

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Гордеева Л.А.¹, Оскорбина О.С.¹, Воронина Е.Н.², Соколова Е.А.²,
Шаталина И.В.¹, Оленникова Р.В.³, Нерсесян С.Л.³,
Филипенко М.Л.², Глушков А.Н.¹

¹ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН),
г. Кемерово, Россия

² ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск,
Россия

³ ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», медико-генетическая консультация, г. Кемерово,
Россия

Резюме. Изучали ассоциации полиморфизма генов цитокинов *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR, интрон 2), *IL4* (VNTR, интрон 3), *TNFA* (rs1800629, rs361525), *IL6* (rs1800795) и *IL10* (rs1800896) с НБ у женщин. Были обследованы 112 образцов ДНК женщин с невынашиванием беременности (НБ) и 267 образцов ДНК женщин с физиологической беременностью. Типирование полиморфизма генов *IL1RN* (VNTR, интрон 2), *IL4* (VNTR, интрон 3) проводили с помощью полимеразно-цепной реакции (ПЦР), генов *IL1B* (rs1143634) и *IL6* (rs1800795) – с помощью полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, а генов *TNFA* (rs1800629, rs361525) и *IL10* (rs1800896) – с помощью TaqMan ПЦР в режиме реального времени. Как показало исследование ассоциации полиморфизма генов *IL1B*, *IL1RN*, *IL10* и *TNFA* у женщин с НБ, а также с ранних самопроизвольных выкидышей отсутствовали. Обнаружены ассоциации аллеля 2R гена *IL4* с НБ у женщин (OR = 1,52, 95%CI = [1,08-2,14]; P-value (cor) = 0,05) и аллеля G гена *IL6* с тремя и более самопроизвольными выкидышами (OR = 2,10, 95%CI = [1,24-3,56]; P-value (cor) = 0,05), согласно аддитивной модели наследования признака. Оценивая полученные данные, можно заключить, что полиморфизм генов *IL4* (VNTR интрон 3) и *IL6* (rs1800795) у женщин оказывает влияние на развитие раннего самопроизвольного прерывания беременности. Полученные результаты могут быть полезными в понимании молекулярных механизмов раннего самопроизвольного выкидыша.

Ключевые слова: цитокины, генетический полиморфизм, невынашивание беременности, ранний самопроизвольный выкидыш

Адрес для переписки:

Гордеева Людмила Александровна
Федеральный исследовательский центр угля и углехимии
СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел./факс: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: gorsib@rambler.ru, ihe@kemtel.ru

Address for correspondence:

Gordeeva Ludmila A.
Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Institute
of Human Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of
Sciences)
650065, Russian Federation, Kemerovo, Leningradsky pr., 10.
Phone/Fax: 7 (3842) 57-50-79.
E-mail: gorsib@rambler.ru, ihe@kemtel.ru

Образец цитирования:

Л.А. Гордеева, О.С. Оскорбина, Е.Н. Воронина,
Е.А. Соколова, И.В. Шаталина, Р.В. Оленникова,
С.Л. Нерсесян, М.Л. Филипенко, А.Н. Глушков «Ассоциации
полиморфизма генов цитокинов с невынашиванием
беременности» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19,
№ 5. С. 585-596.

doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-585-596

© Гордеева Л.А. и соавт., 2017

For citation:

L.A. Gordeeva, O.S. Oskorbina, E.N. Voronina,
E.A. Sokolova, I.V. Shatalina, R.V. Olennikova,
S.L. Nersesyan, M.L. Filipenko, A.N. Glushkov "Association
between cytokine gene polymorphisms and recurrent
miscarriage", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 585-596.

doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-585-596

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-585-596

ASSOCIATION BETWEEN CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS AND RECURRENT MISCARRIAGE

Gordeeva L.A.^a, Oskorbina O.S.^a, Voronina E.N.^b, Sokolova E.A.^b, Shatalina I.V.^a, Olennikova R.V.^c, Nersesyan S.L.^c, Filipenko M.L.^b, Glushkov A.N.^a

^a Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Institute of Human Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences), Kemerovo, Russian Federation

^b Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

^c Kemerovo Regional Clinical Hospital, Genetic Consulting Center, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Associations between *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR, intron 2), *IL4* (VNTR, intron 3), *TNFA* (rs1800629, rs361525), *IL6* (rs1800795), and *IL10* (rs1800896) genetic polymorphisms in women with recurrent miscarriage (RM) were analyzed. We studied DNA samples of 112 women with RM and 267 women with physiological pregnancy. The *IL1RN*, *IL4* genotypes were identified by PCR techniques, the *IL1B*, *IL6* gene polymorphisms were defined by means of RFLP approach. To detect *TNFA* and *IL10* gene polymorphisms, TaqMan real-time PCR was used. The results have shown that polymorphic loci of *IL1B*, *IL1RN*, *IL10*, *TNFA* genes were not associated with RM, and early spontaneous abortion risk. The 2R allele of *IL4* gene was found to be associated with higher RM risk (OR = 1.52; 95% CI = [1.08-2.14]; P-value (cor) = 0.05), and G allele of *IL6* gene was associated with a risk for > 3 early spontaneous abortions (OR = 2.10; 95% CI = [1.24-3.56]; P-value (cor) = 0.05), in an additive inheritance model. Upon evaluation of the data obtained, one may conclude that the *IL4* (VNTR intron 3) and *IL6* (rs1800795) gene polymorphisms could influence the RM development. These results may be useful for assessment of molecular mechanisms underlying early spontaneous abortion.

Keywords: cytokines, genetic polymorphisms, recurrent miscarriage, early spontaneous abortion

Введение

Несмотря на постоянное усовершенствование медицинских технологий в акушерско-гинекологической практике, они не снижают актуальности проблемы невынашивания беременности (НБ) у женщин. Частота НБ в популяции составляет 2-5% от числа беременностей, а частота самопроизвольного выкидыша в структуре НБ – 15-20% [9].

Причины НБ у женщин достаточно хорошо известны, при этом особое значение отводится иммунологическим нарушениям. При физиологической беременности комплекс иммунных механизмов отвечает за создание благоприятного иммунологического фона для имплантации зародыша, роста и созревания плаценты, а также органогенеза плода [11]. В связи с чем беременность рассматривается как физиологически обусловленное состояние толерантности иммунной системы матери к полуаллогенному плоду [5]. Поэтому любые неудачи беременности, прежде всего, могут быть связаны с отклонением иммунной толерантности матери за счет изменения продукции фетотрофических цитокинов.

