиназ с развитием миомы матки среди русских женщин. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(2):113–122. doi: 10.18699/SSMJ20240214

Association of polymorphic variants of cytokines genes, endothelial growth factor and matrix metalloproteinases with the development of uterine fibroids among russian women

E.G. Koroleva¹, V.I. Konenkov², A.V. Shevchenko², V.F. Prokofiev², N.B. Orlov², Yu.S. Timofeeva³, S.V. Aidagulova³, I.O. Marinkin³

¹ Clinical Hospital "Avicenna" of the group of companies "Mother and Child"
630099, Novosibirsk, Kommunisticheskaya st., 17/1

² Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakova st., 2

³ Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

One of the factors in the development of uterine fibroids is a genetic predisposition to its occurrence in some women, but the real molecular genetic mechanisms of this phenomenon remain unknown. Aim of the study was the distribution analysis of gene polymorphism of cytokines TNF α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, factors of angiogenesis (vascular endothelial growth factor, VEGF) and remodeling of extracellular matrix (metalloproteinases MMP2, MMP3, MMP9), which are associated with their levels. **Material and methods.** Genotyping was performed by real-time PCR using commercial test systems SYBR GreenI (Litech, Russia) and TaqMan (Syntol, Russia) in accordance with the instructions of the developer. Cytokine content in blood serum was determined by flow cytometry using microspheres coated with monoclonal antibodies to cytokines (Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay), according to the instructions for Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, USA). To evaluate the results obtained, in addition to the generally accepted methods of statistical processing for case – control studies, computational methods of bioinformatics were used for comparative analysis of the diagnostic value of various combined genetic traits. **Results.** It was shown that the maximum odds ratio value of uterine fibroids development are combined genetic traits that include representatives of all four regulatory factors: cytokines with pro-inflammatory activity, cytokines with anti-inflammatory activity, vascular endothelial growth factors and metalloproteinases ($p = 0.002$). **Conclusions.** The presented data reveal the real mechanisms of manifestation of the genetic predisposition of individual women to the uterine fibroids development, associated with the presence of polymorphism of certain genes in their genome, which provide features of the structure of cytokine networks with the predominance of certain activities in the regulation of tissue processes in the uterus. In addition to purely scientific interest, these results indicate the real possibility of their clinical application in the form of prognostic criteria with a certain level of prognostic significance.

Key words: uterine fibroids, polymorphism, TNFA, IL1B, IL4, IL6, IL10, VEGFA, MMP2, MMP3, MMP9, QTL.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was carried out within the framework of the State assignment of Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, topic No. 122022800132-1 and the State assignment of the Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia for research and development No. 121021700349-8.

Correspondence author: Konenkov V.I., e-mail: vikonenkov@gmail.com

Citation: Koroleva E.G., Konenkov V.I., Shevchenko A.V., Prokofiev V.F., Orlov N.B., Timofeeva Yu.S., Aidagulova S.V., Marinkin I.O. Association of polymorphic variants of cytokines genes, endothelial growth factor and matrix metalloproteinases with the development of uterine fibroids among russian women. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(2):113–122. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240214

Введение

Миома матки (лейомиома) (ММ) является одним из наиболее распространенных доброкачественных моноклональных новообразований миометрия, частота которого среди женщин возрастает по мере увеличения возраста [1, 2]. Ее клиническими проявлениями являются бесплодие,

невынашивание беременности, спонтанные выкидыши и болевые синдромы различной интенсивности [3]. На сегодняшний день не существует вариантов долгосрочного или неинвазивного лечения гормонозависимой ММ из-за ограниченных знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе ее возникновения и развития. До сих пор не существует консенсуса по поводу эти-

ологии и патогенеза данного заболевания. Однако концепция о генетической предрасположенности к развитию ММ является общепризнанной. Ранее выявлено, что у 50 % русских женщин с ММ выявлены различные варианты соматических мутаций в экзоне 2 гена *MED12*, 80 % из которых составили однонуклеотидные замены (6 вариантов) и 20 % были представлены делециями различной длины. Молекулярные продукты, структура которых кодируется генами *MED12*, принимают активное участие в регуляции факторов транскрипции при трансдукции внутриклеточных сигналов. Установлено, что мутации *MED12* положительно коррелируют с субсерозным (по сравнению с интрамуральным) расположением опухоли [4, 5].

Наряду с этим при развитии опухолевого процесса при ММ происходят нарушения нормального течения пролиферативных процессов, приводящих к слабо контролируемым нарастаниям избыточной массы миометрия, что, вероятно, связано с нарушениями активности цитокинов, хемокинов и других ростовых и регуляторных факторов. В цикле работ, ранее опубликованных авторским коллективом, показаны значительные изменения концентрации ряда цитокинов с про- и противовоспалительной активностью, хемокинов, металлопротеиназ и факторов роста в сыворотке крови женщин репродуктивного возраста европеоидного происхождения, проживающих в Сибирском федеральном округе России [6–9].

