

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ, FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE
„GEORGE EMIL PALADE” DIN TÎRGU MUREȘ

ȘCOALA DE STUDII DOCTORALE

TEZĂ DE DOCTORAT

**Rolul genelor legate de stresul oxidativ în infertilitate asociat
endometriozei**

Doctorand **TRAIAN IRIMIA**

Conducător de doctorat **Prof.dr. LUCIAN PUȘCAȘIU**

REZUMAT

INTRODUCERE

Endometrioza este o boală complexă de etiologie controversată, definită prin prezența țesutului de tip endometrial în afara uterului. Impactul socioeconomic general afectează nu doar femeile cu boala, ci și partenerii acestora, fiind similar cu cel al bolilor precum boala Crohn, diabetul și artrita reumatoidă, în principal din cauza infertilității asociate și a afectării calității vieții: muncă, educație, viață socială și intimă.

Cu toate acestea, de la debutul simptomelor și un diagnostic de endometrioza trec în medie între 8 și 12 ani. În prezent, nu există teste diagnostice non-invasive sau biomarkeri precizi pentru endometrioza.

Dovezile sugerează că în prezent nu există markeri biologici care să ajute în mod fiabil la diagnosticarea endometriozei. Prin urmare, autorii ghidului ESHRE din 2022 au concluzionat că "clinicienii nu ar trebui să folosească măsurarea biomarkerilor din țesutul endometrial, sange, lichid menstrual sau uterin pentru a diagnostica endometrioza".

Acest lucru face ca testarea genetică legată de procesul patogenic al endometriozei să fie un domeniu de studiu intrigant.

În cadrul acestei cercetări doctorale, am căutat să determinăm dacă există o relație între infertilitatea legată de endometrioza și patru variante genetice ale enzimelor antioxidante implicate în stresul oxidativ. În acest studiu de tip caz-control, primul de acest fel în rândul femeilor din Europa de Est, am investigat polimorfismul genetic a patru gene și am selectat cele care codifică enzimele antioxidante implicate în stresul oxidativ: glutatión peroxidază 1, GPX1 198Pro>Leu, catalaza CAT-262C > T, glutatión S-transferază M1 și genotipul nul T1.

Am investigat asocierea dintre aceste polimorfisme și infertilitatea legată de endometrioză la 103 de paciente cu infertilitate asociată endometriozei și un grup de control format din 102 de femei postpartum, în încercarea de a evalua performanța unei metode non-invazive, fiabile și accesibile pentru înlocuirea laparoscopiei în diagnosticul endometriozei, cu o sensibilitate și specificitate buna.

MATERIAL SI METODA

Acest studiu a avut ca scop investigarea a patru polimorfisme genetice ale enzimelor antioxidante implicate în stresul oxidativ (glutathion peroxidază Pro198Leu, catalaza C-262T, glutathion peroxidază S-transferază M1 alelă nulă și glutathion peroxidază S-transferază T1 alelă nulă) și asocierea lor cu infertilitatea legată de endometrioză. Am evaluat prospectiv 103 paciente cu infertilitate asociată endometriozei, care au fost supuse intervenției chirurgicale laparoscopice într-un spital academic din România între 2015 și 2019.

Criteriile de includere au fost:

- femei infertile cu vârsta cuprinsă între 24 și 40 de ani,
- IMC între 19 și 27,
- cu confirmare vizuală și microscopică a endometriozei.

Au fost excluse pacientele cu tratamente cronice care ar putea interfera cu fertilitatea și femeile ai căror parteneri nu au fost testați pentru tulburări de fertilitate. Pentru grupul de control, am selectat 102 de femei postpartum fără istoric de boli obstetricale și fără tratament pentru fertilitate înainte de sarcină.

Intervenția chirurgicală laparoscopică a fost efectuată pentru grupul cu endometrioză (n = 103) pentru a confirma diagnosticul și trata leziunile. Leziunile endometriozei au fost tratate prin ablație pentru leziunile peritoneale, chistectomie sau drenajul chistului pentru endometriomul ovarian. Pentru a exclude alte cauze ale infertilității, s-a efectuat perioperator cromopertubația tubară.

Probele de sânge au fost prelevate în zilele 2–4 postoperator. Pentru grupul de control (n = 102), probele de sânge au fost colectate în zilele 2–4 post-partum, după nașterea vaginală sau cezariană, în aceeași perioadă.

Genotiparea polimorfismelor genelor glutathion peroxidază (GPX) Pro198Leu și catalaza (CAT)-262C > T, precum și alelele nule ale genelor glutathion S-transferază (GST) GSTM1 și GSTT1, s-au efectuat folosind ADN genomic (gDNA). ADN-ul genomic al pacientelor cu endometrioza și al grupului de controlului a fost extras din sângele periferic colectat în tuburi cu EDTA, utilizând kitul Genomic DNA Mini (Thermo Fisher Scientific, Norcross, GA, SUA), conform recomandărilor producătorului.