Цитокины являются продуктами иммунокомпетентных клеток, в то же время эти клетки сами служат мишенями для цитокинов [12]. Цитокины функционируют в качестве посредников межклеточных и межсистемных взаимодействий, участвуют в формировании и регуляции защитных реакций организма, которые на местном уровне запускают развитие воспаления. При несостоятельности местных защитных реакций цитокины способны запускать системное воспаление, что приводит к развитию острофазового ответа на уровне организма [10]. В норме при беременности соблюдается оптимальный баланс провоспалительных (вырабатываемых Th1-клетками) и противовоспалительных (вырабатываемых Th2-клетками) цитокинов в фетоплацентарном комплексе [11].

Полиморфизм в генах цитокинов оказывает влияние на скорость транскрипции, стабильность или качество мРНК, а также функциональную активность белковых продуктов их экспрессии и имеет выраженную этническую специфику [10]. Ассоциации полиморфизма в генах цитокинов с НБ у женщин неоднократно изучались. Однако результаты исследований в разных популяциях не всегда однозначны. По-

этому целью данной работы явилось изучение ассоциаций полиморфизма генов цитокинов *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR, интрон 2), *IL4* (VNTR, интрон3), *TNFA* (rs1800629, rs361525), *IL6* (rs1800795) и *IL10* (rs1800896) с НБ у женщин.

Материалы и методы

Выборки

Исследованы образцы ДНК 379 женщин репродуктивного возраста, живущих в Кемеровской области и принадлежащих к русской этнической группе.

Исследуемую группу (НБ) составили 112 образцов ДНК женщин, обратившихся в Медико-генетическую консультацию г. Кемерово в связи с невынашиванием беременности после очередного самопроизвольного выкидыша. На момент обследования женщины не были беременны. У 88 (78,6%) самопроизвольные выкидыши наступали до 12 недель беременности, а у 24 (21,4%) – как до, так и после 12 недель беременности.

Критериями включения в настоящее исследование для женщин с НБ были: а) отсутствие в анамнезе женщин медицинских аборт, родов и внематочных беременностей; б) наличие 2 и более выкидышей; в) отсутствие врожденных аномалий развития матки; г) отсутствие хромосомных аномалий в кариотипе супругов; д) отсутствие репродуктивных проблем у супруга.

90 женщин этой группы имели осложненный акушерско-гинекологический анамнез: отслойка плаценты (40,0%), клинические признаки угрозы прерывания беременности (20,0%), хронический эндометрит (18,9%), фетоплацентарную недостаточность (10,0%), хроническое воспаление придатков матки (7,8%), задержка развития плода (2,2%), эрозию шейки матки (1,1%). На момент обследования 56 женщин имели сопутствующую хроническую патологию: гипофункция щитовидной железы – 12,5%; хронические заболевания ЖКТ (гастрит, холецистит, панкреатит) – 23,2%; вегето-сосудистую дистонию – 9,0%; органов верхних дыхательных путей (ринит, гайморит, тонзиллит) – 9,0%; заболеваний почек (пиелонефрит, мочекаменная болезнь) – 9,0%; избыточную массу тела – 7,1%; сочетание 2-3 хронических заболеваний – 30,2%. Диагностические тесты (ИФА и ПЦР) показали, что 29 (25,9%) женщин были носителями половых вирусных инфекций (цитомегаловирусной и/или герпетической), 12 (10,7%) женщин – носителями инфекции смешанного генеза (бактерии + вирусы), 7 (6,3%) женщин имели бактериальный вагиноз. 64 женщины (57,1%) не были носителями инфекций, передаваемых половым путем. Средний возраст женщин в группе был $30,0 \pm 4,7$ (SD) лет.

Группу сравнения (контроль) составили образцы ДНК 267 женщин, у которых во время настоящей и предыдущих беременностей отсутствовали спонтанные выкидыши, врожденные аномалии развития у плода (ребенка) и осложнения беременности. 186 женщин (69,7%) имели физиологическую беременность, 81 женщина (31,3%) – роженица условно «здорового» ребенка. На момент обследования 49 женщин имели сопутствующую хроническую патологию, которая включала заболевания ЖКТ (16,3%), почек (16,3%), верхних дыхательных путей (14,3%), вегето-сосудистую дистонию (4,2%) и сочетание 2-3 хронических заболеваний (48,9%). По данным диагностических тестов (ИФА и ПЦР) 14 (5,2%) женщины являлись носительницами половых вирусных инфекций, 5 (1,9%) – половых инфекций смешанного генеза, 12 (4,5%) женщин имели бактериальный вагиноз. Средний возраст женщин в группе был $28,9 \pm 4,3$ (SD) лет.

Все женщины дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проводилось с соблюдением условий добровольности и конфиденциальности.

Генотипирование

Образцы ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови с помощью метода фенол-хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом, образцы ДНК хранили при -20°C .

В работе исследовали содержащиеся одонуклеотидные замены (SNP) варианты генов: *IL1B* +3953C > T (rs1143634), *TNFA* -308G > A (rs1800629), *TNFA* -238G > A (rs361525), *IL6* -174G > C (rs1800795), *IL10* -1082G > A (rs1800896), и минисателлитные маркеры, характеризующиеся различным числом tandemных повторов (VNTR), во 2 интроне гена *IL1RN* и в 3 интроне гена *IL4*.

Типирование полиморфных локусов *TNFA* (rs361525) и *IL10* (rs1800896) проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (RealTime) с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Каждый образец амплифицировался с использованием пары специфических праймеров и двух зондов (табл. 1), несущих «гаситель» на 3'-конце и флуоресцентных красителей (FAM и R6G) на 5'-конце.

Детальное описание типирования полиморфизма генов *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR интрона 2), *IL6* (rs1800795) и *IL4* (VNTR интрона 3) и *TNFA* (rs1800629) представлено в работе [3]. VNTR аллели гена *IL1RN* обозначали следующим образом: аллель *IL1RN**1 содержал четыре tandemных повтора по 86 н.п.; аллель *IL1RN**2 – два

ТАБЛИЦА 1. ПРАЙМЕРЫ И ЗОНДЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНАХ *TNFA* (rs361525) И *IL10* (rs1800896)

TABLE 1. SELECTED PRIMERS AND PROBES FOR DETERMINATION OF NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *TNFA* (rs361525) AND *IL10* (rs1800896) GENE POLYMORPHISMS

Полиморфизм Polymorphism	Праймеры Primers	Последовательность праймеров Primer sequences	Последовательность зондов Probe sequences
<i>TNFA</i> (rs361525)	Прямой Direct	5'-GTCCTACACACAAATCAGTCAGT-3'	5'-Fam-TCCTCCCTGCTCtGATTC-BHQ-3'
	Обратный Reverse	5'-TTGGGGACACACAAGCATCA-3'	5'-R6G-TCCTCCCTGCTCcGATTC-BHQ-3'
<i>IL10</i> (rs1800896)	Прямой Direct	5'-CACAAATCCAAGACAACACTACT -3'	5'-R6G-CTTCCCCcTCCCAAAGAAGC-BHQ-3'
	Обратный Reverse	5'-GATAGGAGGTCCTTACTTTCC -3'	5'-FAM-CTTCCCCtTCCCAAAGAAGC-BHQ-3'

тандемных повтора; аллель *IL1RN**3 – пять тандемных повторов; аллель *IL1RN**4 – три тандемных повтора. VNTR аллели гена *IL4* обозначали как: 2R – два тандемных повтора по 70 н.п., 3R – три тандемных повтора.