Целью настоящего исследования явился анализ распределения полиморфных вариантов генов ряда факторов регуляции активности воспаления (цитокинов $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-4$, $IL-6$, $IL-10$), интенсивности ангиогенеза (фактора роста сосудистого эндотелия VEGF) и ремоделирования внеклеточного матрикса (металлопротеиназ MMP2, MMP3, MMP9), ассоциированных с уровнем продукции тех факторов, структура которых кодируется экзонами соответствующих генов. Варианты этих полиморфных участков генома являются материальным субстратом генных сетей QTL – так называемых «локусов количественных признаков» [10]. Анализируемые полиморфные участки генов располагаются в нетранслируемых участках ДНК.

Материал и методы

Под наблюдением находились 39 пациенток с верифицированным диагнозом миомы тела матки, которым проводилось оперативное лечение в объеме лапароскопической миомэктомии. Возраст больных составил от 23 до 54 лет ($41,13 \pm 6,68$ года). С избыточной массой тела было 7 женщин (17,94 %), с ожирением I, II и III степени – со-

ответственно 4 (10,2 %), 2 (5,12 %) и 2 (5,12 %). Пациентки с сопутствующими заболеваниями: хроническая железодефицитная анемия легкой степени тяжести – 12 (30,76 %), гипертоническая болезнь – 9 (23,07 %), нейроциркуляторная дистония – 4 (10,25 %), хронический холецистит – 4 (10,25 %), дорсопатия поясничного отдела позвоночника – 3 (7,69 %), дорсопатия шейного отдела позвоночника – 2 (5,12 %), хроническая сердечная недостаточность – 3 (7,69 %), гипотиреоз – 2 (5,12 %), диффузный узловой зоб – 1 (2,56 %), аутоиммунный тиреоидит – 1 (2,56 %), дискинезия желчевыводящих путей – 1 (2,56 %), хронический гастродуоденит – 2 (5,12 %), хронический панкреатит – 1 (2,56 %), хронический тонзиллит – 1 (2,56 %), хронический гайморит – 1 (2,56 %), мочекаменная болезнь – 1 (2,56 %), варикозная болезнь вен нижних конечностей – 1 (2,56 %), цереброваскулярная болезнь – 1 (2,56 %), фиброаденоматоз молочных желез – 1 (2,56 %), хронический вирусный гепатит В – 1 (2,56 %). В анамнезе одни роды были у 17 обследованных (43,58 %), 2 родов – у 10 (25,64 %), 3 родов – у 1 (2,56 %), однократное искусственное прерывание беременности – у 8 (20,56 %), двукратное – у 8 (20,56 %), трехкратное и более – у 9 (23,07 %). У 6 пациенток в анамнезе выявлено по одному самопроизвольному прерыванию беременности, у одной было два выкидыша, еще у одной – более трех. Жалобы на тянущие боли внизу живота предъявляли 28 пациенток (71,79 %), на кровотечение – 23 (58,97 %).

Размеры миоматозных узлов, выявленных по данным УЗИ органов малого таза, составили от 5 до 180 мм ($106,5 \pm 41,05$ мм). У 19 женщин (48,71 %) узлы располагались по передней стенке матки, у 7 (17,94 %) – по задней стенке, у 2 (5,12 %) имели атипичное расположение (забрюшинные, перешеечные узлы), у 11 (28,20 %) – сочетанное. При выполнении предоперационной гистероскопии при гистологическом исследовании у 7 пациенток диагностирован полип эндометрия (17,94 %), у 6 – простая гиперплазия эндометрия (15,38 %). В качестве консервативной терапии перед оперативным лечением 8 пациенток принимали комбинированные оральные контрацептивы (20,56 %), 2 – гестагены (5,12 %), 2 – агонисты гонадотропин-рилизинг гормона (5,12 %), 2 – модуляторы рецепторов прогестерона (5,12 %).

Группу сравнения составили 210 практически здоровых женщин аналогичного возраста и этнического происхождения, прошедших процедуру диспансеризации, включавшую УЗИ органов малого таза.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, этическим комитетом ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 107 от 31.05.2018). У всех пациентов получено информированное согласие на забор крови, а также на использование данных исследования в научных целях.

Исследовались восемь однонуклеотидных полиморфизмов промоторных регионов генов цитокинов TNF α (rs1800630, rs1800629, rs361525), IL1 β (rs1143627), IL-4 (rs2243250), IL-6 (rs1800795), IL-10 (rs1800896, rs1800872), гена фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (rs699447 и rs3025039), трех генов MMP (rs243865, rs3025058, rs3918242) с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих тест-систем на основе интеркалирующего красителя SYBR GreenI («Литех», Россия) и методом TaqMan-зондов («Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТ-96» («ДНК-Технология», Россия) согласно инструкции фирм-производителей. Содержание цитокинов в сыворотке крови определяли методом проточной флуориметрии с использованием микросфер, покрытых моноклональными антителами (Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay) согласно инструкции к прибору Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, США).

