

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ IL-1 β (C511T), IL-17A (G197A), IL-12B (A1188C), TNF α (G308A) И IL-4 (C589T) ПРИ УГРОЗЕ РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ

Татаркова Е.А.¹, Тугуз А.Р.², Цикуниб А.А.³, Шумилов Д.С.¹,
Смольков И.В.⁴, Руденко К.А.⁴, Муженя Д.В.⁴

¹ ГБОУ ДО Республики Адыгея «Республиканская естественно-математическая школа», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

² ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

³ ГБУЗ Республики Адыгея «Майкопская городская клиническая больница», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Резюме. Распространенность угрожающего выкидыша занимает 16-25 % от числа всех беременностей. Симптомокомплекс угрожающего выкидыша в I триместре может быть обусловлен трансформацией базовой воспалительной реакции, нарушающей межсистемные и локальные взаимодействия в эндометрии с последующей плацентарной недостаточностью, внутриутробным страданием плода и спонтанными абортами. Цель работы – исследование ассоциации SNPs (single nucleotide polymorphisms) генов цитокинов IL-1 β (C511T, rs16944), IL-17A (G197A, rs2275913), IL-12B (A1188C, rs3212227), TNF α (G308A, rs1800629) и IL-4 (C589T, rs2243250) с угрозой ранних репродуктивных потерь у жительниц Республики Адыгея (РА). Работа выполнена на базе иммуногенетической лаборатории Научно-исследовательского института комплексных проблем Адыгейского государственного университета. Аллельные варианты генов цитокинов выявлены SNP-методом в 106 образцах геномной ДНК женщин с угрозой прерывания беременности в I триместре (n = 58) и с неосложненной гестацией (n = 48). SNP-типирование полиморфных вариантов генов цитокинов IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α и IL-4 проведено методом ПЦР (полимеразной цепной реакции) с аллель-специфичными праймерами и электрофоретической детекцией результатов на тест-системах НПФ «Литех» (Москва). Статистический анализ экспериментальных данных проведен программой SPSS Statistica 17.0. Соответствие распределений SNP ожидаемым значениям при равновесии Харди–Вайнберга и сравнение частот аллельных вариантов/генотипов проводили с использованием критерия χ^2 (хи-квадрата с поправкой Йейтса), отношения шансов – OR (odds-ratation) при уровне значимости $p < 0,05$ и 95% доверительном интервале (95% CI). Достоверность различий частот изучаемых признаков для малых выборок оценивали с помощью точного критерия Фишера. С риском развития симптомокомплекса угрожающего выкидыша у жительниц Республики Адыгея достоверно ($p < 0,05$) ассоциированы гетеро- (C511T; OR = 3,46; 95% CI: 1,04-11,54) и гомозиготный «мутантный» (T511T; OR = 5,71; 95% CI: 1,12-29,09) генотипы основного провоспалительного IL-1 β . Аллели -511T гена IL-1 β и -1188C гена

Адрес для переписки:

Татаркова Елена Анатольевна
ГБОУ ДО Республики Адыгея «Республиканская
естественно-математическая школа»
385000, Россия, Республика Адыгея, г. Майкоп,
ул. Советская, 180.
Тел.: 8 (8772) 52-72-50.
Факс: 8 (8772) 52-79-82.
E-mail: lab_genetic@mail.ru

Address for correspondence:

Tatarkova Elena A.
Republican Natural-Mathematical School
125171, Russian Federation, Republic of Adygea, Maikop,
Sovetskaya str., 180.
Phone: 7 (8772) 52-72-50.
Fax: 7 (8772) 52-79-82.
E-mail: lab_genetic@mail.ru

Образец цитирования:

Е.А. Татаркова, А.Р. Тугуз, А.А. Цикуниб,
Д.С. Шумилов, И.В. Смольков, К.А. Руденко,
Д.В. Муженя «Полиморфизмы генов IL-1 β (C511T),
IL-17A (G197A), IL-12B (A1188C), TNF α (G308A)
и IL-4 (C589T) при угрозе ранних репродуктивных
потерь» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 6.
С. 1179-1186. doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1179-1186
© Татаркова Е.А. и соавт., 2019

For citation:

E.A. Tatarkova, A.R. Tuguz, A.A. Tsikunib, D.S. Shumilov,
I.V. Smolkov, K.A. Rudenko, D.V. Muzhenya "Gene
polymorphisms of IL-1 β (C511T), IL-17A (G197A), IL-12B
(A1188C), TNF α (G308A) and IL-4 (C589T) associated
with threat of early reproductive losses", Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 6,
pp. 1179-1186. doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1179-1186
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1179-1186