Статистическая обработка данных

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica for Windows v. 8.0, ("StatSoft, Inc.") и GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project (www.r-project.org). Соответствие частот генотипов изучаемых генов цитокинов равновесию Харди–Вайнберга (HWE) оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. В этом случае и при использовании других критериев нулевую гипотезу отвергали при $P\text{-value} \leq 0,05$. Силу ассоциации генотипов с НБ – отношение шансов (odds ratio, OR) и его доверительный интервал (95% CI) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа (функция «glm» программы R). В качестве базовой модели исследовали аддитивную модель наследования признака, при которой гомозигота по аллелю риска была закодирована как «2», гетерозигота – «1», а гомозигота по референсному аллелю – «0». Ко всем экспериментально установленным значениям $P\text{-value}$ была применена поправка Бонферрони с целью исключения статистических ошибок при множественных сравнениях. Отличия между группами считали статистически значимыми, если экспериментально установленные значения $P\text{-value}$ были меньше уровня значимости по Бонферрони:

$$p < \frac{0,05}{m},$$

где m – количество независимых статистических тестов на уровне значимости α .

Результаты и обсуждение

Наше исследование показало, что женщины с НБ и контрольной группы статистически значимо не различались по возрасту, наличию внутриматочных инфекций и хронических заболеваний (табл. 2).

Распределение частот генотипов для полиморфных локусов *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* VNTR, *IL4* VNTR, *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800896) и *TNFA* (rs1800629, rs361525) у женщин с НБ и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (табл. 3, $P(\text{HWE}) > 0,05$). Для большинства SNP в изучаемых генах цитокинов распределение частот встречаемости генотипов у женщин с НБ и в контроле было сопоставимым (табл. 3). Ассоциации полиморфных маркеров генов цитокинов с предрасположенностью к НБ у женщин отсутствовали, исключение касалось только полиморфизма гена *IL4* (VNTR, интрон 3).

Обнаружено, что при сравнении частот встречаемости генотипов гена *IL4* у женщин с НБ и в контрольной группе наблюдались статически значимые различия между ними. Аллель 2R был ассоциирован с риском развития НБ ($\text{OR} = 1,52$; $95\% \text{CI} = [1,08-2,14]$).

Самопроизвольный выкидыш может быть спровоцирован не только воздействием патогенов, но и зависеть от генетически контролируемой сложной цитокиновой регуляции иммунной системы женщины [11]. Имеются разные точки зрения на само понятие НБ. Отечественные исследователи под НБ подразумевают два и более самопроизвольных выкидыша, тогда как зарубежные – три и более самопроизвольных выкидыша во время беременности [9]. Поэтому далее мы изучали ассоциации полиморфизма в генах цитокинов в подгруппах женщин с двумя и с тремя и более самопроизвольными выкидышами.

ТАБЛИЦА 2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

TABLE 2. COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THE STUDY AND CONTROL GROUPS

Параметр Parameter	Группа Group		P-value*
	НБ Recurrent miscarriage (n = 112)	Контроль Control (n = 267)	
Возраст Age			0,06
m±SD	30,0±4,7	28,9±4,3	
min-max	22-42	24-45	
Кол-во выкидышей Number of miscarriages			–
min-max; m	2-6; 2,4		
2 выкидыша 2 miscarriages	75 (66,9%)		
3 и более выкидышей 3 and more miscarriages	37 (33,1%)		
Хронические заболевания Chronic diseases	56 (50,0%)	49 (18,3%)	0,21
Внутриматочные инфекции Uterine infections	48 (42,8%)	31 (11,6%)	0,15

Примечание. SD – стандартное отклонение; * – P-value оценивали с помощью бинарной логистической регрессии.

Note. SD, standard deviation; *, P-value were calculated by logistic regression.

Ассоциации изучаемых полиморфных маркеров генов цитокинов с двумя самопроизвольными выкидышами у женщин отсутствовали (результаты не показаны). Ассоциации полиморфизма генов *IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *IL10* и *TNFA* у женщин с тремя и более самопроизвольными выкидышами также отсутствовали, за исключением полиморфизма гена *IL6*(rs1800795) (табл. 4). Выявлена ассоциация аллеля G с предрасположенностью к трем и более самопроизвольным выкидышам (OR = 2,10; 95%CI = [1,24-3,56]). Наблюдалась высокая частота встречаемости генотипа GG (46%) и низкая частота встречаемости генотипа CC (11%) у женщин с 3 и более самопроизвольными выкидышами. Частота встречаемости генотипа CC у женщин контрольной группы составила 24% и была сопоставима с таковой у здоровых женщин Западно-Сибирского региона (23,9%, P = 0,98) [15].

Поскольку мы не выявили значимых ассоциаций полиморфизма генов цитокинов с двумя самопроизвольными выкидышами у женщин, можно предположить, что два ранних выкидыша могут иметь случайные причины, иногда даже не связанные друг с другом, тогда как реализация трех и более выкидышей на ранних этапах беременности скорее имеет системный характер.

Таким образом, в результате проведенного исследования обнаружены ассоциации аллеля 2R гена *IL4* (VNTR интрон 3) с НБ у женщин (OR = 1,52, 95%CI = [1,08-2,14]; P-value (cor) = 0,05) и аллеля G гена *IL6* (rs1800795) с тремя и более самопроизвольными выкидышами (OR = 2,10, 95%CI = [1,24-3,56]; P-value (cor) = 0,05). Несмотря на то, что мы не выявили ассоциации с уровнем значимости необходимым для преодоления порога Бонферрони, обе ассоциации имеют пограничный уровень значимости и, на наш взгляд, заслуживают обсуждения.