При статистическом анализе результатов генетических исследований частоту аллелей генов определяли методом прямого подсчета, частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций – как долю индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга [11]. Статистическую оценку силы ассоциации генов, генотипов и их комбинаций с заболеванием проводили по величине отношения шансов (ОШ) с расчетом 95%-го доверительного интервала (95 % ДИ). Для оценки диагностической ценности отдельных генотипов и комбинированных генетических признаков (КГП) вычисляли одну из стандартных мер информативности – специфичность (вероятность отрицательного результата генетического теста при отсутствии заболевания). Математическую обработку связи генетических признаков и уровней концентрации регуляторных факторов в сыворотке крови пациенток с ММ проводили в соответствии с методическими подходами квантильного анализа. При данном подходе диапазон оптимума ограничивается значениями 25-го (p25) и 75-го квантилей (p75), в качестве

параметров повышенной концентрации показателей принимаются значения более p75, а сниженной – менее p25 [12]. Значимость различий между группами определяли с помощью двустороннего точного критерия Фишера. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

Результаты проведенного исследования показали, что в группе пациенток с ММ наблюдается существенное (в несколько раз) увеличение частоты встречаемости значительного числа КГП. В литературе мы не встретили аналогичных данных, что, вероятно, связано с использованным нами оригинальным подходом не к анализу наличия в геноме обследованных лиц единичных вариантов полиморфных участков отдельных генов, а к выявлению комбинаций генотипов. Этому способствовал и отбор так называемых кандидатных генов, в число которых вошли гены цитокинов, регулирующих активность воспаления, ангиогенеза и склерогенеза, факторов роста сосудистого эндотелия, являющихся основными регуляторами неоангиогенеза и васкулогенеза, а также генов ремоделирования межклеточного матрикса. Данные тканевые процессы принимают активное участие в формировании перестройки функционирования всех слоев тела матки и в формировании миоматозных узлов. К таким эндогенным регуляторам тканевых процессов относятся исследованные нами цитокины с провоспалительной и противовоспалительной активностью (TNF α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-10), VEGF и металлопротеиназы (MMP2, MMP3, MMP9). В связи с тем, что QTL имеют, как правило, сложную структуру, для ряда генов использовался анализ не одной, а двух или трех точек полиморфизма – например, –1082 и –592 для IL-10, –2578 и +936 для VEGF, –308, –863 и –238 для TNF.

Разработанная нами программа анализа данных отобрала из всего массива данных те результаты, которые наиболее достоверно ($p < 0,01$) фиксируют различия в частоте распространения всех комбинаций вариантов полиморфной структуры ДНК включенных в исследование генов регуляторных факторов. В табл. 1 представлены только те генетические признаки, частота которых среди здоровых женщин минимальна и колеблется в интервале от 0 до 1. Это позволило выявить генетические признаки с достаточно высокой прогностической значимостью и специфичностью на уровне 99–100 %. В настоящее время проводится дальнейший набор материала в целях проверки возможности клинического применения выявленных в этом исследовании КГП в качестве ла-

Таблица 1. Частоты распределения КГП в группах пациенток с ММ и здоровых женщин
Table 1. Frequency of distribution of combined genetic traits in groups of patients with uterine fibroids and healthy women