IL-12B повышают риск раннего прерывания беременности, соответственно, в 5,8 (95% CI: 2,42-13,92; $p = 0,00004$) и 2,97 (95% CI: 1,23-7,19; $p = 0,01$) раза. В этнических группах русских ($p = 0,0001$; OR = 14,09) и адыгеек ($p = 0,02$; OR = 8,17) с риском развития симптомокомплекса угрожающего выкидыша ассоциирован «мутантный» -511T аллельный вариант гена IL-1 β , который практически не выявляется у женщин с нормальным течением беременности в первом триместре. Таким образом, из пяти типированных SNPs генов основных медиаторов иммунной системы у жительниц РА в качестве маркерных полиморфизмов гестационного неблагополучия могут быть использованы только C511T (rs16944) гена IL-1 β и A1188C (rs3212227) гена IL-12B.

Ключевые слова: угроза выкидыша, SNPs генов цитокинов, IL-17A (G197A, rs2275913), IL-1 β (C511T, rs16944), IL-4 (C589T, rs2243250), TNF α (G308A, rs1800629), IL-12B (A1188C, rs3212227)

GENE POLYMORPHISMS OF IL-1 β (C511T), IL-17A (G197A), IL-12B (A1188C), TNF α (G308A) AND IL-4 (C589T) ASSOCIATED WITH THREAT OF EARLY REPRODUCTIVE LOSSES

Tatarkova E.A.^a, Tuguz A.R.^b, Tsikunib A.A.^c, Shumilov D.S.^a, Smolkov I.V.^d, Rudenko K.A.^d, Muzhenya D.V.^d

^a Republican Natural-Mathematical School, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

^b Adyghe State University, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

^c Maikop City Clinical Hospital, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

^d Maikop State Technological University, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Abstract. Prevalence of threatened miscarriage is 16-25% of all pregnancies. The symptomatics of the threatened miscarriage in the first trimester may develop due to conversion of initial inflammatory reaction that disturbs the intersystemic and local interactions in the endometrium, followed by placental insufficiency, intrauterine fetal affection and spontaneous abortion. The aim of our work was to study the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of some cytokine genes, e.g., IL-1 β (C511T, rs16944), IL-17A (G197A, rs2275913), IL-12B (A1188C, rs3212227), TNF α (G308A, rs1800629), and IL-4 (C589T, rs2243250) and the risk of early reproductive losses among residents of Adyghe Republic (RA). The work was carried out at the Immunogenetic Laboratory of our Research Institute of Complex Problems. The allelic variants of cytokine genes were detected by SNP-method in 106 samples of genomic DNA in women with the threatened abortion in 1st trimester ($n = 58$) and the uncomplicated gestation ($n = 48$). SNP-typing of polymorphic variants of cytokine genes IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α and IL-4 was carried out by PCR (polymerase chain reaction) with allele-specific primers and electrophoretic detection of results on test systems of (Litech, Moscow). Statistical analysis of experimental data was carried out by SPSS Statistical program 17.0. The correspondence of SNP distributions to expected values at Hardy-Weinberg equilibrium and comparison of allelic variants/genotypes frequencies were performed using the χ^2 criterion (Chi-square with Yates correction), odd ratios (OR) detected at significance level $p < 0.05$ and 95% confidence interval (95% CI). Reliability of the differences for the SNP frequencies for small samples was evaluated using the Fisher's exact criterion. Heterozygous variant (C511T; OR = 3.46; 95% CI: 1.04-11.54) and homozygous "mutant" genotypes (T511T; OR = 5.71; 95% CI: 1.12-29.09) of the main proinflammatory IL-1 β was significantly associated ($p < 0.05$) with the risk of developing threatening miscarriage in the Adyghe residents. The -511T allele of IL-1 β gene, and -1188C variant of IL-12B gene increase the risk of the early termination of pregnancy, respectively, 5.8-fold (95% CI: 2.42-13.92; $p = 0.00004$), and 2.97-fold (95% CI: 1.23-7.19; $p = 0.01$). The "mutant" -511T allelic variant of the IL-1 β gene is associated with the risk of developing a symptom complex of threatening miscarriage in Russian ethnic group ($p = 0.0001$; OR = 14.09), and in Adyghe ethnic group ($p = 0.02$; OR = 8.17), which is almost undetectable in women with normal pregnancy in the first trimester. Thus, only C511T (rs16944) in IL-1 β gene and A1188C (rs3212227) in IL-12B gene of the five typed cytokine genes may be used as marker polymorphisms of gestational distress for the women in Adyghe.

Keywords: threatened miscarriage, SNPs of cytokine genes, IL-17A (G197A, rs2275913), IL-1 β (C511T, rs16944), IL-4 (C589T, rs2243250), TNF α (G308A, rs1800629), IL-12B (A1188C, rs3212227)

Работа выполнена на базе иммуногенетической лаборатории Научно-исследовательского института комплексных проблем Адыгейского государственного университета.

