

**Table 2. The multiplicative model of inheritance ( $\chi^2$  test, df = 1)**

SNP	Allele	Group R (n = 240)	Group K (n = 100)	$\chi^2$	P	OR (95% CI)
IL-4 -33C/T rs2070874	C	0.679	0.805	11.00	0.0009	0.51 (0.34–0.76)
	T	0.321	0.195			1.95 (1.31–2.91)
IL-4 -589C/T rs2243250	C	0.679	0.805	11.00	0.0009	0.51 (0.34–0.76)
	T	0.321	0.195			1.95 (1.31–2.91)
IL-4R Q576R rs180275	A	0.702	0.860	18.70	2.0E-5	0.38 (0.25–0.60)
	G	0.298	0.140			2.61 (1.67–4.07)
IL-17A G197A rs227593	G	0.765	0.750	0.16	0.68	1.08 (0.74–1.59)
	A	0.235	0.250			0.92 (0.63–1.36)
IL-17F 488T/C rs763780	T	0.682	0.610	3.21	0.07	1.37 (0.97–1.93)
	C	0.318	0.390			0.73 (0.52–1.03)

CI 2.42–6.57) and CT<sup>589</sup> (OR 3.99; 95% CI 2.42–6.57) IL-4 gene; a genotype GG<sup>576</sup> (OR 5.95; 95% CI 1.39–25.58) gene IL-4R and genotypes TT<sup>488</sup> (OR 2.33; 95% CI 1.39–3.91) and the CC<sup>488</sup> (OR

2.27; 95% CI 0.76–6.84) IL-17F gene were associated with a significant increase in the risk of miscarriage. On the other hand we found no significant differences between the study and control group in frequency of polymorphisms IL-17A-G197A (rs227593).

In the analysis of the frequency of Allella in women with RM and physiological pregnancy was revealed statistic positive association with reproductive losses and alleles: T<sup>33</sup> (0.321 vs. 0.195; OR 1.95; 95% CI 1.31–2.91); T<sup>589</sup> (0.321 vs. 0.195; OR 1.95; 95% CI 1.31–2.91); G<sup>576R</sup> (0.298 vs. 0.140; OR 2.61; 95% CI 1.67–4.07) (Table 2). The protective value of child bearing alleles were C<sup>33</sup> (0.805 vs. 0.679,  $p < 0.0009$ ), C<sup>589</sup> (0.805 vs. 0.679,  $p < 0.0009$ ) and G<sup>576R</sup> (0.860 vs. 0.702,  $p < 2.0E-5$ ).

## CONCLUSIONS

1. The results of the molecular-genetic typing of IL-4, IL-4R, IL-17A and IL-17F possible to identify markers in the Eastern Slavic population immunogenetic susceptibility/resistance to the development of recurrent miscarriage.

2. Typing of cytokine genes can be used as a method of early diagnosis and prediction of Pregravidar immune forms of reproductive loss in women.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL-4 И IL-17 В ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ, НАСТУПИВШЕЙ В ЦИКЛАХ ВРТ

### Е.П. ГОЛОВАТЮК

к. мед. н., ассистент кафедры реконструктивной и восстановительной медицины с курсом репродуктологии Одесского национального медицинского университета, главврач Медицинского центра репродуктивного здоровья «Гамета», г. Одесса  
ORCID: 0000-0002-9033-3583

#### Контакты:

Головатюк Екатерина Петровна  
Медицинский центр репродуктивного здоровья «Гамета»  
65039, Одесса, Слепнева, 3-А  
тел.: +38 (048) 738 68 69  
e-mail: info@gameta.od.ua

### ВВЕДЕНИЕ

Большинство исследователей подтверждают, что свыше 50% беременных после ВРТ сталкиваются с проблемой невынашивания беременности, особенно в первом триместре. Привычное невынашивание беременности (ПНБ) является генетически гетерогенным состоянием в результате сосуществования двух регулирующих факторов: материнского и эмбрионального [1, 2]. Плод экспрессирует антигены, унаследованные от обоих родителей, и выживание полу-аллотрансплантанта плода до срока является одним из наиболее сложных процессов, связанных с беременностью. Иммунная система матери играет свою важную роль в успешной беременности, контролируя оплодотворение, имплантацию, развитие и поддержание самой беременности [3–5]. Успешная беременность зависит от поддержания тонкого баланса между Th-1, Th-2, Th-17 и Treg-клетками иммунной системы, а также между присутствующими в них специфическими цитокинами [6, 7].

### АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ И ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цитокины являются клеточными сигнальными белками, в основном секретируемыми иммунными клетками и медиаторами клеточно-клеточными коммуникациями [8].

Выявлено, что полиморфизмы генов цитокинов могут быть связаны с ПНБ.

Известно, что одними из основных цитокинов, участвующих в вынашивании беременности, являются интерлейкин-4 (IL-4) и интерлейкин-17 (IL-17). Клетки человека Th17, продуцирующие IL-17, могут играть важную роль в отвержении антигенов концептуса и, следовательно, могут вредить сохранению беременности [9]. Показано, что IL-17-продуцирующие децидуальные CD4+T-клетки не являются вредными для беременности женщины, когда они также продуцируют IL-4 [10]. Поэтому особый интерес представляет изучение особенностей полиморфизмов генов IL-4 и IL-17 у женщин с ПНБ.

IL-4 регулирует рост и дифференцировку В-лимфоцитов, а также процессы биосинтеза и секреции антител. Он продуцируется активированными CD4+T-лимфоцитами (Th2), тучными клетками и эозинофилами, но в основном – активированными Th2 клетками. IL-4 стимулирует дифференцировку Th0 в Th2, подавляет генерацию цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров, а также продукцию интерферона- $\gamma$  и противоопухолевую активность макрофагов, уменьшает выработку провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF $\alpha$  [11, 12]. При наличии генетически обусловленных нарушений в иммунной системе происходит из-

быточный синтез провоспалительных интерлейкинов, приводящий к быстрому развитию воспалительного процесса в тканях даже при отсутствии в очаге патогенов. Некоторые данные позволяют предположить, что Th2-цитокин IL-4 и его рецептор может представлять особый интерес для борьбы с Th17-индуцированным воспалением. В организме человека уменьшенная реакция на IL-4, как полагают, способствует аутоиммунному воспалению.

У человека ген, кодирующий IL-4, расположен на 5-й хромосоме в области 5q31-q33, в так называемом «цитокиновом кластере», где были найдены и другие гены, важные для иммунной системы, такие как IL-5, IL-9, IL-12, IL-13 и гранулоцитарно-макрофагально-колониестимулирующий фактор. Ген IL-4 состоит из четырех экзонов, из которых экзон 2 является кратчайшим (48 пар оснований, кодирующий 16 АА), а экзон 3 – самым длинным. Полноразмерный белок IL-4, который кодируется всеми четырьмя экзонами, является вариантом, который обычно называют простым IL-4, и это, безусловно, наиболее изученная изоформа, структурно и функционально [12].

Выявлено более 50 аллельных вариантов полиморфизмов гена IL-4, в том числе -590C/T (rs2243250), -33C/T (rs2070874), +3437C/G (rs2227282) и 2979G/T (rs2227284) и др. Установлена большая вариабельность встречаемости аномальной аллели IL-4 в различных популяциях [13]. В различных этнических группах могут встречаться особенности иммунопатогенеза, которые представляют как теоретический, так и практический интерес [13].

Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП, англ. Single nucleotide polymorphism, SNP) в кодирующей области IL-4R I50V (rs1805010) определяет наличие изолейцина (I) в зависимости от валина (V) в положении 50 в аминокислотной последовательности. Этот полиморфизм в IL-4R является функционально важным, поскольку он влияет на силу сигнала через рецептор, и может быть в состоянии регулировать продукцию IL-17, участвующего в вынашивании беременности [14, 15]. В то же время [15] не было найдено никаких существенных различий в IL-4 частот генотипов VNTR между ПНБ и контролем (отношение шансов (ОШ) 0,91; 95% ДИ 0,58–1,45); так, F. Tavasolian и соавторы показали, что IL-4R I50V [rs1805010] не играет причинной роли при ПНБ [16]. Противоречивость данных литературы требует проведения дальнейших исследований.