Полиморфный участок гена	Комбинация генотипов	Пациентки с ММ	Контроль	ОШ	95 % ДИ	p	Специфичность
1	2	3	4	5	6	7	8
IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	CC-CA-CT-TC	11,43	0,00	32,71	1,72–623,97	0,0027	100,00
TNF-308:IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	GG-CC-CA-CT-TC	11,43	0,00	32,71	1,72–623,97	0,0027	100,00
TNF-863:TNF-238:IL4-590:VEGF+936:MMP2-1306	CC-GG-CC-CT-TC	11,43	0,00	31,57	1,65–602,29	0,0030	100,00
TNF-238:IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	GG-CC-CA-CT-TC	11,43	0,00	31,29	1,64–596,88	0,0030	100,00
IL4-590:IL10-592:VEGF-2578:VEGF+936	CC-CA-AA-CT	8,57	0,00	29,62	1,49–587,63	0,0079	100,00
TNF-863:IL4-590:IL10-592:VEGF-2578:VEGF+936	CC-CC-CA-AA-CT	8,57	0,00	29,62	1,49–587,63	0,0079	100,00
TNF-308:IL4-590:IL10-592:VEGF-2578:VEGF+936	GG-CC-CA-AA-CT	8,57	0,00	29,62	1,49–587,63	0,0079	100,00
TNF-238:IL4-590:IL10-592:VEGF-2578:VEGF+936	GG-CC-CA-AA-CT	8,57	0,00	28,32	1,43–562,11	0,0087	100,00
IL1B-31:IL10-1082:IL10-592:VEGF+936	TC-AG-CA-CT	14,29	0,00	25,79	1,38–480,99	0,0032	100,00
TNF-238:IL1B-31:IL10-1082:IL10-592:VEGF+936	GG-TC-AG-CA-CT	14,29	0,00	25,79	1,38–480,99	0,0032	100,00
IL6-174:IL10-1082:IL10-592	CC-GG-CA	11,43	0,00	21,57	1,13–412,65	0,0091	100,00
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GG-CC-GG-CA	11,43	0,00	21,57	1,13–412,65	0,0091	100,00
TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GG-CC-GG-CA	11,43	0,00	21,57	1,13–412,65	0,0091	100,00
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592	GG-GG-CC-GG-CA	11,43	0,00	21,57	1,13–412,65	0,0091	100,00
IL6-174:IL10-1082:IL10-592:MMP9-1562	CC-GG-CA-CC	11,43	0,00	21,29	1,11–407,23	0,0094	100,00
TNF-308:IL4-590:IL10-1082:IL10-592:MMP9-1562	GG-CT-AA-CC-CC	11,43	0,00	21,29	1,11–407,23	0,0094	100,00
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:MMP9-1562	GG-CC-GG-CA-CC	11,43	0,00	21,29	1,11–407,23	0,0094	100,00
TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:MMP9-1562	GG-CC-GG-CA-CC	11,43	0,00	21,29	1,11–407,23	0,0094	100,00
TNF-308:IL1B-31:MMP2-1306	GA-TC-CC	14,29	0,82	20,17	2,27–179,11	0,0022	99,18
TNF-308:IL1B-31:IL10-592:MMP2-1306	GA-TC-CA-CC	14,29	0,83	20,00	2,25–177,64	0,0023	99,17
IL1B-31:IL4-590:IL10-592:VEGF-2578	TT-CC-CA-AA	11,43	0,65	19,87	2,15–183,89	0,0043	99,35
TNF-308:IL1B-31:IL4-590:IL10-592:VEGF-2578	GG-TT-CC-CA-AA	11,43	0,65	19,87	2,15–183,89	0,0043	99,35
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:MMP2-1306	GA-GG-TC-CC	14,29	0,87	19,00	2,14–168,82	0,0027	99,13
IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	CA-CT-TC	14,29	0,88	18,83	2,12–167,35	0,0028	99,12
TNF-308:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	GG-CA-CT-TC	14,29	0,88	18,83	2,12–167,35	0,0028	99,12
TNF-308:TNF-238:IL1B-31:IL10-592:MMP2-1306	GA-GG-TC-CA-CC	14,29	0,88	18,83	2,12–167,35	0,0028	99,12
TNF-238:IL1B-31:IL4-590:IL10-592:VEGF-2578	GG-TT-CC-CA-AA	11,43	0,68	18,71	2,02–173,20	0,0052	99,32
IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306:MMP9-1562	CT-CC-CT-CC-CC	14,29	0,89	18,50	2,08–164,42	0,0030	99,11
TNF-238:IL4-590:VEGF+936:MMP2-1306	GG-CC-CT-TC	14,29	0,91	18,17	2,04–161,48	0,0032	99,09
TNF-308:TNF-238:IL4-590:VEGF+936:MMP2-1306	GG-GG-CC-CT-TC	14,29	0,91	18,17	2,04–161,48	0,0032	99,09
TNF-238:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	GG-CA-CT-TC	14,29	0,92	18,00	2,02–160,01	0,0033	99,08

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306	GG-GG-CA-CT-TC	14,29	0,92	18,00	2,02–160,01	0,0033	99,08
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:MMP2-1306	CC-GA-TC-CC	11,43	0,82	15,61	1,68–144,70	0,0090	99,18
IL1B-31:IL4-590:IL6-174:MMP2-1306	TC-CT-GC-CC	11,43	0,83	15,48	1,67–143,52	0,0092	99,17
TNF-863:TNF-308:IL1B-31:IL10-592:MMP2-1306	CC-GA-TC-CA-CC	11,43	0,83	15,48	1,67–143,52	0,0092	99,17
IL10-592:MMP2-1306:MMP9-1562	CA-TC-CT	11,43	0,84	15,23	1,64–141,14	0,0097	99,16
TNF-308:IL10-592:MMP2-1306:MMP9-1562	GG-CA-TC-CT	11,43	0,84	15,23	1,64–141,14	0,0097	99,16
IL4-590:IL10-592:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-CA-TC-CT	11,43	0,84	15,23	1,64–141,14	0,0097	99,16
TNF-308:IL4-590:IL10-592:MMP2-1306:MMP9-1562	GG-CC-CA-TC-CT	11,43	0,84	15,23	1,64–141,14	0,0097	99,16
TNF-308:IL1B-31:MMP2-1306:MMP9-1562	GA-TC-CC-CC	11,43	0,85	15,10	1,63–139,95	0,0099	99,15
IL6-174:IL10-592:VEGF-2578:MMP2-1306:MMP9-1562	GC-CC-CC-CC-CC	11,43	0,85	15,10	1,63–139,95	0,0099	99,15

бораторных критериев прогноза развития ММ у здоровых женщин молодого возраста.