Физиологическая беременность сопровождается оптимальным соотношением провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в фетоплацентарной области. Считается, что доминирование противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) также может приводить к рецидивирующему самопроизвольному прерыванию беременности [37].

Интронная область гена *IL4* (хромосома 5q31.1) содержит VNTR полиморфизм, который характеризуется разным числом tandemных повторов длиной 70 пн. Варианты гена с разным числом копий могут влиять на его транскрипционную активность и стабильность матричной РНК (мРНК), а также предопределять модифицирующие эффекты IL-4 в иммунном ответе.

ТАБЛИЦА 3. АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К НЕВЫНАШИВАНИЮ БЕРЕМЕННОСТИ

TABLE 3. ASSOCIATION OF CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS WITH RECURRENT MISCARRIAGES

Полиморфизм гена/генотип Polymorphisms/genotypes	НБ (N) Recurrent miscarriage (N)	Контроль (n) Control (n)	OR [95%CI]; P-value
<i>IL1B</i> (rs1143634)			
CC	64 (0,57)	153 (0,58)	0,48
CT	37 (0,33)	99 (0,37)	
TT	11 (0,10)	14 (0,05)	
Аллель риска T Risk allele T	0,26	0,24	
<i>P</i> (HWE)	0,12	0,70	
<i>IL1RN</i> VNTR*			
*1/*1	53 (0,47)	132 (0,49)	0,46
*1/*2	38 (0,34)	106 (0,40)	
*2/*2	14 (0,13)	23 (0,09)	
*1/*3	4 (0,04)	3 (0,01)	
*2/*3	1 (0,02)	2 (0,01)	
Аллель риска *2 Risk allele *2	0,30	0,29	
<i>P</i> (HWE)	0,24	0,83	
<i>IL4</i> VNTR			
3R/3R	55 (0,49)	163 (0,61)	1,52 [1,08-2,14]; 0,01 (cor 0,05)**
2R/3R	44 (0,39)	88 (0,33)	
2R/2R	13 (0,12)	16 (0,06)	
Аллель риска 2R Risk allele 2R	0,31	0,22	
<i>P</i> (HWE)	0,36	0,38	
<i>IL6</i> (rs1800795)			
CC	24 (0,22)	64 (0,24)	0,19
GC	52 (0,46)	136 (0,51)	
GG	36 (0,32)	65 (0,24)	
Аллель риска G Risk allele G	0,55	0,50	
<i>P</i> (HWE)	0,52	0,67	
<i>IL10</i> (rs1800896)			
AA	41 (0,37)	93 (0,36)	0,79
GA	52 (0,47)	124 (0,47)	
GG	18 (0,16)	45 (0,17)	
Аллель риска G Risk allele G	0,40	0,41	
<i>P</i> (HWE)	0,82	0,74	
<i>TNFA</i> (rs1800629)			
GG	93 (0,83)	215 (0,82)	0,99
GA	17 (0,15)	45 (0,17)	
AA	2 (0,02)	2 (0,01)	
Аллель риска A Risk allele A	0,09	0,09	
<i>P</i> (HWE)	0,26	0,83	
<i>TNFA</i> (rs361525)			
GG	105 (0,94)	250 (0,96)	0,31
GA	7 (0,06)	10 (0,04)	
AA	0	0	
Аллель риска A Risk allele A	0,03	0,02	
<i>P</i> (HWE)	0,73	0,75	

Примечание. Здесь и далее в таблице: N – наблюдаемое количество женщин – носителей генотипа; * – носители генотипов *IL1RN**1/*3 и *IL1RN**2/*3 были исключены из анализа; ** – cor – P-value с учетом коррекции по Бонферрони (количество тестов равно 5).

Note. N, observed number of women with the given genotype; *, carriers of *IL1RN**1/*3 and *IL1RN**2/*3 genotypes were excluded from analysis; **, cor, P-value calculated with Bonferroni correction (5 tests).

ТАБЛИЦА 4. АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ТРЕМ И БОЛЕЕ САМОПРОИЗВОЛЬНЫМ ВЫКИДЫШАМ

TABLE 4. ASSOCIATION BETWEEN CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS WITH THREE AND MORE RECURRENT MISCARRIAGES

Полиморфизм гена/генотип Polymorphisms/genotypes	≥ 3 выкидышей (N) ≥ 3 miscarriages (N)	Контроль (N) control (N)	OR [95%CI]; P-value
<i>IL1B</i> (rs1143634)			
CC	25 (0,67)	153 (0,58)	0,22
CT	11 (0,30)	99 (0,37)	
TT	1 (0,03)	14 (0,05)	
Аллель риска T Risk allele T	0,17	0,24	
<i>IL1RN</i> VNTR ^b			
*1/*1	19 (0,51)	132 (0,49)	0,78
*1/*2	11 (0,30)	106 (0,40)	
*2/*2	5 (0,13)	23 (0,09)	
*1/*3	1 (0,03)	3 (0,01)	
*2/*3	1 (0,03)	2 (0,01)	
Аллель риска *2 Risk allele *2	0,34	0,29	
<i>IL4</i> VNTR			
3R/3R	15(0,40)	163 (0,61)	1,82 [1,09-3,04]; 0,02 (cor 0,20)
2R/3R	18 (0,49)	88 (0,33)	
2R/2R	4 (0,11)	16 (0,06)	
Аллель риска 2R Risk allele 2R	0,35	0,22	
<i>IL6</i> (rs1800795)			
CC	4 (0,11)	64 (0,24)	2,10 [1,24-3,56]; 0,005 (cor 0,05)*
GC	16 (0,43)	136 (0,51)	
GG	17 (0,46)	65 (0,24)	
Аллель риска G risk allele G	0,68	0,50	
<i>IL10</i> (rs1800896)			
AA	10 (0,27)	93 (0,36)	0,28
GA	19 (0,51)	124 (0,47)	
GG	8 (0,22)	45 (0,17)	
Аллель риска G Risk allele G	0,47	0,41	
<i>TNFA</i> (rs1800629)			
GG	31 (0,84)	215 (0,82)	0,72
GA	6 (0,16)	45 (0,17)	
AA	0	2 (0,01)	
Аллель риска A Risk allele A	0,08	0,09	
<i>TNFA</i> (rs361525)			
GG	35 (0,95)	250 (0,96)	не применимо not applicable
GA	2 (0,05)	10 (0,04)	
AA	0	0	
Аллель риска A Risk allele A	0,03	0,02	

Примечание. * – cor – P-value с учетом коррекции по Бонферрони (количество тестов равно 10).

Note. *, cor, P-value calculated with Bonferroni correction (10 tests).