Депопуляционные процессы в России и в мире связаны в основном с проблемой невынашивания беременности. Частота гравидарных потерь, по данным разных авторов, составляет от 2 до 55%, а в первом триместре достигает 75-85%. Распространенность угрожающего выкидыша занимает 16-25% от числа всех беременностей. Симптомокомплекс угрожающего выкидыша в I триместре может быть обусловлен трансформацией базовой воспалительной реакции, нарушающей межсистемные и локальные взаимодействия в эндометрии с последующей плацентарной недостаточностью, внутриутробным страданием плода и спонтанными абортами [3, 5].

При физиологическом течении беременности в фетоплацентарном комплексе сохраняется оптимальный баланс провоспалительных цитокинов, вырабатываемых Т-хелперами I типа (Th1): IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-12, IL-18, участвующих в клеточном иммунном ответе и продуцируемых Т-хелперами II типа (Th2) регуляторных цитокинов: IL-4, IL-5, IL-10, стимулирующих гуморальный иммунитет [10]. В соответствии с концепцией цитокинового сдвига, предложенной ранее Т. Вегманном (1993 г.) и поддерживаемой в настоящее время, иммунное обеспечение беременности сводится к регулируемому балансу Th1/Th2 материнского организма со снижением Th1- и повышением Th2-клеточной реактивности [2, 4, 5, 8, 9]. Полагают, что Th2 ингибируют пролиферацию и цитотоксическую активность НК, стимулирующих продукцию медиаторов Th2-типа по принципу положительных обратных связей [2, 15]. Это может иметь важное значение, так как провоспалительные цитокины, продуцируемые Th1, обладают прямым эмбриотоксическим эффектом, ограничивают инвазию и формирование трофобласта. Избыточные количества провоспалительных цитокинов активируют протромбиназы с нарушением в системе гемостаза, развитием тромбозов, инфарктов, отслойки трофобласта и ранних эмбриональных потерь. Сохранение беременности в этих условиях сопровождается первичной плацентарной недостаточностью [1, 2].

Несмотря на предположение о связи гестационных осложнений с превалированием Th1, в ряде исследований показано, что ранние этапы эмбриогенеза и имплантации при физиологическом течении беременности требуют усиленного Th1-иммунного ответа и формирования провоспалительного микроокружения в системе «мать – плацента – плод», необходимого для стимуляции васкулогенеза и успешной эмбриональной

имплантации. Это подтверждено *in vivo* на экспериментальных линиях мышей (INF γ -/-) [1, 4, 10].

Каждый этап пролонгированной во времени беременности характеризуется про-/противовоспалительным профилем, а более сложные по сравнению с аллотрансплантацией взаимодействия плода и материнского организма определяются медиаторами иммунной системы [4, 6]. Цитокины контролируют этапы имплантации зародыша, пролиферации, роста и созревания плаценты, органогенез плода. Уровни продукции цитокинов регулируются различными механизмами, одним из которых являются полиморфизмы генов, расположенные в промоторных регионах и ассоциированные с оверэкспрессией соответствующих медиаторов воспаления «первой волны». [3]. SNPs генов цитокинов могут определять баланс/дисбаланс про- и противовоспалительных медиаторов, нарушая ранние этапы эмбрионального развития. Связь между аллельными вариантами генов цитокинов и риском нарушения взаимодействий в системе «мать – плацента – плод» обсуждается, однако данные весьма противоречивы и преимущественно акцентированы на привычном невынашивании беременности [4, 7, 9, 11, 14].

Спектр исследованных SNP генов медиаторов воспаления, ассоциированных с ранними репродуктивными осложнениями: IL-1 β (C511T, rs16944), IL-17A (G197A, rs2275913), IL-12B (A1188C, rs3212227), TNF α (G308A, rs1800629) и IL-4 (C589T, rs2243250) определен при анализе международных баз данных (МБД) National Center for Biotechnology Information (NCBI), Springer, ScienceDirect, Science Research Portal, Google Scholar, КиберЛенинка, HuGe Navigator. Полиморфизмы промоторных регионов генов цитокинов, влияющие на уровни их экспрессии, имеют выраженную этническую специфику, однако в информационных системах данные по ассоциации с угрозой выкидыша до 13 недели гестации немногочисленны, а по Республике Адыгея (РА) практически не представлены, что и определило цель настоящего исследования.

Цель работы – исследовать распределение частот аллельных вариантов, генотипов и ассоциацию SNPs генов цитокинов IL-1 β (C511T, rs16944), IL-17A (G197A, rs2275913), IL-12B (A1188C, rs3212227), TNF α (G308A, rs1800629) и IL-4 (C589T, rs2243250) с угрозой ранних репродуктивных потерь у жительниц РА.