Обращает на себя внимание тот факт, что максимальными значениями ОШ развития ММ обладают КГП, в состав которых входят одновременно представители всех четырех семейств регуляторных факторов: цитокинов с про- и противовоспалительной активностью, VEGF и металлопротеиназ. Так, максимальная величина ОШ более 30,0 и 100%-е значения специфичности выявляемого признака установлены для КГК, представленных комплексами *IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306*, *TNF-308:IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306*, *TNF-863:TNF-238:IL4-590:VEGF+936:MMP2-1306* и *TNF-238:IL4-590:IL10-592:VEGF+936:MMP2-1306*. Учитывая абсолютное отсутствие данных КГП в значительной по объему контрольной выборке здоровых женщин, можно с известной долей вероятности обозначить эти генетические варианты «запрещенными», что существенно повышает прогностическую значимость их выявления для состояния предрасположенности к развитию ММ.

С целью установления характера ассоциированности различных составляющих КГП с концентрацией самих регуляторных факторов в сыворотке крови пациенток с ММ применен вариант квантильного анализа, предусматривающий разделение массива количественных признаков на когорты с дальнейшим выявлением частот встречаемости отдельных вариантов структуры полиморфных участков генов в группах с максимальными и минимальными значениями показателей концентраций отдельных регуляторных факторов в сыворотке крови. Для удобства восприятия лабораторные параметры исследовались в виде пар с однотипным характером связи с компонентами КГП.

Результаты такого анализа, представленные в табл. 2, показали наличие двух групп вариантов строения полиморфных участков генов *TNFA* и *MMP*, которые связаны с уровнем сывороточных регуляторных факторов. Меньшей значимостью обладают варианты полиморфизма генов *VEGF+936* и *IL10-1082*. И если последний оказывает воздействие на концентрацию собственно IL-10, то гомозиготный и гетерозиготный варианты полиморфизма гена *VEGF+936* альтернативно влияют на содержание в сыворотке таких важнейших цитокинов с провоспалительной активностью, как IL-6 и IL-17.

В основном на сходные изменения концентрации цитокинов с провоспалительной активностью TNFα, IL-6, IL-17, IL-8, факторы активации гемопоэза и ангиогенеза IL-9, VEGF и G-CSF

Таблица 2. Результаты квантильного анализа ассоциированности концентрации (максимальные и минимальные значения) регуляторных факторов в сыворотке крови пациенток с ММ с вариантами структуры ДНК в полиморфных регионах исследуемых генов**Table 2.** Results of quantile analysis of the association of regulatory factors serum level (maximum and minimum) and polymorphic DNA structure of the studied genes in patients with uterine fibroids

Фактор	Точка полиморфизма	Генотип	Количество максимальных значений, %	Количество минимальных значений, %	ОШ	95 % ДИ	<i>p</i>
IL-12p70:IL-10	<i>IL10-1082</i>	<i>AG</i>	20,00	100,00	0,03	0,00–0,94	0,0476
G-CSF:IL-17	<i>MMP2-1306</i>	<i>CC</i>	0,00	100,00	0,01	0,00–0,52	0,0048
IL-8:VEGF	<i>MMP2-1306</i>	<i>CC</i>	0,00	100,00	0,01	0,00–0,77	0,0286
IL-9:IL-17	<i>MMP2-1306</i>	<i>CC</i>	0,00	100,00	0,01	0,00–0,77	0,0286
G-CSF:IL-17	<i>MMP2-1306</i>	<i>TC</i>	100,00	0,00	117,00	1,94–7060,76	0,0048
IL-8:VEGF	<i>MMP2-1306</i>	<i>TC</i>	100,00	0,00	81,00	1,30–5046,71	0,0286
IL-9:IL-17	<i>MMP2-1306</i>	<i>TC</i>	100,00	0,00	81,00	1,30–5046,71	0,0286
IL-6:TNF α	<i>MMP3-1171</i>	<i>5A5A</i>	0,00	100,00	0,01	0,00–0,77	0,0286
IL-1 β :IL-8	<i>TNF-863</i>	<i>CA</i>	100,00	0,00	77,00	1,22–4849,19	0,0179
IL-1 β :MIP-1 α	<i>TNF-863</i>	<i>CA</i>	100,00	0,00	77,00	1,22–4849,19	0,0179
IL-8:MIP-1 β	<i>TNF-863</i>	<i>CA</i>	80,00	0,00	39,00	1,28–1190,91	0,0152
MIP-1 α :MIP-1 β	<i>TNF-863</i>	<i>CA</i>	80,00	0,00	39,00	1,28–1190,91	0,0152
MIP-1 β :IL-9	<i>TNF-863</i>	<i>CA</i>	100,00	0,00	77,00	1,22–4849,19	0,0179
IL-8:MIP-1 β	<i>TNF-863</i>	<i>CC</i>	0,00	83,33	0,02	0,00–0,75	0,0152
MIP-1 β :IL-9	<i>TNF-863</i>	<i>CC</i>	0,00	100,00	0,01	0,00–0,82	0,0179
IL-8:MIP-1 α :MIP-1 β	<i>TNF-863</i>	<i>CA</i>	100,00	0,00	77,00	1,22–4849,19	0,0179
IL-6:IL-17	<i>VEGF+936</i>	<i>CC</i>	0,00	100,00	0,01	0,00–0,82	0,0179
IL-6:IL-17	<i>VEGF+936</i>	<i>CT</i>	100,00	0,00	77,00	1,22–4849,19	0,0179

оказывают регуляторные воздействия варианты полиморфизма генов семейства *MMP*. Варианты полиморфизма гена *TNFA-863* существенно влияют на уровень сывороточной концентрации бета-хемокинов, воспалительных белков макрофагов MIP-1 α и MIP-1 β , а также IL-8 и IL-9.

