

УДК 618.11-006.2:575.22

© В. М. Запорожан, Є. А. Полякова, А. М. Семенюта, 2011.

## ГЕНИ ФЕРМЕНТІВ ДЕТОКСИКАЦІЇ ЯК РАННІЙ МАРКЕР ДІАГНОСТИКИ СИНДРОМА ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ

**В. М. Запорожан, Є. А. Полякова, А. М. Семенюта***Кафедра акушерства і гінекології №1 (зав. кафедри – проф. В. М. Запорожан),  
Одеський національний медичний університет, м. Одеса.*

### GENES OF DETOXIFICATION ENZYMES AS AN EARLY MARKER FOR DIAGNOSTICS OF POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

**V. M. Zaporozhan, Y. A. Polyakova, A. M. Semenyuta**

#### SUMMARY

The results of the study concerning the role of detoxification enzymes genes (GSTM1, GSTT1) in early diagnostics of polycystic ovary syndrome are presented in this work. The variants of genotypes at healthy women with ovulatory cycles and patients with polycystic ovary syndrome and infertility were determined. The revealed combinations of alleles can have prognostic significance in early diagnostics of polycystic ovary syndrome development.

### ГЕНЫ ФЕРМЕНТОВ ДЕТОКСИКАЦИИ КАК РАННИЙ МАРКЕР ДИАГНОСТИКИ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

**В. Н. Запорожан, Е. А. Полякова, А. Н. Семенюта**

#### РЕЗЮМЕ

В данной работе представлены результаты исследований по изучению роли генов ферментов детоксикации (GSTM1, GSTT1) в ранней диагностике синдрома поликистозных яичников. Определялись варианты генотипов у здоровых женщин с овуляторными циклами и больных с синдромом поликистозных яичников и бесплодием. Выявленные сочетания аллелей могут иметь прогностическое значение в ранней диагностике синдрома поликистозных яичников.

**Ключові слова: синдром полікістозних яєчників, гени ферментів детоксикації, діагностика.**

Однією з найбільш складних та важливих проблем в гінекології до теперішнього часу продовжує залишатися проблема безпліддя [1]. Частота безплідного шлюбу, за даними різних авторів, коливається від 10-15% до 18-30% [9]. В Україні зареєстровано 650 тисяч жінок, що страждають на безпліддя. До основних варіантів безпліддя у жінок відноситься трубно-перитонеальне та ендокринне безпліддя. Ендокринні форми безпліддя, які проявляються ановуляцією та недостатністю лютеїнової фази, посідають друге місце за частотою серед факторів, що призводять до порушення фертильності. Механізм формування цих станів один – порушення реалізації зв'язків у системі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники у результаті пошкодження різноманітних її рівнів – від ЦНС та гіпоталамо-гіпофізарних центрів до яєчників та органів-мішеней [3].

До найбільш частих форм ендокринопатій відносять синдром полікістозних яєчників (СПКЯ). Частота синдрому у популяції становить 11-15% [7].

У формуванні репродуктивного здоров'я беруть участь безліч факторів ендокринного характеру, серед яких важливу роль у розвитку порушень репродукції грає генетична схильність, що впливає на метаболізм ксенобіотиків в організмі, в тому числі гормонів та лікарських препаратів [2, 8].

Метаболізм (біотрансформація) ксенобіотиків здійснюється шляхом складної системи ферментів та представляє 3 послідовних етапи: активація (фаза 1), детоксикація (фаза 2) та виведення (фаза 3) [4].

Згідно літературним даним, наявність делецій в генах глутатіон-S-трансфераз (GSTM1, GSTT1) виявляє позитивну асоціацію зі звичним невиношуванням вагітності, гестозами, ендометріозом [11], ановуляцією та передчасним старінням яєчників шляхом руйнування оваріальних фолікулів [12].

Нещодавно проведені дослідження припускають, що біоактивація ксенобіотиків ферментами першої фази детоксикації призводить до формування вільних кисневих радикалів (ROS), які, імовірно, пошкоджують внутрішньоклітинні сигнальні шляхи у премордальних фолікулах [10]. В одному з досліджень автори намагалися ідентифікувати сигнальні шляхи фолікулів яєчника, які можуть бути активовані експозицією ксенобіотика, використовуючи овотоксичні агенти, які здатні вражати незрілі фолікули – 4-Vinylcyclohexene (25 μM), Methoxychlor (25 μM) та Menadione (5 μM) in vitro з послідовним аналізом [10]. Ці результати дають підставу припустити, що ксенобіотики, які пошкоджують премордальні фолікули, можливо, частково володіють овотоксичною дією, порушуючи передачу сигналів у шля-

хах, які залучені до активації та розвитку фолікулів [5].