В соответствии с принципами Хельсинкской декларации (1964 г., доп. 2013 г.) исследование проведено с письменного информированного согласия 106 неродственных женщин славянской и адыгской национальности репродуктивного возраста, подобранных эмпирически и распределенных по двум группам в зависимости от течения гестации и акушерскому анамнезу. Критерии исключения: женщины с тяжелой соматической

патологией, хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации (заболеваниями печени, почек, эндокринных желез, сердечно-сосудистой системы с нарушением их функций), прервавшимися беременностями в результате хромосомных аномалий и врожденными пороками развития плода.

В первую группу (n = 58) включены пациентки 19-45 лет (28,5±5,7 лет) акушерского отделения № 2 патологии малых сроков беременности ГБУЗ РА «Майкопская городская клиническая боль-

ница» с верифицированным диагнозом угрозы прерывания беременности на момент исследования в срок до 13 недель, с использованием клинических методов исследования и лабораторных показателей. В анамнезе обследованных женщин – ранние репродуктивные потери по типу неразвивающейся беременности или самопроизвольного аборта. Контрольная (вторая группа, n = 48) представлена здоровыми жительницами РА 18-45 лет (28,8±5,1 лет), имеющими одного и более здоровых детей, без отягощенности

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α И IL-4 ПРИ УГРОЗЕ РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ У ЖИТЕЛЬНИЦ РА

TABLE 1. FREQUENCY DISTRIBUTION OF GENOTYPES AND ALLELES OF IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α AND IL-4 GENES WITH THE THREAT OF EARLY REPRODUCTIVE LOSSES IN WOMEN OF ADYGHE REPUBLIC

Полиморфный вариант Polymorphic variant	Генотипы/ Аллели Genotypes/ Alleles	Угроза прерывания беременности Threatened miscarriage	Физиологическая беременность Physiological pregnancy	χ^2	P	OR	95% CI
		n = 31 ¹ ; 58 ² ; 42 ³ ; 31 ⁴ ; 31 ⁵	n = 26 ¹ ; 48 ² ; 42 ³ ; 26 ⁴ ; 26 ⁵				
IL-1 β C511T ¹	C511C	0,226	0,731	14,81	0,0006*	0,11	0,03-0,36
	C511T	0,452	0,192			3,46	1,04-11,54
	T511T	0,323	0,077			5,71	1,12-29,09
	C511	0,452	0,827	16,96	0,00004*	0,17	0,07-0,41
	511T	0,548	0,173			5,80	2,42-13,92
IL-17A G197A ²	G197G	0,414	0,458	0,57	0,75	0,83	0,39-1,80
	G197A	0,362	0,375			0,95	0,43-2,09
	A197A	0,224	0,167			1,44	0,54-3,84
	G197	0,595	0,646	0,58	0,45	0,81	0,46-1,41
	197A	0,405e	0,354			1,24	0,71-2,17
IL-12B A1188C ³	A1188A	0,643	0,857	5,14	0,08	0,30	0,10-0,87
	A1188C	0,238	0,095			2,97	0,85-10,38
	C1188C	0,119	0,048			2,70	0,49-14,79
	A1188	0,762	0,905	6,17	0,01*	0,34	0,14-0,82
	1188C	0,238	0,095			2,97	1,23-7,19
TNF α G308A ⁴	G308G	0,419	0,423	2,84	0,24	0,98	0,34-2,83
	G308A	0,548	0,423			1,66	0,58-4,74
	A308A	0,032	0,154			0,18	0,02-1,76
	G308	0,694	0,635	0,44	0,51	1,30	0,60-2,85
	308A	0,306	0,365			0,77	0,35-1,68
IL-4 C589T ⁵	C589C	0,581	0,654	1,03	0,6	0,73	0,25-2,15
	C589T	0,387	0,346			1,19	0,40-3,53
	T589T	0,032	0,000			2,61	0,10-66,74
	C589	0,774	0,827	0,49	0,48	0,72	0,28-1,82
	589T	0,226	0,173			1,39	0,55-3,54

Примечание. * – достоверность различий при p ≤ 0,05; $\chi^2 > 3,6$.

Note. *, reliability of differences at p ≤ 0.05; $\chi^2 > 3.6$.

по исследуемой нозологии, с отсутствием в анамнезе медицинских аборт, внематочной беременности и маточных анатомических аномалий.