Аллель с двумя копиями повторов (2R) определяет более высокий уровень транскрипционной активности, сплайсинга и стабильности мРНК по сравнению с аллелем с тремя копиями tandemных повторов (3R) и ассоциирован со сверхпродукцией ИЛ-4. Люди с генотипом 2R/2R гена *IL4* чаще болеют системной красной волчанкой [29], конечной стадией хронической почечной недостаточности [41], тромбозом глубоких вен при болезни Бехчета [25], раком [18, 22], а также чувствительны к внутриклеточному инфицированию [20].

Анализ литературы показал, что изучение ассоциаций полиморфизма VNTR гена *IL4* с репродуктивной патологией у женщин в основном проводилось у азиатских женщин. Как оказалось, у японок и кореянок этот полиморфизм не ассоциирован с повторяющимися самопроизвольными выкидышами [32, 36], а у тайваньских женщин – с осложненной преэклампсией беременностью [26]. Но обнаружено, что у иранских женщин генотип 2R/2R гена *IL4* ассоциирован с преэклампсией и лейомиомой матки [38]. Нам не встретилось ни одной работы, где бы изучались ассоциации VNTR полиморфизма гена *IL4* с репродуктивными нарушениями (в особенности с НБ или самопроизвольными выкидышами) у женщин других рас. Однако следует отметить, что более раннее наше исследование также показало повышенную частоту встречаемости аллеля 2R гена *IL4* среди женщин с НБ и бесплодием, но не с физиологической беременностью [14]. В то же время в литературе нам встретились работы, где выявлены ассоциации аллеля T полиморфизма в промоторном регионе гена *IL4* (-590C > T, rs2243250) с предрасположенностью к НБ [7], преждевременным родам [21] и преэклампсии [23] у женщин европейского происхождения. На уровне популяционных исследований установлено, что эволюционно у людей между аллелем 2R (VNTR, интрон 3) и аллелем T в позиции -590 промоторного региона гена *IL4* наблюдается неравновесие по сцеплению [30], оба аллеля ассоциированы с повышенной продукцией молекул ИЛ-4 [31]. Таким образом, наши данные в целом согласуются с литературой.

Как показывают клинические исследования, женщины с НБ имеют низкие сывороточные уровни ИЛ-4 на раннем этапе беременности [13]. Возможно, что перевес в сторону активной продукции противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) на раннем этапе беременности может провоцировать повышенную чувствительность женщины к внутриклеточным инфекциям и к отдельным аутоиммунным расстройствам, что также может служить причиной гибели эмбриона. В пользу этого говорят работы, где было

найден, что люди с генотипом 3R/3R, но не с генотипом 2R/2R гена *IL4* устойчивы к ВИЧ и малярийной инфекциям [31, 39]. Причем на примере ВИЧ было найдено, что чем выше отмечалась продукция ИЛ-4 в лимфоузлах, тем сильнее шла репликация вируса [39]. Хронический инфекционно-воспалительный процесс также может изменять антигенную структуру клеток эндометрия и запускать аутоиммунные механизмы [2]. Косвенным подтверждением служат работы, в которых у людей разных этносов аллель 2R гена *IL4* (VNTR, интрон 3) ассоциирован с аутоиммунными расстройствами, где повышенная продукция аутоантител является ключевым механизмом развития болезни [29].

Согласно ставшему «классическим» представлению, перевес в сторону выработки Th1-клетками провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-1, TNF α , ИЛ-6, INF и др.) на раннем этапе беременности сопровождается либо выкидышем либо недостаточным внедрением трофобласта в материнские сосуды, ассоциированным с преэклампсией и задержкой развития плода [11]. Нами обнаружена ассоциация полиморфизма гена *IL6* (-174 G > C), но не *IL1B* и *TNFA* с тремя самопроизвольными выкидышами у женщин.

Нуклеотидная замена -174G > C в регуляторном участке гена *IL6* (rs1800795, хромосома 7q21-24) определяет различный конститутивный и индуцибельный уровень его экспрессии *in vitro* и *in vivo*. В исследованиях *in vitro* было обнаружено, что у здоровых людей аллель C коррелирует с низкими плазматическими уровнями ИЛ-6, тогда как аллель G – с высокими плазматическими уровнями [4]. Однако подобная корреляция у женщин с идиопатическим НБ отсутствовала [40]. В то же время женщины с НБ имеют чрезмерную сывороточную продукцию ИЛ-6 на ранних сроках беременности по сравнению с женщинами с физиологической беременностью [13]. Наличие противоречивых литературных данных наводит на мысль, что реализация эффекта полиморфной замены -174G > C на продукцию ИЛ-6 у женщин с НБ связана с воздействием других генетических и средовых факторов.

В литературе ассоциации полиморфизма гена *IL6* (rs1800795) с НБ и другими осложнениями беременности у женщин носят противоречивый характер. Отдельные работы, в том числе и мета-анализы, не подтвердили ассоциации полиморфизма гена *IL6* (rs1800795) с НБ [6, 17, 19]. В то же время сообщается об ассоциации генотипа CC гена *IL6* (rs1800795) с самопроизвольными выкидышами у бразильянок [43] и китайянок [28], с преждевременными родами инфекционного генеза у австрийских женщин [35], с сепсисом плода у финок [34]. По данным метаанализа у ев-

ропейских женщин генотип СС гена *IL6* является протективным к преждевременным родам [44]. С другой стороны, выявлены ассоциации генотипа GG гена *IL6* с самопроизвольными выкидышами у китайок [28], с хориоамнионитом у финок [34], с преждевременными родами после вспомогательных репродуктивных технологий у женщин русской этнической группы [1], но у украинок он является протективным к развитию самопроизвольных выкидышей [27].

Необходимо также отметить, что IL-6 играет важную роль в механизмах взаимодействий между иммунной и эндокринной системами у людей. Речь идет о стероид-опосредованных эффектах IL-6 в репродуктивной физиологии у женщин. Совместно с IL-1, TNF α и IL-6 влияет на регуляцию производства стероидов в яичниках, созревание фолликул, а также на процессы овуляции, оплодотворения и имплантации [16].