T-хелперы 17 (Th17) – третий тип недавно открытых T-хелперов. Th17 характеризуются экспрессией IL-17A, IL-17F, IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-22. Идентифицировано шесть лигандов семейства IL-17 (IL-17A-F) и пять рецепторов (IL-17RA-RD и SEF). IL-17A и IL-17F являются членами семейства цитокинов IL-17, ответственными за патогенную активность клеток Th17; они индуцируют множественные провоспалительные медиаторы, в том числе хемокины, цитокины и металлопротеиназы из эпителиальных клеток и фибробластов [17]. Гены IL-17A и IL-17 F расположены на хромосоме 6P12. Развитие Th17-клеток и секреция цитокинов снижаются *in vitro* при воздействии IFN- $\gamma$  и IL-4, продуцируемыми Th1 и Th2-клетками соответственно. Полиморфизм IL-4R (I50V) может контролировать возможность иммунной системы человека регулировать величину продукции IL-17.

**Целью** исследования стали изучение частоты встречаемости генотипов и аллельных вариантов IL-4 (C589T и C33T), IL-4R (Q576R), IL-17A (G197A) и IL-17F (488T/C) генов в зависимости от репродуктивного статуса и оценка ассоциативной связи с ПНБ, наступившей в циклах ЭКО.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 240 пациенток группы Н с ПНБ, наступившей в циклах ЭКО, и 100 условно здоровых фертильных женщин контрольной группы К с наличием в анамнезе хотя бы одних срочных родов и отсутствием эпизодов самопроизвольного прерывания беременности. Все женщины были восточными славянками, жительницами Одесской области Украины.

У пациенток забирали цельную периферическую кровь в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата в конечной концентрации 2,0 мг/мл.

Молекулярно-генетические исследования проводились в лаборатории ООО «Диагностический центр "Евгеника"» (зав. лаб. к. биол. н. Э.Т. Макшаева) г. Одессы. ДНК выделяли из ядер лимфоцитов. Метод основан на разрушении лимфоцитов с помощью лизирующего буфера, не влияющего на целостность мембран ядер лимфоцитов. Для типирования однонуклеотидных полиморфизмов генов иммунного ответа использовали метод полимеразной цепной реакции с плавлением продуктов реакции в присутствии «примыкающих» олигонуклеотидов (вариант метода adjacent probes, kissing probes).

Для генотипирования полиморфизмов IL-4 использовали последовательности прямых и обратных праймеров: для IL-4-33C/T прямой праймер 5'GCCCCAAGTACTGACAATC3' и обратный 5'TCACCTTCTGCTCTGTGTGAGG3'; для IL-4 -589C/T – 5'AACACCTAAACTTGGGAGGA3' и 5'CTGTCATGGAAAAGCTGATCT3 соответственно; для IL-4R Q576R – соответственно 5'-СТСТСТGAGCCAACCACTGT-3' и 5'-GCTCCACCGCATGTACAAAC-3'. Для генотипирования полиморфизмов IL-17 использовали: для IL-17A G-197A – прямой 5'-TCTCCATCTCCATCACCTTTG-3' и обратный 5'-GTCCAAATCAGCAAGAGCATC-3'; для IL-17F 7488 T/C – прямой 5'-CACTGGTGTCTGATGAGGA-3' и обратный 5'-CATTGTGCTTTGGCTTGTCT-3' соответственно.

Аmplификацию проводили с использованием детектирующего амплификатора ДТ-96 DTprime (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc, США) с определением достоверности различий при значении  $p < 0,05$ . Для сравнения частот при нормальном распределении признака применялся критерий Стьюдента. Для оценки непараметрических, не связанных между собой показателей использовали критерий Манна-Уитни, связанных – критерий Уилкоксона. Соответствие наблюдаемых распределений частот генотипов теоретически ожидаемых по уравнению Харди-Вайнберга, оценивали с использованием критерия  $\chi^2$ . Для оценки ассоциаций рассчитывали относительный риск (ОР) с

доверительным интервалом (ДИ) при 95% уровне значимости. Если ОР был равен 1, то считали, что ассоциация отсутствует, если превышал 2, ассоциацию считали положительной. Оценивали этиологическую и превентивную фракции.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Группы были репрезентативны по возрасту. Средний возраст обследованных женщин группы Н составлял 29,80 ± 0,30 лет, группы К – 30,09 ± 0,30 (p > 0,05). Прерывание беременности в группе Н в первом триместре было у 51,25% пациенток, во втором – у 34,17%, в третьем – у 14,58%.