Обсуждение

Результаты проведенных исследований выявили две основные группы новых данных. Нами установлена значительная степень ассоциированности развития ММ с вариантами структуры полиморфных участков генов биологически активных клеточных факторов, регулирующих такие ключевые процессы в тканях, как воспаление, ангиогенез и ремоделирование внеклеточного матрикса. При этом обнаружено, что максимальная степень таких ассоциативных связей между развитием лейомиомы и вариантами исследуемых участков генов существует при комбинации в геноме женщины полиморфизмов генов, участвующих в развитии всех трех описываемых тканевых процессов.

Эти данные существенно превышают по достоверности различий между группами здоровых и больных женщин результаты, полученные при анализе частот встречаемости отдельных полиморфных вариантов единичных генов цитокинов. Например, для полиморфизмов гена *IL-1 β -511* и *-3954* у пациенток с ММ выявлено значение ОШ в интервале от 1,81 до 2,73 [13].

Гомозиготные и гетерозиготные варианты *CT* гена *VEGF* в позиции *-460* широко распространены у здоровых женщин монголоидного происхождения и пациенток с ММ, с незначительным превышением частоты распространения варианта *CC* среди последних, однако достоверность этих различий не высока, а специфичность не проанализирована [14]. Сходные по значимости результаты получены при анализе частот распределения вариантов гена *IL-4* в позициях *-590 C/T* и *-33 C/T*. Генотип *CC IL-4 -590* и в положении *-33* встречался в основной группе реже, чем в контрольной ($p = 0,03$). Наблюдались и незначительные различия в распределение генотипов *TNFA* в позиции *-308 A/G*. Частота генотипа *AA*

оказалась выше у более молодых пациенток ($p = 0,02$) [15]. В близком по методологии исследовании не выявлено связи между полиморфизмом C-1562T гена *MMP9* и прогрессированием лейомиомы, течение которой сопровождается ложной эрозией шейки матки (эктопией эпителия) ($p > 0,521$) [16].

Кроме того, нами выявлены полиморфизмы генов, которые присутствуют исключительно в геноме женщин с ММ, и ни в одном случае не обнаружены в значительной группе (более 200) женщин с отсутствием клинических признаков развития лейомиомы. Примером таких данных являются полиморфизмы гена металлопротеиназы *MMP2-1306*, наличие которых в геноме женщины ассоциировано с максимально высокой концентрацией G-CSF и IL-17, IL-8 и VEGF, IL-9 и IL-17 в сыворотке крови пациенток. Сходным эффектом обладают гетерозиготные СА-комбинации полиморфизмов генов *TNFA* в позиции -863, характерные исключительно для женщин с максимально высоким уровнем IL-1 β , IL-8 и MIP-1 α в сыворотке крови.

Заключение

Полученные нами данные позволяют глубже понять реальные механизмы проявления генетической предрасположенности отдельных женщин к развитию ММ, связанные с наличием в их геноме полиморфных участков генов, обеспечивающих варианты структуры цитокиновых сетей, с преобладанием той или иной активности в регулировании тканевых процессов в матке. Помимо чисто научного интереса, эти результаты указывают на реальную возможность их клинического применения в форме прогностических критериев с известным уровнем прогностической значимости. Дальнейшие клинико-генетические исследования покажут, на наш взгляд, высокую вероятность такой интерпретации генетических данных, позволяющих персонализированно на раннем доклиническом этапе у практически здоровых молодых женщин репродуктивного возраста выявлять наличие высокой степени генетической предрасположенности к развитию ММ и направлять их на углубленное инструментальное обследование состояния тканей матки.

Список литературы

1. Аганезова Н.В., Аганезов С.С., Шило М.М. Миома матки: современные практические аспекты заболевания. *Пробл. репродукции*. 2022;28(4):97–105. doi: 10.17116/repro20222804197
2. Буянова С.Н., Юдина Н.В., Гукасян С.А., Мгелиашвили М.В. Современные аспекты роста

миомы матки. *Рос. вестн. акушера-гинеколога*. 2012;12(4):42–48.