Зважаючи на вищевикладане, дослідження поліморфізму генів ферментів детоксикації є актуальним у жінок, що страждають на ановуляторне безпліддя. Метою дослідження був аналіз сімейства глутатіон-S-трансфераз у жінок з синдромом полікістозних яєчників.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення поставленої мети було обстежено 102 жінки віком 19-35 років. Пацієнтки були розділені на 2 клінічні групи. I клінічну групу (основну) склали 50 пацієток із СПКЯ та безпліддям. До II групи (контрольної) увійшли 52 жінки з овуляторними циклами. СПКЯ діагностувався за принципами Роттердамського ESHRE/ASRM консенсусу [13]. Всім жінкам було проведено загальне клінічне обстеження, яке включало дані анамнезу, характеру менструального циклу, репродуктивної функції, гінекологічний огляд. Також було проведено визначення стандартних біохімічних, гормональних (естрадіол, прогестерон, тестостерон, ФСГ, ЛГ методом ІФА [6]) параметрів та ультразвукове дослідження органів

малого тазу (УЗД) з фолікулометрією (визначали об'єм яєчників, число антральних фолікулів діаметром 2-10 мм, доплерометричні показники внутрішньояєчничового кровотоку). Овуляторна функція оцінювалася за даними динамічного ультразвукового дослідження органів малого тазу та даними функціональної діагностики. Також у всіх пацієток досліджували поліморфізми генів GSTM1 та GSTT1 методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [1, 10].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами динамічного УЗД та даними функціональної діагностики, було зазначено, що пацієнтки основної групи у 100,0% випадків мали порушення овуляторної функції. Так, у 16,0% (n=8) жінок основної групи виявлявся стійкий гіполотеїнізм (вкорочення II фази менструального циклу – менш 10 днів зі зниженням температурного розриву <0,4°C), 84,0% (n=44) пацієток з СПКЯ мали різну ступінь олігоановуляції. Також, за даними УЗД малого тазу, у 93,6% хворих виявилось збільшення об'єму яєчників в порівнянні з наявністю у них не менш 12 кіст (2-10 мм) та з відсутністю домінантного фолікула.

Таблиця 1

Ехографічні характеристики яєчників пацієток досліджуваних груп

Показник	Контрольна група (здорові) n=52 M±m	Основна група (СПКЯ+безпліддя) n=50 M±m
Об'єм яєчників, см <sup>3</sup>	6,4±0,4	11,3±0,7,*
Число антральних фолікулів d=2-10 мм	5,0±0,3	9,4±0,3*

Примітка: \* – p<0,05 порівняно з контрольною групою.

У основній групі жінок з СПКЯ показник середнього об'єму яєчників та числа антральних фолікулів виявився достовірно більшим порівняно з контрольною групою (11,3±0,7 см<sup>3</sup> проти 6,4±0,4 см<sup>3</sup>, 9,4±0,3 проти 5,0±0,3 відповідно, p<0,05) (табл. 1).

При дослідженні гормонального статусу визна-

чалися більш високі концентрації ЛГ та тестостерону у пацієток з СПКЯ (p<0,05), при цьому середнє значення прогестерону було достовірно нижчим, що є характерним для ановуляції та патогномонічним для даної патології (p<0,05) (табл. 2).

Таблиця 2

Гормональні параметри пацієток досліджуваних груп

Показник	Контрольна група (здорові) n=52 M±m	Основна група (СПКЯ+безпліддя) n=50 M±m
ЛГ (МЕ/л)	7,6±0,5	12,5±0,9,*
ФСГ (МЕ/л)	7,6±0,5	6,6±0,4,#
Естрадіол (нмоль/л)	193,0±37,4	158,0±14,6,#
Тестостерон (нмоль/л)	1,7±0,3	2,5±0,2,*
Прогестерон (нмоль/л)	41,2±5,5	8,8±2,3*

Примітка: \* – p<0,05 порівняно з контрольною групою; # – p>0,05 порівняно з контрольною групою.

При аналізі поєднань поліморфних алелей в генотипах по досліджуваних генах GSTM1 та GSTT1, частоти зустрічаємості в основній групі розподілялися таким чином: переважало поєднання гомозигот з нульовими алелями M1 та T1 – 42,0% (у контрольній групі – 17,3%, різниця частоти зустрічаємості між групами була достовірно нижче на 24,7%,  $p < 0,01$ ), на другому місці виявилось поєднання го-

мозигот з повноцінними алелями M1 та T1 – 30,0% (у контрольній групі – 48,1%,  $p > 0,05$ ), декілька рідше визначалася комбінація гомозигот з нульовим M1 та повноцінним T1 – 16,0% (у контрольній групі – 21,2%,  $p > 0,05$ ), та на останньому місці по частоті зустрічаємості було поєднання повноцінного M1 та нульового T1 – 12,0% (у контрольній групі – 13,5%,  $p > 0,05$ ) (табл. 3).