Наличие полиморфизмов генов IL-4, IL-4R, IL-17A и IL-17F изучали на основании общей (табл. 1) и мультипликативной модели наследования (табл. 2).

**Таблица 1. Общая модель наследования (тест  $\chi^2$ , df = 2)**

SNP	Гено-тип	Группа Н (n = 240)	Группа К (n = 100)	$\chi^2$	P	ОШ (95% ДИ)
IL-4 -33C/T rs2070874	CC	0,358	0,650	37,39	8,0E-9	0,30 (0,18–0,49)
	CT	0,642	0,310			3,99 (2,42–6,57)
	TT	0,000	0,040			0,04 (0,00–0,84)
IL-4 -589C/T rs2243250	CC	0,358	0,650	37,39	8,0E-9	0,30 (0,18–0,49)
	CT	0,642	0,310			3,99 (2,42–6,57)
	TT	0,000	0,040			0,04 (0,00–0,84)
IL-4R Q576R rs180275	AA	0,513	0,740	17,04	0,0002	0,37 (0,22–0,62)
	AG	0,379	0,240			1,93 (1,14–3,28)
	GG	0,108	0,020			5,95 (1,39–25,58)
IL-17A G197A rs227593	GG	0,613	0,540	5,31	0,07	1,35 (0,84–2,16)
	GA	0,304	0,420			0,60 (0,37–0,98)
	AA	0,083	0,040			2,18 (0,73–6,55)
IL-17F 488T/C rs763780	TT	0,450	0,260	15,84	0,0004	2,33 (1,39–3,91)
	CT	0,463	0,700			0,37 (0,22–0,61)
	CC	0,087	0,040			2,27 (0,76–6,84)

Как видно из таблицы 1, оба генотипа CT<sup>33</sup> (ОР 3,99; 95% ДИ 2,42–6,57) и CT<sup>589</sup> (ОР 3,99; 95% ДИ 2,42–6,57) гена IL-4; генотип GG<sup>576</sup> (ОР 5,95; 95% ДИ 1,39–25,58) гена IL-4R и генотипы TT<sup>488</sup> (ОР 2,33; 95% ДИ 1,39–3,91) и CC<sup>488</sup> (ОР 2,27; 95% ДИ 0,76–6,84) гена IL-17F были ассоциированы с достоверным увеличением риска невынашивания беременности. С другой стороны, не найдены достоверные различия между основной и контрольной группой по частоте полиморфизмов IL-17A-G197A (rs227593).

При анализе частот аллелей у женщин с ПНБ и физиологическим течением беременности была выявлена статистически положительная ассоциация с репродуктивными потерями при наличии следующих аллелей: T<sup>33</sup> (0,321 против 0,195; ОР 1,95; 95% ДИ 1,31–2,91); T<sup>589</sup> (0,321 против 0,195; ОР 1,95; 95% ДИ 1,31–2,91); G<sup>576R</sup> (0,298 против 0,140; ОР 2,61; 95% ДИ 1,67–4,07) (табл. 2). Протективное значение для вынашивания беременности имели аллели C<sup>33</sup> (0,805 против 0,679, p < 0,0009), C<sup>589</sup> (0,805 против 0,679, p < 0,0009) и A<sup>576R</sup> (0,860 против 0,702, p < 2,0E-5).