3. Свирепова К.А., Кузнецова М.В., Согоян Н.С., Зеленский Д.В., Лоломадзе Е.А., Михайловская Г.В., Мишина Н.Д., Донников А.Е., Трофимов Д.Ю. Наследственные факторы риска развития миомы матки: поиск маркерных однонуклеотидных полиморфизмов. *Вестн. РГМУ*. 2020;(1):29–35. doi: 10.24075/vrgmu.2020.011

4. Ponomarenko I., Reshetnikov E., Polonikov A., Verzhilina I., Sorokina I., Yermachenko A., Dvornyk V., Churnosov M. Candidate genes for age at menarche are associated with uterine leiomyoma. *Front. Genet.* 2021;11:512940. doi: 10.3389/fgene.2020.512940

5. Kuznetsova M.V., Sogoyan N.S., Donnikov A.J., Trofimov D.Y., Adamyan L.V., Mishina N.D., Shubina J., Zelensky D.V., Sukhikh G.T. Familial predisposition to leiomyomata: searching for protective genetic factors affiliations expand. *Biomedicines*. 2022;10(2):508–520. doi: 10.3390/biomedicines10020508

6. Коненков В.И., Королева Е.Г., Орлов Н.Б., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В., Новиков А.М., Дергачева Т.И., Останин А.А. Противовоспалительная активность цитокинов сыворотки крови (IL-4, IL-10, IL-13) и природных антагонистов рецепторов IL-1 β (IL-1ra) у женщин с миомой матки. *Акушерство и гинекол.* 2018;(10):80–85. doi: 10.18565/aig.2018.10.80-85

7. Коненков В.И., Королева Е.Г., Орлов Н.Б., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В., Новиков А.М., Дергачева Т.И. Изменения концентраций CCL-хемокинов (MCP-1, MIP-1A, MIP-1B, RANTES и EOTAXIN) в сыворотке крови женщин с миомой матки. *Акушерство и гинекол.* 2019;(8):107–111. doi: 10.18565/aig.2019.8.107-111

8. Коненков В.И., Королева Е.Г., Орлов Н.Б., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В., Новиков А.М., Дергачева Т.И. Уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-8, IL-12P70, IFN γ) в сыворотке крови женщин с миомой матки. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2018;(5):648–652

9. Коненков В.И., Королева Е.Г., Орлов Н.Б., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В., Новиков А.М. Сывороточные уровни факторов роста гемопоэза и ангиогенеза (IL-5, IL-7, IL-9, FGF- β , G-CSF, VEGF и PDGF) у женщин с миомой матки. *Мед. иммунол.* 2018;20(5):691–698. doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-691-698

10. Колчанов Н.А., Игнатъева Е.В., Подколотная О.А., Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г. Генные сети. *Вавил. ж. генет. и селекции*. 2013;17(4/2):833–850

11. Вейр Б.С. Анализ генетических данных: Дискретные генетические признаки. М.: Мир, 1995. 400 с.

12. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.

13. Pietrowski D., Thewes R., Sator M., Denschlag D., Keck C., Tempfer C. Uterine leiomyoma is associated with a polymorphism in the interleukin 1-beta gene. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2009;62(2):112–117. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00718.x

14. Hsieh Y.Y., Chang C.C., Tsai F.J., Lin C.C., Tsai C.H. T allele for VEGF-460 gene polymorphism at 5'-untranslated region is associated with higher susceptibility of leiomyoma. *Biochem. Genet.* 2008;46(5-6):356–361. doi: 10.1007/s10528-008-9150-1

15. Sosna O., Kolesár L., Slavčev A., Skibová J., Fait T., Mara M., Stríž I., Kužel D. Th1/Th2 cytokine gene polymorphisms in patients with uterine fibroid. *Folia Biol. (Praha)*. 2010;56(5):206–210.

16. Савченко И.Н., Гарбузова В.Ю. Роль олигонуклеотидного полиморфизма С-1562Т гена матричной металлопротеиназы-9 в развитии лейомиомы матки у женщин с патологией шейки матки. *Мед. новости Грузии*. 2015;(2):18–22.

References

1. Aganezova N.V., Aganezov S.S., Shilo M.M. Uterine fibroids: modern practical aspects of the disease. *Problemy reproduksii = Russian Journal of Human Reproduction*. 2022;28(4):97–105. [In Russian]. doi: 10.17116/repro20222804197

2. Buianova S.N., Iudina N.V., Gukasian S.A., Mgeliashvili M.V. Uterine myoma growth: Current aspects. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2012;12(4):42–48. [In Russian].

3. Svirepova K.A., Kuznetsova M.V., Sogoyan N.S., Zelensky D.V., Lolomadze E.A., Mikhailovskaya G.V., Mishina N.D., Donnikov A.E., Trofimov D.Yu. Hereditary risk factors for uterine leiomyoma: a search for marker SNPs. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University*. 2020;(1):27–33. [In Russian]. doi: 10.24075/vrgmu.2020.011

4. Ponomarenko I., Reshetnikov E., Polonikov A., Verzilina I., Sorokina I., Yermachenko A., Dvornyk V., Churnosov M. Candidate genes for age at menarche are associated with uterine leiomyoma. *Front. Genet.* 2021;11:512940. doi: 10.3389/fgene.2020.512940

5. Kuznetsova M.V., Sogoyan N.S., Donnikov A.J., Trofimov D.Y., Adamyan L.V., Mishina N.D., Shubina J., Zelensky D.V., Sukhikh G.T. Familial predisposition to leiomyomata: searching for protective genetic factors affiliations expand. *Biomedicines*. 2022;10(2):508–520. doi: 10.3390/biomedicines10020508