Материалы и методы

Образцы ДНК обследованных групп женщин выделены с использованием тест-систем «Проба ГС-Генетика» (ООО «ДНК-Технология», Москва) согласно инструкции производителя и последующим определением чистоты образцов и концентрации ДНК на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США). Для SNP-типирования полиморфных вариантов генов цитокинов IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α и IL-4 использован метод ПЦР с аллель-специфичными праймерами и электрофоретической детекцией результатов на тест-системах НПФ «Литех» (Москва). Сравнительная статистическая обработка экспериментальных данных проведена в программе SPSS Statistica 17.0. Соответствие распределений SNP ожидаемым значениям при равновесии Харди–Вайнберга и сравнение частот аллельных вариантов/генотипов проводили с использованием критерия χ^2 (хи-квадрата и поправкой Йейтса), отношения шансов – OR (odds-ratio) при уровне значимости $p < 0,05$ и 95% доверительном интервале (95% CI). Достоверность различий частот изучаемых признаков для малых выборок оценивали с помощью точного критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

Аллельные варианты генов цитокинов могут обуславливать оверэкспрессию провоспалительных цитокинов и дисбаланс медиаторов иммунной системы, что определяет генетическую предрасположенность к нарушению фетоплацентарных взаимодействий и ранним репродуктивным потерям [1, 4]. Восприимчивость к некоторым инфекционным, воспалительным и аутоиммунным заболеваниям у беременных женщин повышает риск гестационных осложнений и во многом зависит от SNP в промоторах регионах генов, влияющих на связывание факторов транскрипции и гиперпродукцию соответствующих медиаторов [10, 14, 15]. Исследование ассоциации полиморфизмов генов с уровнями продукции цитокинов является актуальным направлением в обосновании роли воспалительного компонента в процессах развития беременности и иммунного ответа материнского организма на развивающийся плод [4, 6].

Поэтому, в соответствии с поставленной целью, в образцах геномной ДНК беременных жительниц Республики Адыгея проанализировано распределение частот генотипов и аллелей генов основных цитокинов IL-1 β (C511T, rs16944), IL-17A (G197A, rs2275913), IL-12B (A1188C, rs3212227), TNF α (G308A, rs1800629) и IL-4 (C589T, rs2243250) (табл. 1).

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ SNPs ГЕНОВ IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α И IL-4 ПРИ УГРОЗЕ РАННЕГО ВЫКИДЫША В ГРУППЕ РУССКИХ ЖИТЕЛЬНИЦ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ

TABLE 2. DISTRIBUTION OF SNPs OF THE GENES IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α AND IL-4 WITH THE THREAT OF EARLY MISCARRIAGE IN THE GROUP OF THE RUSSIAN WOMEN OF ADYGHE REPUBLIC

Полиморфный вариант Polymorphic variant	Аллели Alleles	Угроза прерывания беременности Threatened miscarriage	Физиологическая беременность Physiological pregnancy	P	OR	95% CI
		n = 25 ¹ ; 35 ² ; 24 ³ ; 25 ⁴ ; 25 ⁵	n = 13 ¹ ; 29 ² ; 23 ³ ; 13 ⁴ ; 13 ⁵			
IL-1 β C511T ¹	C511	0,460	0,923	0,00005*	0,07	0,02-0,33
	511T	0,540	0,077		14,09	3,00-66,11
IL-17A G197A ²	G197	0,686	0,638	0,58	1,24	0,59-2,58
	197A	0,314	0,362		0,81	0,39-1,69
IL-12B A1188C ³	A1188	0,792	0,935	0,07	0,27	0,07-1,04
	1188C	0,208	0,065		3,77	0,97-14,73
TNF α G308A ⁴	G308	0,660	0,731	0,61	0,72	0,25-2,03
	308A	0,340	0,269		1,40	0,49-3,98
IL-4 C589T ⁵	C589	0,760	0,731	1,0	1,17	0,40-3,44
	589T	0,240	0,269		0,86	0,29-2,53

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α И IL-4 ПРИ УГРОЗЕ ВЫКИДЫША НА РАННИХ СРОКАХ В ГРУППЕ ЖЕНЩИН-АДЫГЕЕК

TABLE 3. FREQUENCY OF GENOTYPES AND ALLELES OF THE GENES IL-1 β , IL-17A, IL-12B, TNF α AND IL-4 WITH THE THREAT OF MISCARRIAGE AT EARLY TERMS IN THE GROUP OF THE ADYGHE WOMEN