**Таблица 2. Мультипликативная модель наследования (тест  $\chi^2$ , df = 1)**

SNP	Алель	Группа Н (n = 240)	Группа К (n = 100)	$\chi^2$	P	ОР (95% ДИ)
IL-4 -33C/T rs2070874	C	0,679	0,805	11,00	0,0009	0,51 (0,34–0,76)
	T	0,321	0,195			1,95 (1,31–2,91)
IL-4 -589C/T rs2243250	C	0,679	0,805	11,00	0,0009	0,51 (0,34–0,76)
	T	0,321	0,195			1,95 (1,31–2,91)
IL-4R Q576R rs180275	A	0,702	0,860	18,70	2,0E-5	0,38 (0,25–0,60)
	G	0,298	0,140			2,61 (1,67–4,07)
IL-17A G197A rs227593	G	0,765	0,750	0,16	0,68	1,08 (0,74–1,59)
	A	0,235	0,250			0,92 (0,63–1,36)
IL-17F 488T/C rs763780	T	0,682	0,610	3,21	0,07	1,37 (0,97–1,93)
	C	0,318	0,390			0,73 (0,52–1,03)

**ВЫВОДЫ**

1. Типирование генов цитокинов может быть использовано как один из методов ранней диагностики и прегравидарного прогнозирования иммунных форм репродуктивных потерь у женщин.
2. Результаты проведенного молекулярно-генетического типирования IL-4, IL-4R, IL-17A и IL-17F позволили выделить в восточнославянской популяции маркеры иммуногенетической предрасположенности/резистентности к развитию привычного невынашивания беременности.

**ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES**

1. Rull, K., Nagirmaja, L., Laan, M. "Genetics of recurrent miscarriage: challenges, current knowledge, future directions." *Front Genet* 3 (2012): 34. DOI: 10.3389/fgene.2012.00034
2. Xu, X., Du, C., Li, H., et al. "Association of VEGF Genetic Polymorphisms with Recurrent Spontaneous Abortion Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis." *PLoS One* 10 (2015). DOI: 10.1371/journal.pone.0123696
3. Guerin, L.R., Prins, J.R., Robertson, S.A. "Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment?" *Hum Reprod Update* 15 (2009): 517–35.
4. Munoz-Suano, A., Hamilton, A.B., Betz, A.G., et al. "The immune system during pregnancy." *Immunol Rev* 241 (2011): 20–38.
5. Robertson, S.A. "Immune regulation of conception and embryo implantation—all about quality control?" *J Reprod Immunol* 85 (2010): 51–57.
6. Saini, V., Arora, S., Yadav, A., et al. "Cytokines in recurrent pregnancy loss." *Clin Chim Acta* 412.9–10 (2011): 702–8. DOI: 10.1016/j.cca.2011.01.002
7. Alkhuriji, A.F., Alhimaiddi, A.R., Babay, Z.A., et al. "The relationship between cytokine gene polymorphism and unexplained recurrent spontaneous abortion in Saudi females." *Saudi Medical Journal* 34 (2013): 484–9.
8. Prins, J.R., Gomez-Lopez, N., Robertson, S.A. "Interleukin-6 in pregnancy and gestational disorders." *J Reprod Immunol* 95 (2012): 1–14.
9. Bettelli, E., Carrier, Y., Gao, W., et al. "Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells." *Nature* 441.7090 (2006): 235–8. DOI: 10.1038/nature04753
10. Lombardelli, L., Logiodice, F., Aguerre-Girr, M.O., et al. "Interleukin-17-producing decidual CD4+ T cells are not deleterious for human pregnancy when they also produce interleukin-4." *Clin Mol Allergy* 14 (2016): 1. DOI: 10.1186/s12948-016-0039-y
11. Rasti, Z., Nasiri, M., Kohan, L. "The IL-6 -634C/G polymorphism: a candidate genetic marker for the prediction of idiopathic recurrent pregnancy loss." *J Reprod Biomed (Yazd)* 14.2 (2016): 103–8.