6. Konenkov V.I., Koroleva E.G., Orlov N.B., Prokof'ev V.F., Shevchenko A.V., Novikov A.M., Dergacheva T.I., Ostanin A.A. Anti-inflammatory activity of serum cytokines (IL-4, IL-10, IL-13) and the natu-

ral IL-1β receptor antagonist (IL-1RA) in women with uterine myoma. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*. 2018;(10):80–85. [In Russian]. doi: 10.18565/aig.2018.10.80-85

7. Konenkov V.I., Koroleva E.G., Orlov N.B., Prokofyev V.F., Shevchenko A.V., Novikov A.M., Dergacheva T.I. Changes in the serum concentrations of CCL chemokines (MCP-1, MIP-1A, MIP-1B, RANTES and EOTAXIN) in women with uterine myoma. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*. 2019;(8):107–111. [In Russian]. doi: 10.18565/aig.2019.8.107-111

8. Konenkov V.I., Koroleva E.G., Orlov N.B., Prokof'ev V.F., Shevchenko A.V., Novikov A.M., Dergacheva T.I. Blood serum levels of proinflammatory cytokines (IL-1β, IL-6, TNFα, IL-8, IL-12P70, and IFNγ) in patients with uterine myoma. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018;165:698–701.

9. Konenkov V.I., Koroleva E.G., Orlov N.B., Prokofyev V.F., Shevchenko A.V., Novikov A.M. Serum levels of hemopoietic and angiogenesis growth factors (IL-5, IL-7, IL-9, FGF-β, G-CSF, VEGF AND PDGF) in women with uterine myoma. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology*. 2018;20(5):691–698. [In Russian]. doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-691-698

10. Kolchanov N.A., Ignatieva E.V., Podkolodnaya O.A., Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G. Gene networks. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):833–850. [In Russian].

11. Weir B.S. Genetic data analysis: Method for discrete population genetic data. Moscow: Mir, 1995. 400 p. [In Russian].

12. Glantz S. Medico-biological statistics. Moscow: Praktika, 1998. 459 p. [In Russian].

13. Pietrowski D., Thewes R., Sator M., Denschlag D., Keck C., Tempfer C. Uterine leiomyoma is associated with a polymorphism in the interleukin 1-beta gene. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2009;62(2):112–117. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00718.x

14. Hsieh Y.Y., Chang C.C., Tsai F.J., Lin C.C., Tsai C.H. T allele for VEGF-460 gene polymorphism at 5'-untranslated region is associated with higher susceptibility of leiomyoma. *Biochem. Genet.* 2008;46(5-6):356–361. doi: 10.1007/s10528-008-9150-1

15. Sosna O., Kolesár L., Slavčev A., Skibová J., Fait T., Mara M., Stríž I., Kužel D. Th1/Th2 cytokine gene polymorphisms in patients with uterine fibroid. *Folia Biol. (Praha)*. 2010;56(5):206–210.

16. Savchenko I.N., Garbuzova V.Yu. Role of single-nucleotide polymorphism C-1562T of the matrix metalloproteinase-9 gene in the development of leiomyoma in women with cervical pathology. *Georgian Med. News*. 2015;239(2):18–22. [In Russian].

Сведения об авторах:

Королева Елена Георгиевна, ORCID: 0000-0002-8522-4382, e-mail: korlex71@mail.ru

Коненков Владимир Иосифович, д.м.н., проф., акад. РАН, ORCID: 0000-0001-7385-6270,
e-mail: vikonenkov@gmail.com

Шевченко Алла Владимировна, д.б.н., ORCID: 0000-0001-5898-950X, e-mail: shalla64@mail.ru

Прокофьев Виктор Федорович, к.м.н., ORCID: 0000-0001-7290-1631, e-mail: vprok@ngs.ru

Орлов Николай Борисович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-3437-7151, e-mail: nbo700@mail.ru

Тимофеева Юлия Сергеевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-5379-9296, e-mail: dr.j.timofeeva@yandex.ru

Айдагулова Светлана Владимировна, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0001-7124-1969, e-mail: asvetvlad@yandex.ru

Маринкин Игорь Олегович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-9409-4823, e-mail: rector@ngmu.ru

Information about the authors:

Elena G. Koroleva, ORCID: 0000-0002-8522-4382, e-mail: korlex71@mail.ru

Vladimir I. Konenkov, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0001-7385-6270,
e-mail: vikonenkov@gmail.com

Alla V. Shevchenko, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5898-950X, e-mail: shalla64@mail.ru

Viktor F. Prokofiev, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-7290-1631, e-mail: vprok@ngs.ru

Nikolay B. Orlov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3437-7151, e-mail: nbo700@mail.ru

Yulia S. Timofeeva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5379-9296, e-mail: dr.j.timofeeva@yandex.ru

Svetlana V. Aidagulova, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0001-7124-1969, e-mail: asvetvlad@yandex.ru

Igor' O. Marinkin, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-9409-4823, e-mail: rector@ngmu.ru

Поступила в редакцию 04.10.2023

После доработки 13.10.2023

Принята к публикации 22.12.2023

Received 04.10.2023

Revision received 13.10.2023

Accepted 22.12.2023