Таблиця 3

Поєднання генотипів за 2-ма генами системи детоксикації у обстежених жінок

Поєднання генотипів	Контрольна група (здорові)			Основна група (СПКЯ+безпліддя)			p
	n	N	%	n	N	%	
T1 0/0 M1 0/0	9	52	17,3%	21	50	42,0%,	<0,01*
T1+M1 0/0	11	52	21,2%	8	50	16,0%,	>0,05#
T1 0/0 M1+	7	52	13,5%	6	50	12,0%,	>0,05#
T1+ M1+	25	52	48,1%	15	50	30,0%	>0,05#

Примітка: \* –  $p < 0,01$  порівняно з контрольною групою; # –  $p > 0,05$  порівняно з контрольною групою.

#### ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що комбінація гомозигот з нульовими алелями M1 та T1 зустрічалася достовірно частіше у хворих на СПКЯ.
2. Відзначалася тенденція до накопичення повноцінних алелей M1 та T1 у групі здорових жінок.
3. По іншим поліморфізмам достовірної різниці зустрічаємості між групами не встановлено.
4. Присутність нульових алелей генів ферментів детоксикації може служити додатковим фактором ранньої діагностики та прогнозування СПКЯ.
5. На підставі даних гормонального, ультразвукового досліджень достовірно встановлено діагноз СПКЯ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Изменчивость генов детоксикации при нарушениях репродуктивной системы у женщин / Е. В. Беляева, Л. И. Колесникова, Е. В. Ермолова [и др.] // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2009. – № 4–5. – С. 198–200.
2. Іванюта Л. І. Ендоскопія у відновленні репродуктивної функції жінок / Іванюта Л. І., Ракша І. І. Дубенко О. Д. // Зб. наук. праць асоціації акушерів-гінекологів України. – К: Інтермед, 2006. – С. 314–318.
3. Запорожан В. М. Роль функціонального генетичного поліморфізму у виникненні синдрому гіперстимуляції яєчників при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій у пацієнток з синдромом полікістозних яєчників / В. М. Запорожан, В. Г. Дубі-

ніна, О. М. Борис // Здоровье женщины. – 2011. – № 1. – С. 228–232.

4. Назаренко Т. А. Синдром поликистозных яичников / Назаренко Т. А. – М., 2005. – С. 100–138.
5. Подзолкова И. М. Симптом. Синдром. Диагноз. Дифференциальная диагностика в гинекологии / И. М. Подзолкова, О. Л. Глазкова. – М: ГЭОТАР-МЕД, 2003 – 448 с.
6. Ройтберг Г. Е. Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов / Г. Е. Ройтберг, А. В. Струтынский. – М.: ЗАО «Издательство БИНОМ», 1999. – 422 с.
7. Уварова Е. В. Проблема гиперпролактинемии и гормональная контрацепция (обзор литературы) / Е. В. Уварова, Н. В. Болдырева // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2006. – № 1. – С. 55–70.
8. Шарафисламова Э. Ф. Полиморфизм генов глутатион-8-трансфераз M1 и P1 у больных эндометриозом из Башкортостана / Э. Ф. Шарафисламова, Т. В. Викторова, Э. К. Хуснутдинова // Медицинская генетика. – 2003. – № 3. – С. 136–140.
9. Alexandrie A.-K., Nyberg F., Warholm M., Rannug A. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent. – 2004. – Vol. 13. – P. 908–914.
10. Clinical and metabolic features of polycystic ovary syndrome / Lin Li, Dongzi Yang, Xiaoli Chen [et al.] // International Journal of Gynecology and Obstetrics. – 2007. – Vol. 97. – P. 129–134.

11. Genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, M1 and P1 and susceptibility to reflux esophagitis / B. Liu, Y. J. Fan, M. L. Wang [et al.] // Dis. Esophagus. – 2006. – Vol. 19 (6). – P. 477–481.

12. Genetic predisposition to preeclampsia: polymorphism of genes involved in regulation of endothelial functions / E. V. Mozgovaia, O. V. Malysheva,

T. E. Ivaschenko [et al.] // Balkan. ed. Genet. – 2003. – Vol. 7. – P. 19–26.

13. Rotterdam ESHRE/ASRM Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and longterm health risks related to polycystic ovary syndrome | / Fertility and Sterility. – 2004. – Vol. 81. – P. 19–25.