Гормональный дисбаланс у женщин до и во время беременности является одной из эндогенных причин самопроизвольных выкидышей на ранних сроках (7-10 недель) [33, 42]. Гиперандрогения (в яичниках и надпочечниках, а иногда и смешанного типа) у женщин оказывает вредное воздействие на развитие эндометрия и снижает жизнеспособность яйцеклетки и эмбриона [42]. Патология эндометрия, обусловленная гормональными нарушениями, не всегда определяется уровнем гормонов в крови [33]. Обнаружено, что полиморфизм гена *IL6* (rs1800795) может оказывать влияние на развитие гиперандрогении у женщин. Обнаружено, что у женщин с генотипом СС гена *IL6* не выявлялся избыток андрогенов в отличие от женщин с генотипом GG. У женщин с гиперандрогенией генотип GG коррелировал с высокими уровнями IL-6, 17-гидроксипрогестерона, кортизола и 11-дезоксикортизола в сыворотке крови [42]. В то же время не так давно проведенный метаанализ показал, что полиморфизм гена *IL6* (rs1800795) не ассо-

циирован с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), но вариант С чаще наблюдался у женщин без СПКЯ [24].

Надо отметить, что наше исследование выявило разнонаправленные ассоциации аллеля 2R гена *IL4* (повышенная продукция противовоспалительного цитокина *IL4*) и аллеля G гена *IL6* (повышенная продукция плейотропного цитокина *IL6*) с НБ. С одной стороны, возможно, что такая ситуация может провоцировать высокую чувствительность женщин – носительниц этих генетических маркеров к инфекционным агентам. С другой стороны, вполне возможно, что эффект полиморфной замены гена *IL6* (rs1800795) на НБ может быть реализован и не через иммунную систему.

Нужно признать, что выявленные нами ассоциации аллеля 2R гена *IL4* (VNTR, интрон 3) и аллеля G гена *IL6* (rs1800795) с НБ и с тремя и более самопроизвольными выкидышами у женщин имеют низкую прогностическую эффективность. Как показывают статистические расчеты, «...при OR < 2,2 маркер обладает заведомо низкой прогностической эффективностью во всех смыслах и при любых частотах встречаемости заболевания и маркера» [8]. В то же время устойчиво воспроизводящиеся ассоциации этих полиморфных маркеров с патологией беременности у женщин разных этносов указывают на участие полиморфизма генов *IL4* и *IL6* в становлении репродуктивной патологии, поэтому наши результаты могут быть полезными в понимании молекулярных механизмов раннего самопроизвольного выкидыша.

Таким образом, выявлены ассоциации аллеля 2R гена *IL4* (VNTR, интрон 3) и аллеля G гена *IL6* (rs1800795) с НБ. Наши результаты могут говорить о том, что полиморфизм генов *IL4* и *IL6* у женщин оказывает влияние на развитие раннего самопроизвольного прерывания беременности.

Список литературы / References

1. Александрова Н.В., Донников А.Е. Использование современных ДНК-технологий в прогнозировании акушерских осложнений при беременности высокого риска // *Мать и дитя в Кузбассе*, 2012. Т. 48, № 1. С. 42-47. [Alexandrova N.V., Donnikov A.E. Prognostic tool of current DNA-technologies in obstetric complications in high risk pregnancy. *Mat' i ditya v Kuzbasse = Mother and Child in Kuzbass*, 2012, Vol. 48, no. 1, pp. 42-47. (In Russ.)]
2. Гестагены у женщин разного возраста. Доказательные данные и клинический опыт. Научные материалы Общероссийского научно-практического семинара «Репродуктивный потенциал России: сибирские чтения». М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2012. 24 с. [Gestagens in women of different ages. Evidence data and clinical experience. Research Materials of Russian scientific-practical seminar "The reproductive potential of Russia: Siberian read"]. Moscow: StatusPraesens, 2012. 24 p.
3. Гордеева Л.А., Глушкова О.А., Воронина Е.Н., Шаталина И.В., Шутров А.Е., Попова О.С., Гареева Ю.В., Симонова Т.А., Сутулина И.М., Филипенко М.Л., Глушков А.Н. Ассоциации материнских полиморфизмов генов цитокинов (IL-1B, IL-1RN, TNF, IL-4, IL-6) с врожденными пороками развития у плода и новорожденного // *Иммунология*, 2013. Т. 34, № 6. С. 298-304. [Gordeeva L.A., Glushkova O.A., Voronina E.N., Shatalina I.V., Shutrov A.E., Popova O.S., Gareeva Yu.V., Simonova T.A., Sutulina I.M., Filipenko M.L., Glushkov A.N. Association

of maternal polymorphisms of cytokine gene (*IL1B, IL1RN, TNF, IL4, IL6*) with congenital malformations in fetus and newborn. *Immunologiya = Immunology*, 2013, Vol. 34, no. 6, pp. 298-304. (In Russ.)]

4. Данилко К.В., Корытина Г.Ф., Ахмадишина Л.З., Янбаева Д.Г., Загидуллин Ш.З., Викторова Т.В. Ассоциация полиморфных маркеров генов цитокинов (*IL1B, IL1RN, TNFA, LTA, IL6, IL8, IL10*) с развитием хронической обструктивной болезни легких // Молекулярная биология, 2007. Т. 41, № 1. С. 26-36. [Danilko K.V., Korytina G.F., Akhmadishina L.Z., Yanbaeva D.G., Zagidullin Sh.Z., Victorova T.V. Association of cytokines genes (*IL1, IL1RN, TNF, LTA, IL6, IL8, IL10*) polymorphic markers with chronic obstructive pulmonary disease. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2007, Vol. 41, no. 1, pp. 26-36. (In Russ.)]

5. Заморина С.А., Ширшев С.В. Хорионический гонадотропин – фактор индукции иммунной толерантности при беременности // Иммунология, 2013. Т. 34, № 2. С. 105-107. [Zamorina S.A., Shirshov S.V. Human chorionic gonadotropin is a factor in the induction of immune tolerance in pregnancy. *Immunologiya = Immunology*, 2013, Vol. 34, no. 2, pp. 105-107. (In Russ.)]

6. Машкина Е.В., Коваленко К.А., Фомина Н.В., Шкурат Т.П. Исследование ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с ранними эмбриональными потерями // Экологическая генетика, 2014. Т. XII, № 1. С. 19-27. [Mashkina E.V., Kovalenko K.A., Fomina N.V., Shkurat T.P. Cytokine gene polymorphisms and early pregnancy loss. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*, 2014, Vol. XII, no. 1, pp. 19-27. (In Russ.)]

7. Питиримова Л.Н., Загороднева Е.А., Гумилевский Б.Ю. Особенности аллельного полиморфизма генов интерлейкинов и цитокиновый баланс женщин с невынашиванием беременности // Акушерство и гинекология, 2014. № 3. С. 33-38. [Pitirimova L.N., Zagorodneva E.A., Gumilevskiy B.U. Specific features of allelic polymorphism of the interleukin genes and the cytokine balance in women with miscarriage. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2014, no. 3, pp. 33-38. (In Russ.)]