12. Luzina, I.G., Keegan, A.D., Heller, N.M., et al. "Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of "alternatives." J Leukoc Biol 92.4 (2012): 753–64. DOI: 10.1189/jlb.0412214
13. Андрейчикова, Е.А.  
Сравнительные аспекты аллельного полиморфизма гена IL-4 у коренных и пришлых жителей республики Хакасия, больных аллергической бронхиальной астмой / Е.А. Андрейчикова, А.А. Пискунов, С.В. Сенников и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2011. – Т. 31, № 6. – С. 69–72.  
Andreichikova, E.A., Piskunov, A.A., Sennikov, S.V., et al.  
"Comparative aspects of allelic polymorphism of IL-4 in the indigenous and alien residents of the Republic of Khakassia, patients with allergic asthma." Bulletin SB RAMS 6.31 (2011): 69–72.
14. Afzali, B., Lombardi, G., Lechler, R., et al.  
"The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease." Clin Exp Immunol 148.1 (2007): 32–46.  
DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03356.x
15. Saijo, Y., Sata, F., Yamada, H., et al.  
"Interleukin-4 gene polymorphism is not involved in the risk of recurrent pregnancy loss." Am J Reprod Immunol 52.2 (2004): 143–6.
16. Tavasolian, F., Abdollahi, E., Samadi, M.  
"Association of the IL4R single-nucleotide polymorphism I50V with recurrent spontaneous abortion (RSA)." J Assist Reprod Genet 31.7 (2014): 851–856.  
DOI: 10.1007/s10815-014-0234-z
17. Escamilla-Tilch, M., Estrada-García, I., Granados, J., et al.  
"Lack of Association of the Polymorphisms IL-17A (-197G/A) and IL-17F (+7488A/G) with Multibacillary Leprosy in Mexican Patients." International Journal of Genomics Volume 5 (2014). DOI: 10.1155/2014/920491

## ROLE OF GENE POLYMORPHISM OF IL-4 AND IL-17 IN RECURRENT MISCARRIAGE, CAME IN ART CYCLES

**K. P. Golovatyuk**, PhD, assistant at the department of reconstructive and regenerative medicine with reproductive course, Odessa National Medical University, chief medical officer of LLC Medical Center of Reproductive Health Protection "Gamete", Odessa

Most researchers suggest that more than 50% of pregnant women after use of assisted reproductive technologies (ART) are faced with the problem of miscarriage, especially in the first trimester.

The aim of the study was to investigate the frequency of genotypes and allelic variants of the IL-4 (S589T and S33T), IL-4R (Q576R), IL-17A (G197A) and IL-17F (488T/C) genes, depending on the reproductive status and assessment of their association with recurrent miscarriage, which occurred in ART cycles.

Peripheral blood of 240 patients – the eastern Slav with habitual miscarriage, came in ART cycles, and 100 apparently healthy fertile women in the control group with a history of at least one term delivery and lack of spontaneous abortion episodes was studied. The groups were representative of age.

DNA for molecular genetic studies of nuclei isolated from peripheral blood lymphocytes. The method is based on the destruction of lymphocytes using lysis buffer without affecting the integrity of the membranes of lymphocytes nuclei. For typing single nucleotide polymorphisms of IL-4 immune response, IL-4R, IL-17A and IL-17F using polymerase chain reaction product with the melting reaction in the presence of "adjacent" oligonucleotides.

It was found that the genotype CT<sup>33</sup> (OR 3.99; 95% CI 2.42–6.57) and CT<sup>S89</sup> (OR 3.99; 95% CI 2.42–6.57) gene IL-4; genotype GG<sup>576</sup> (OR 5.95; 95% CI 1.39–25.58) gene IL-4R and TT<sup>488</sup> genotype (OR 2.33; 95% CI 1.39–3.91) and CC<sup>688</sup> (OR 2.27; 95% CI 0.76–6.84) IL-17F gene were associated with a significant increase in the risk of miscarriage. On the other hand, no significant differences were found between the control group and the basic frequency of polymorphisms IL-17A-G197A (rs227593).

The results of the molecular-genetic typing it possible to identify in the Eastern Slavic population of residents of Odessa region of Ukraine immunogenetic markers of susceptibility/resistance to the development of recurrent miscarriage. It is shown that cytokine gene typing can be used as a method of early diagnosis and pregravid prognosis of immune forms of reproductive loss in women.

**Keywords:** assisted reproductive technology, recurrent miscarriage, typing of cytokine genes, IL-4, IL-4R, IL-17A, IL-17F, gene polymorphism.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL-4 І IL-17 В ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ, НАСТУПИВШЕЙ В ЦИКЛАХ ВРТ

**Е.П. Головатюк**, к. мед. н., ассистент кафедры реконструктивной и восстановительной медицины с курсом репродуктологии ОНМедУ, главврач Медицинского центра репродуктивного здоровья «Гамета», г. Одесса

Большинство исследователей подтверждает, что свыше 50% беременных после применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) сталкиваются с проблемой невынашивания беременности, особенно в первом триместре.