Полиморфный вариант Polymorphic variant	Аллели Alleles	Угроза прерывания беременности Threatened miscarriage	Физиологическая беременность Physiological pregnancy	P	OR	95% CI
		n = 6 ¹ ; 18 ² ; 15 ³ ; 6 ⁴ ; 25 ⁵	n = 9 ¹ ; 14 ² ; 13 ³ ; 9 ⁴ ; 13 ⁵			
IL-1 β C511T ¹	C511	0,300	0,778	0,02*	0,12	0,02-0,70
	511T	0,700	0,222		8,17	1,42-47,02
IL-17A G197A ²	G197	0,556	0,679	0,44	0,59	0,21-1,66
	197A	0,444	0,321		1,69	0,60-4,73
IL-12B A1188C ³	A1188	0,667	0,885	0,07	0,26	0,06-1,08
	1188C	0,333	0,115		3,83	0,92-15,90
TNF α G308A ⁴	G308	0,900	0,556	0,1	7,20	0,75-69,38
	308A	0,100	0,444		0,14	0,01-1,34
IL-4 C589T ⁵	C589	0,900	0,944	1,0	0,53	0,03-9,50
	589T	0,100	0,056		1,89	0,11-33,89

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

У жительниц Республики Адыгея из пяти исследованных SNP генов цитокинов с угрозой раннего прерывания беременности ассоциированы «мутантный» -511T аллель ($\chi^2 = 16,96$; OR = 5,8; p = 0,00004), гетерозиготный C511T и гомозиготный T511T генотипы гена медиатора острого воспаления IL-1 β , повышающие риск самопроизвольного аборта, соответственно, в 3,5 и 5,7 раза ($\chi^2 = 14,81$; p = 0,0006) в первом триместре, а также -1188C аллельный вариант гена регуляторного IL-12B ($\chi^2 = 6,17$; OR = 2,97; p = 0,01) (табл. 1). Следует отметить, что в масштабных метаанализах получены весьма противоречивые данные об ассоциации C511T полиморфизма гена IL-1 β с патологией беременности. Так, при генотипировании 775 женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) и 805 здоровых жительниц (Китай) показано, что гомозиготный C511C генотип гена IL-1 β достоверно повышает риск рецидива выкидыша (OR = 1,377; 95% CI: 1,039-1,824; p = 0,026) [10]. В исследовании (n = 9401), проведенном Zhang M. и соавт. в 2017 году, также подтверждена роль IL-1 β (C511T) в развитии привычного невынашивания беременности [15]. Тем не менее в метаанализах Vombell S. и соавт. (2008 г.) и Ma X. (2012 г.) не выявлено достоверной ассоциации C511/511T аллельных вариантов гена IL-1 β с рецидивирующими выкидышами [7, 11]. Одной из причин противоречивых данных, полученных для жителей Китая, может быть сравнение разных этнических групп,

проживающих в географически удаленных провинциях, проведение исследования без учета связи IL-1 β с другими медиаторами. Например, IL-1 β в сочетании с повышенным децидуальным уровнем IL-12 направляет дифференцировку Th0 по Th1-типу, что может сказываться на течении гестации и способствовать раннему прерыванию беременности [14].

Перспективно типирование SNP в гене IL-12B, так как он является ключевым медиатором развития Th1, влияет на иммунные клеточные реакции, регулируя активность макрофагов и цитотоксичность НК при формировании сосудистой системы матки. Несмотря на отсутствие достоверной информации в МБД (NCBI, Springer, ScienceDirect, Science Research Portal, Google Scholar, КиберЛенинка, HuGe Navigator) о связи A1188C (rs3212227) полиморфизма гена IL-12B с угрозой прерывания беременности на ранних сроках, в общей группе обследованных женщин РА установлена строгая ассоциация (OR = 2,97; 95% CI: 1,23-7,19; p = 0,01) A1188C полиморфного варианта гена IL-12B с ранними репродуктивными потерями (табл. 1-3). Следует отметить, что в зарубежных и отечественных работах аналогичные заключения о роли A1188C гена IL-12B в самопроизвольном прерывании беременности не представлены, а для жителей Китая и Хорватии показано отсутствие связи rs3212227 SNP с тяжелыми гестационными осложнениями (не-

вынашиванием беременности, преэклампсией и т.д.) [13].

Исследования генетического компонента популяции позволяют определить иммуногенетический профиль и установить специфические особенности представителей разных этнических групп, так как по многим полиморфным сайтам генов цитокинов выявлены межпопуляционные различия [6, 15]. Результаты анализа частотного распределения аллельных вариантов генов в группах русских женщин и этнических адыгеек представлены в таблицах 2, 3.

У этнических русских женщин и женщин адыгеек с риском развития симптомокомплекса угрожающего выкидыша ассоциирован «мутантный» *-511T* аллель гена *IL-1β* (соответственно, $OR = 14,09$; $p = 0,00005$ и $OR = 8,17$; $p = 0,02$), который чаще выявляется среди данного контингента и практически не обнаруживается у женщин с нормальным течением беременности. По *A1188/1188C* полиморфизмам гена *IL-12B* различия между группами русских женщин с нормальным течением гестации и угрозой раннего выкидыша приближаются к статистически значимым ($p = 0,07$). Для остальных генов-кандидатов (*IL-17A*, *TNFα*, *IL-4*) ассоциация не установлена (табл. 2).