8. Рубанович А.В., Хромов-Борисов Н.Н. Теоретический анализ показателей предсказательной эффективности бинарных генетических тестов // Экологическая генетика, 2013. Т. XI, № 1. С. 77-90. [Rubanovich A.V., Khromov-Borisov N.N. Theoretical analysis of the predictability indices of the binary genetic tests. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*, 2013, Vol. XI, no. 1, pp. 77-90. (In Russ.)]

9. Сидельникова В.М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему // Российский вестник акушера-гинеколога, 2007. № 2. С. 62-64. [Sidelnikova V.M. Miscarriage: the present view of the problem. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin Obstetrician-Gynecologist*, 2007, no. 2, pp. 62-64. (In Russ.)]

10. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал, 2013. Т. 13, № 3. С. 18-41. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal = Medical Academic Journal*, 2013, Vol. 13, no. 3, pp. 18-41. (In Russ.)]

11. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности // Акушерство и гинекология, 2012. № 1. С. 128-136. [Sukhikh G.T., Vanko K.V. Immune factors in the etiology and pathogenesis of pregnancy complications. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2012, no. 1, pp. 128-136. (In Russ.)]

12. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты. СПб.: Полисан, 1998. 113 с. [Freidlin I.S. The immune system and its defects]. St. Petersburg: Polysan, 1998. 113 p.

13. Чистякова Г.Н., Газиева И.А., Ремизова И.И., Черданцева Г.А. Оценка продукции цитокинов при беременности, осложненной угрозой прерывания в первом триместре // Фундаментальные исследования, 2005. № 5. С. 96-98. [Chistyakova G.N., Gaziyeva I.A., Remizova I.I., Cherdantseva G.A. The evaluation of cytokines production by the threatened abortion in first trimester of pregnancy. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*, 2005, no. 5, pp. 96-98. (In Russ.)]

14. Шабалдин А.В., Гордеева Л.А., Глушкова О.А., Макаренченко О.С., Шаталина И.В., Симонова Т.А., Филипенко М.Л., Глушков А.Н., Крюков П.М. Ассоциации сочетаний генов HLA DRB1*, IL4*, IL6* с репродуктивными потерями у женщин // Иммунология, 2008. Т. 29, № 3. С. 132-136. [Shabaldin A.V., Gordeeva L.A., Glushkova O.A., Makarchenko O.S., Shatalina I.V., Simonova T.A., Filipenko M.L., Glushkov A.N., Kryukov P.M. The association of HLA DRB1*, IL-4*, IL-6* gene combination with women's reproductive losses. *Immunologiya = Immunology*, 2008, Vol. 29, no. 3, pp. 132-136. (In Russ.)]

15. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коломейчук М.Ю., Коненков В.И., Гарбуков Е.Ю., Стахеева М.Н. Полиморфизм промоторного региона генов IL-4, IL-6 и IL-10 у пациенток с раком молочной железы // Медицинская иммунология, 2009. Т. 11, № 1. С. 21-28. [Shevchenko A.V., Golovanova O.V., Kolomejchuk M.Yu., Konenkov V.I., Garbukov E.Yu., Stakheeva M.N. Promotor polymorphism of IL-4, IL-6, and IL-10 genes among patients with breast cancer. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology*, 2009, Vol. 11, no. 1, pp. 21-28. (In Russ.)]. doi: dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2009-1-21-28.

16. Ширшев С.В. Механизмы иммунноэндокринного контроля процессов репродукции. Екатеринбург: УрО РАН, 2002, Т. 2, С. 382-392. [Shirshov S.V. Mechanisms of immune and endocrine control of reproduction processes]. Ekaterinburg: UrB RAS, 2002, Vol. 2, pp. 382-392.

17. Bahadori M., Zarei S., Zarnani A.H., Zarei O., Idali F., Hadavi R., Jeddi-Tehrani M. IL-6, IL-10 and IL-17 gene polymorphisms in Iranian women with recurrent miscarriage. *Iran J. Immunol.*, 2014, Vol. 11, no. 2, pp. 97-104.