Comitetul de Etică al Universității de Medicină, Farmacie, Știință și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, România, a aprobat studiul (Nr. 6253/4 martie 2022).

REZULTATE

Genotipurile homozigote pentru varianta CAT-262C > T (TT) și genotipul heterozigot (CT) reprezintă factori de risc în dezvoltarea endometriozei (p = 0,013 pentru CT și p = 0,019 pentru TT). Mai mult, am identificat asocieri semnificative între genotipurile variante (CT, TT) ale GPX1 198Pro > Leu și riscul de a dezvolta endometrioză (p = 0,040 pentru CT și p = 0,019 pentru TT).

Genotipul nul al GSTM1 a fost semnificativ mai ridicat în grupul cu endometrioză ($p < 0,0001$). Nu au fost găsite diferențe semnificative în frecvența GSTT1 între cele două grupuri.

Celelalte genotipuri investigate nu au prezentat o asociere între polimorfisme genetice și riscul de a dezvolta endometrioză.

DISCUTII

Ambele grupuri de paciente au fost selectate pentru a avea un număr similar, precum și o distribuție egală a vârstei și fără diagnostice medicale anterioare care ar putea interfera cu infertilitatea asociată endometriozei.

Interesul literaturii s-a schimbat în ultimul deceniu, concentrându-se mai mult pe cercetarea implicării unei predispoziții genetice în dezvoltarea anumitor boli. Studiul nostru sugerează că polimorfismele GPX1 198Pro > Leu și CAT-262C > T sunt ambele asociate cu incidența endometriozei. Puține articole abordează asocierea dintre expresia aberantă a genelor GPX1 și CAT și endometrioză. Autorii sugerează că implicarea polimorfismelor genelor GPX1 și CAT poate cauza endometrioză, dar solicită studii mai extinse pentru a confirma constatările lor.

Conform rezultatelor noastre, CAT-262C > T este un factor de risc pentru dezvoltarea endometriozei. Numărul relativ mic de pacienți este o limitare a acestui studiu, iar rezultatele trebuie interpretate cu prudență.

GST este o familie de enzime antioxidante, împărțită în opt clase. Datorită modificărilor alicie frecvente, GSTT1 și GSTM1 sunt cele mai intens studiate variante. Meta-analiza realizată de Sun-Wei Guo sugerează că doar GSTT1 este asociat cu dezvoltarea endometriozei. Aproximativ zece ani mai târziu, două alte studii de meta-analiză concluzionează că atât genotipurile nule GSTT1, cât și GSTM1 ar putea fi factori de risc pentru endometrioză, dar sugerează că sunt necesare studii suplimentare pentru confirmare. În comparație, constatările noastre indică faptul că doar GSTM1 este corelat cu endometrioza. Aceste două meta-analize au concluzionat, de asemenea, că asocierea ambelor genotipuri nule pentru GSTT1-GSTM1 este legată de endometrioză. Studiul nostru confirmă această teorie, arătând o asociere puternică în acest caz ($p = 0,0004$). Rezultatele noastre indică, de asemenea, că GPX1 198Pro > Leu, CAT-262C > T și genotipul nul GSTM1 pot fi factori de risc. Asocierea dintre genotipul nul GSTM1-GSTT1 poate juca un rol semnificativ în infertilitatea asociată endometriozei. Cu toate acestea, genotipul nul GSTT1 nu influențează boala.

Comparativ cu literatura existentă, această discrepanță în constatările noastre ar putea fi explicată prin diferențele demografice, deoarece etnia și factorii de mediu joacă un rol important în dezvoltarea bolii.

CONCLUZII

Identificarea vizuală a leziunilor endometrioze cu confirmarea microscopică rămâne standardul de aur acceptat pentru diagnosticul endometriozei, dar este necesară anestezia generală și laparoscopia. În acest sens, este nevoie de un set de markeri genetici sau de laborator pentru diagnosticul precoce al acestei boli prevalente, în special în cazul pacientelor tinere cu intenții de sarcină viitoare. Polimorfismul GPX1 198Pro > Leu și CAT-262C > T sunt ambele asociate cu

endometrioza simptomatică, iar CAT-262C > T și GSTM1 sunt factori de risc pentru dezvoltarea bolii.

Studiul nostru sugerează că polimorfismele GPX1 198Pro > Leu și CAT-262C > T sunt ambele asociate cu incidența endometriozei simptomatice. Conform rezultatelor noastre, CAT-262C > T este un factor de risc pentru dezvoltarea endometriozei. Asocierea ambelor genotipuri nule pentru GSTT1-GSTM1 este legată de endometrioză. Studiul nostru confirmă această teorie, deoarece constatările noastre arată o asociere puternică în acest caz ($p = 0,0004$). Rezultatele noastre dezvăluie, de asemenea, că GPX1 198Pro > Leu, CAT-262C > T și genotipul nul GSTM1 pot fi factori de risc. Asocierea dintre genotipul nul GSTM1-GSTT1 poate juca un rol semnificativ în infertilitatea asociată endometriozei