Результаты экспериментальных исследований (табл. 1-3) подтверждают выводы Kim J.O. и соавт. (2014 г.) о повышении частоты «мутантного» для азиатской популяции аллельного варианта *-511C* гена *IL-1β* у женщин с привычным невынашиванием беременности ($p \leq 0,05$), независимо от их этнической принадлежности. Это обусловлено тем, что *C511T* (*rs16944*) полиморфизм, расположенный в промоторном регионе гена *IL-1β*, сопряжен с оверэкспрессией медиатора и повышением пула НК-клеток в популяции лимфоцитов [15] и, возможно, вовлечен в патогенез самопроизвольного прерывания беременности. Механизм прямого повреждающего эффекта *IL-1β* малоизучен, однако возможно опосредованное участие *IL-1β* в развитии клеточного ответа с экспрессией генов около 100 цитокинов,

гормонов, ферментов, ростовых факторов, других биологически активных веществ и их рецепторов [3, 4, 14, 15].

Медиатор острого и хронического воспаления *IL-17A*, синтезируемый в основном *Th17*, накапливается в периферической крови, децидуальной оболочке плода, запускает патофизиологические процессы привычного невынашивания беременности, что показано для египтянок. *G197A* (*rs2275913*) полиморфизм у них ассоциирован с повышенным уровнем сывороточного уровня *IL-17A* и, соответственно, с риском ПНБ [8, 12, 15]. Тем не менее при привычном невынашивании беременности в иранской популяции *G197A* полиморфизм гена *IL-17* неинформативен [12]. Полиморфизмы гена ключевого медиатора иммунного воспаления фактора некроза опухоли-альфа ассоциированы с рецидивирующими выкидышами у жительниц Северной Индии (*-308A* аллель и гомозиготный «мутантный» генотип *A308A* гена *TNFα*; $p < 0,05$) и служат маркером предрасположенности к спонтанным абортam у женщин Ростовской области, но не информативны при неразвивающейся беременности [4].

В серии работ на больших выборках иранских и китайских женщин не подтверждена связь *-308A* аллеля *TNFα* с рецидивирующей потерей беременности. Отсутствие строгой ассоциации точечных мутаций *G308A* (*rs1800629*) гена *TNFα* и *C589T* (или *C590T*; *rs2243250*) гена *IL-4* с самопроизвольным прерыванием беременности подтверждено зарубежными учеными [7, 9, 10] и настоящим экспериментальным исследованием (табл. 1-3), проведенным на базе иммуногенетической лаборатории НИИ комплексных проблем АГУ.

Таким образом, у жительниц РА из типированных SNP генов основных медиаторов иммунной системы только *C511T* гена *IL-1β* и *A1188C* гена *IL-12B* могут быть использованы в качестве маркерных полиморфизмов гестационного неблагоприятия.

Список литературы / References

1. Газиева И.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И. Роль нарушений продукции цитокинов в генезе плацентарной недостаточности и ранних репродуктивных потерь // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 6. С. 539-550. [Gazieva I.A., Chistyakova G.N., Remizova I.I. The role of cytokine production disorders in the genesis of placental insufficiency and early reproductive losses. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 6, pp. 539-550. (In Russ.)] doi.org/10.15789/1563-0625-2014-6-539-550.
2. Лаптина Т.А. Иммуногенетика и репродукция человека. Ростов н/Д, 2013. 79 с. [Laptina T.A. Immunogenetics and human reproduction]. Rostov-on-Don, 2013. 79 p.
3. Лигидова А.Т., Друккер Н.А., Крымшокалова З.С. Роль нарушенной продукции цитокинов в патогенезе угрозы прерывания беременности в I триместре // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки, 2011. № 4. С. 212-215. [Ligidova A.T., Drukker N.A., Krymshokalova Z.S. The role of impaired cytokine production in the pathogenesis of threatened abortion in the first trimester. *Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskiy region. Estestvennye nauki = News of Universities. North Caucasus Region. Natural Sciences*, 2011, no. 4, pp. 212-215. (In Russ.)]
4. Машкина Е.В., Коваленко К.А., Фомина Н.В., Шкурат Т.П. Исследование ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с ранними эмбриональными потерями // Экологическая генетика человека,

2014, Т. 12, № 1. С. 19-27. [Mashkina E.V., Kovalenko K.A., Fomina N.V., Shkurat T.P. Study on the association of polymorphic variants of cytokine genes with early embryonic losses. *Ekologicheskaya genetika cheloveka = Ecological Human Genetics*, 2014, Vol. 12, no. 1, pp. 19-27. (In Russ.)]