18. Bhayal A.C., Krishnaveni D., Rao K.P., Kumar A.R., Jyothy A., Nallari P., Venkateshwari A. Significant Association of Interleukin4 Intron 3 VNTR Polymorphism with Susceptibility to Gastric Cancer in a South Indian Population from Telangana. *PLoS One*, 2015, Vol. 10, no. 9, e0138442. doi: 10.1371/journal.pone.0138442.
19. Bombell S., McGuire W. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, 2008, Vol. 48, no. 2, pp. 147-154.
20. Cabantous S., Poudiougou B., Oumar A.A., Traore A., Barry A., Vitte J., Bongrand P., Marquet S., Doumbo O., Dessein A.J. Genetic evidence for the aggravation of *Plasmodium falciparum* malaria by interleukin 4. *J. Infect. Dis.*, 2009, Vol. 200, no. 10, pp. 1530-1539.
21. Crider K.S., Whitehead N., Buus R.M. Genetic variation associated with preterm birth: a HuGE review. *Genet. Med.*, 2005, Vol. 7, no. 9, pp. 593-604.
22. Duan Y., Pan C., Shi J., Chen H., Zhang S. Association between interleukin-4 gene intron3 VNTR polymorphism and cancer risk. *Cancer Cell Int.*, 2014, Vol. 14, no. 1, p. 131.
23. Fraser R., Walker J.J., Ekbote U.V., Martin K.L., McShane P., Orsi N.M. Interleukin-4 -590 (C > T), toll-like receptor-2 +2258 (G > A) and matrix metalloproteinase-9 -1562 (C > T) polymorphisms in pre-eclampsia. *BJOG*, 2008, Vol. 115, no. 8, pp. 1052-1056.
24. Guo R., Zheng Y., Yang J., Zheng N. Association of TNF-alpha, IL-6 and IL-1beta gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. *BMC Genet.*, 2015, Vol. 16, p. 5.
25. Inanir A., Tural S., Yigit S., Kalkan G., Pancar G.S., Demir H.D., Ates O. Association of IL-4 gene VNTR variant with deep venous thrombosis in Behcet's disease and its effect on ocular involvement. *Mol. Vis.*, 2013, no. 19, pp. 675-683.
26. Kang L., Chen C.H., Yu C.H., Chang C.H., Chang F.M. An association study of interleukin-4 gene and preeclampsia in Taiwan. *Taiwan J. Obstet. Gynecol.*, 2014, Vol. 53, no. 2, pp. 215-219.
27. Kucherenko A.M., Vorobiova I.I., Rudakova N.V., Livshits L.A. The role of IL6 and ESR1 gene polymorphisms as immunological factors of pregnancy maintenance. *Biopolymers and Cell*, 2013, Vol. 29, no. 5, pp. 402-405.
28. Liu R.X., Wang Y., Wen L.H. Relationship between cytokine gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015, Vol. 8, no. 6, pp. 9786-9792.
29. Mohammadoo-Khorasani M., Salimi S., Tabatabai E., Sandoughi M., Zakeri Z., Farajian-Mashhadi F. Interleukin-1β (IL-1β) and IL-4 gene polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and their association with susceptibility to SLE. *Indian J. Med. Res.*, 2016, Vol. 143, no. 5, pp. 591-596.
30. Nakashima H., Miyake K., Inoue Y., Shimizu S., Akahoshi M., Tanaka Y., Otsuka T., Harada M. Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population. *Genes Immun.*, 2002, Vol. 3, no. 2, pp. 107-109.
31. Olenski Gilli S.C., Pericole F.V., Benites B.D., Sippert E.Â., Castilho L.M., Addas-Carvalho M., Olalla Saad S.T. Cytokine polymorphisms in sickle cell disease and the relationship with cytokine expression. *Exp. Hematol.*, 2016, Vol. 44, no. 7, pp. 583-589.
32. Parveen F., Shukla A., Agarwal S. Cytokine gene polymorphisms in northern Indian women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril.*, 2013, Vol. 99, no. 2, pp. 433-440.
33. Pluchino N., Drakopoulos P., Wenger J.M., Petignat P., Streuli I., Genazzani A.R. Hormonal causes of recurrent pregnancy loss (RPL). *Hormones*, 2014, Vol. 13, no. 3, pp. 314-322.
34. Reiman M., Kujari H., Ekholm E., Lapinleimu H., Lehtonen L., Haataja L. PIPARI Study Group. Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *J. Pediatr.*, 2008, Vol. 153, no. 1, pp. 19-24.
35. Resch B., Radinger A., Mannhalter C., Horvath B., Binder A., Zenz W., Walcher W., Haas J., Müller W.D., Pertl B. Maternal interleukin-6 (-174) C/C polymorphism is associated with chorioamnionitis and cysticperiventricular leucomalacia of the preterm infant. *J. Perinatol.*, 2010, Vol. 30, no. 11, pp. 712-716.
36. Saijo Y., Sata F., Yamada H., Konodo T., Kato E.H., Kataoka S., Shimada S., Morikawa M., Minakami H., Kishi R. Interleukin-4 gene polymorphism is not involved in the risk of recurrent pregnancy loss. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2004, Vol. 52, no. 2, pp. 143-146.
37. Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2010, Vol. 63, no. 6, pp. 601-610.
38. Salimi S., Mohammadoo-Khorasani M., Yaghmaei M., Mokhtari M., Moossavi M3. Possible association of IL-4 VNTR polymorphism with susceptibility to preeclampsia. *Biomed Res Int.*, 2014, 497031. doi: 10.1155/2014/497031.
39. Sobti R.C., Berhane N., Mahdi S.A., Takur H., Wanch A. Association of interleukin 4 VNTR polymorphism and HIV/AIDS in a north Indian seropositive patients. *Mol. Biol. Rep.*, 2012, Vol. 39, no. 3, pp. 3251-3257.
40. Unfried G., Böckör S., Endler G., Nagele F., Huber J.C., Tempfer C.B. A polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and idiopathic recurrent miscarriage. *Hum. Reprod.*, 2003, Vol. 18, no. 2, pp. 267-270.
41. Vasudevan R., Norhasniza M.N., Patimah I. Association of variable number of tandem repeats polymorphism in the IL-4 gene with end-stage renal disease in Malaysian patients. *Genet. Mol. Res.*, 2011, Vol. 10, no. 2, pp. 943-947.
42. Villuendas G., San Millán J.L., Sancho J., Escobar-Morreale H.F. The -597 G-- > A and -174 G-- > C polymorphisms in the promoter of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, Vol. 87, no. 3, pp. 1134-1141.

43. von Linsingen R., Bompeixe E.P., Bicalho Mda G. A case-control study in IL6 and TGFB1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion in southern Brazilian patients. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2005, Vol. 53, no. 2, pp. 94-99.

44. Wu W., Clark E.A., Stoddard G.J., Watkins W.S., Esplin M.S., Manuck T.A., Xing J., Varner M.W., Jorde L.B. Effect of interleukin-6 polymorphism on risk of preterm birth within population strata: a meta-analysis. *BMC Genet.*, 2013, Vol. 14, p. 30.

Авторы:

Гордеева Л.А. — к.б.н., заведующая лабораторией иммуногенетики, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Оскорбина О.С. — ведущий инженер-биолог лаборатории иммуногенетики, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Воронина Е.Н. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Соколова Е.А. — к.б.н., инженер лаборатории фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Шаталина И.С. — ведущий инженер-биолог лаборатории иммуногенетики, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Оленникова Р.В. — врач-генетик ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», медико-генетическая консультация, г. Кемерово, Россия

Нерсисян С.Л. — врач-генетик ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», медико-генетическая консультация, г. Кемерово, Россия

Филипенко М.Л. — к.б.н., заведующий лабораторией фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Глушков А.Н. — д.м.н., заместитель директора Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Authors:

Gordeeva L.A., PhD (Biology), Head, Laboratory of Immunogenetics, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Institute of Human Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences), Kemerovo, Russian Federation

Oskorbina O.S., Leading Engineer-biologist, Laboratory of Immunogenetics, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Institute of Human Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences), Kemerovo, Russian Federation

Voronina E.N., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Pharmacogenomics, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Sokolova E.A., PhD (Biology), Engineer, Laboratory of Pharmacogenomics, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Shatalina I.V., Leading Engineer-biologist, Laboratory of Immunogenetics, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Institute of Human Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences), Kemerovo, Russian Federation

Olennikova R.V., Clinical Geneticist, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Genetic Consulting Center, Kemerovo, Russian Federation

Nersesyan S.L., Clinical Geneticist, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Genetic Consulting Center, Kemerovo, Russian Federation

Filipenko M.L., PhD (Biology), Head, Laboratory of Pharmacogenomics, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Glushkov A.N., PhD, MD (Medicine), Deputy Director, The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Institute of Human Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences), Kemerovo, Russian Federation

Поступила 23.12.2016
Принята к печати 26.01.2017

Received 23.12.2016
Accepted 26.01.2017