5. Сахаутдинова И.В., Ложкина Л.Р. Иммуномодулирующая роль прогестерона в терапии угрозы прерывания беременности // Медицинский вестник Башкортостана, 2014. Т. 9, № 4. С. 96-99. [Sakhautdinova I.V., Lozhkina L.R. Immunomodulatory role of progesterone in the treatment of threatened abortion. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan*, 2014, Vol. 9, no. 4, pp. 96-99. (In Russ.)]

6. Сташкевич Д.С. Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения. Челябинск: Цицеро, 2016. 82 с. [Stashkevich D.S. Topical issues of immunology: cytokine system, biological significance, genetic polymorphism, methods of determination]. Chelyabinsk: Cicero, 2016. 82 p.

7. Bombell S., McGuire W. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis. *Aust NZJ Obstet. Gynaecol.*, 2008, Vol. 48, pp. 147-154.

8. Cai Y., Li M.-J. Interleukin 23 regulates the functions of human decidual immune cells during early pregnancy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2016, Vol. 469, no. 3, pp. 340-344.

9. Kamali-Sarvestani E., Zolghadri J., Ghareh-Fard B., Sarvari J. Cytokine gene polymorphisms and susceptibility to recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J. Reprod. Immunol.*, 2005, Vol. 65, no. 2, pp. 171-178.

10. Ma J., Zhang X., He G., Yang Ch. Association between TNF, IL1B, IL6, IL10 and IFNG polymorphisms and recurrent miscarriage: a case control study. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2017, Vol. 15, no. 1, p. 83.

11. Ma X., Xu L.J., Wang J., Xian M.M., Liu M. Association of IL-1 β and IL-6 gene polymorphisms with recurrent spontaneous abortion in a Chinese Han population. *Int. J. Immunogenet.*, 2012, Vol. 39, no. 1, pp. 15-19.

12. Najafi S., Hadinedoushan H., Eslami G., Aflatoonian A. Association of IL-17A and IL-17 F gene polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2014, Vol. 31, no. 11, pp. 1491-1496.

13. Wang X., Guo M., Li S., Gong J., Song W., Wang H., Liu S. The role of the IL-12 polymorphism rs3212227 in preclampsia in Chinese Han Women. *Clin. Exp. Hypertens.*, 2016, Vol. 38, no. 4, pp. 388-392.

14. Wang Z.C., Yunis E.J., de los Santos M.J., Xiao L., Anderson D.J., Hill J.A. T helper 1-type immunity to trophoblast antigens in women with a history of recurrent pregnancy loss is associated with polymorphism of the IL1B promoter region. *Genes Immun.*, 2002, Vol. 3, pp. 38-42.

15. Zhang M., Xu J., Bao X., Niu W., Wang L., Du L., Zhang N., Sun Y. Association between genetic polymorphisms in interleukin genes and recurrent pregnancy loss – a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 2017, Vol. 12, no. 1, e0169891. doi: 10.1371/journal.pone.0169891.

Авторы:

Татаркова Е.А. – преподаватель ГБОУ ДО Республики Адыгея «Республиканская естественно-математическая школа», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Тугуз А.Р. – д.б.н., профессор, заведующая иммуногенетической лабораторией Научно-исследовательского института комплексных проблем ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Цикуниб А.А. – врач акушер-гинеколог, заведующая акушерским отделением патологии беременности № 2 (малых сроков) ГБУЗ Республики Адыгея «Майкопская городская клиническая больница», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Шумилов Д.С. – к.б.н., преподаватель ГБОУ ДО Республики Адыгея «Республиканская естественно-математическая школа», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Смольков И.В. – к.б.н., старший преподаватель ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Руденко К.А. – к.б.н., доцент ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Муженя Д.В. – к.б.н., доцент ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия

Authors:

Tatarkova E.A., Lecturer, Republican Natural-Mathematical School, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Tuguz A.R., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Immunogenetic Laboratory, Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Tsikunib A.A., Clinical Obstetrician/Gynecologist, Head, Department of Pathology in Pregnancy No. 2 (small terms), Maikop City Clinical Hospital, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Shumilov D.S., PhD (Biology), Lecturer, Republican Natural-Mathematical School, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Smolkov I.V., PhD (Biology), Senior Lecturer, Maikop State Technological University, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Rudenko K.A., PhD (Biology), Associate Professor, Maikop State Technological University, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Muzhenya D.V., PhD (Biology), Associate Professor, Maikop State Technological University, Maikop, Adyghe Republic, Russian Federation

Поступила 12.05.2019
Принята к печати 24.05.2019

Received 12.05.2019
Accepted 24.05.2019