Целью исследования стало изучение частоты встречаемости генотипов и аллельных вариантов IL-4 (C589T и C33T), IL-4R (Q576R), IL-17A (G197A) и IL-17F (488T/C) генов в зависимости от репродуктивного статуса и оценка их ассоциативной связи с привычным невынашиванием беременности, которая наступила в циклах ВРТ.

Была исследована периферическая кровь 240 пациенток – восточных славянок с привычным невынашиванием беременности, наступившей в циклах ВРТ, и 100 условно здоровых фертильных женщин контрольной группы с наличием в анамнезе хотя бы одних срочных родов и отсутствием эпизодов самопроизвольного прерывания беременности. Группы были репрезентативны по возрасту.

ДНК для проведения молекулярно-генетических исследований выделяли из ядер лимфоцитов периферической крови. Метод основан на разрушении лимфоцитов с помощью лизирующего буфера, не влияющего на целостность мембран ядер лимфоцитов. Для типирования однонуклеотидных полиморфизмов генов иммунного ответа IL-4, IL-4R, IL-17A и IL-17F использовали метод полимеразной цепной реакции с плавлением продуктов реакции в присутствии «примыкающих» олигонуклеотидов.

Установлено, что генотип CT<sup>33</sup> (ОР 3,99; 95% ДИ 2,42–6,57) и CT<sup>S89</sup> (ОР 3,99; 95% ДИ 2,42–6,57) гена IL-4; генотип GG<sup>576</sup> (ОР 5,95; 95% ДИ 1,39–25,58) гена IL-4R и генотипы TT<sup>488</sup> (ОР 2,33; 95% ДИ 1,39–3,91) и CC<sup>688</sup> (ОР 2,27; 95% ДИ 0,76–6,84) гена IL-17F были ассоциированы с достоверным увеличением риска невынашивания беременности. С другой стороны, не найдены достоверные различия между основной и контрольной группой по частоте полиморфизмов IL-17A-G197A (rs227593).

Результаты проведенного молекулярно-генетического типирования позволили выделить в восточнославянской популяции жительниц Одесской области Украины маркеры иммуногенетической предрасположенности/резистентности к развитию привычного невынашивания беременности. Показано, что типирование генов цитокинов может быть использовано как один из методов ранней диагностики и прегравидарного прогнозирования иммунных форм репродуктивных потерь у женщин.

**Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии, привычное невынашивание беременности, типирование генов цитокинов, IL-4, IL-4R, IL-17A, IL-17F, полиморфизм генов.

## РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ IL-4 ТА IL-17 У ЗВИЧНОМУ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ, ЯКА НАСТАЛА В ЦИКЛАХ ДРТ

**К.П. Головатюк**, к. мед. н., ассистент кафедры реконструктивной та відновлювальної медицини з курсом репродуктології ОНМедУ, головний лікар Медичного центру репродуктивного здоров'я «Гамета», м. Одеса

Більшість дослідників підтверджують, що понад 50% вагітних після застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) стикаються з проблемою невиношування вагітності, особливо в першому триместрі.

Метою дослідження стало вивчення частоти генотипів і алельних варіантів IL-4 (C589T і C33T), IL-4R (Q576R), IL-17A (G197A) і IL-17F (488T/C) генів в залежності від репродуктивного статусу і оцінка їхнього асоціативного зв'язку зі звичним невиношуванням вагітності, яка настала в циклах ДРТ.

Була досліджена периферична кров 240 пацієнок – східних слов'янок зі звичним невиношуванням вагітності, що настала в циклах ДРТ, і 100 умовно здорових фертильних жінок контрольної групи з наявністю в анамнезі хоча б одних термінових пологів і відсутністю епізодів самовільного переривання вагітності. Групи були репрезентативні за віком.

ДНК для проведення молекулярно-генетичних досліджень виділяли з ядер лімфоцитів периферичної крові. Метод заснований на руйнуванні лімфоцитів за допомогою лізуючого буфера, що не впливає на цілісність мембран ядер лімфоцитів. Для типування однонуклеотидних поліморфізмів генів імунної відповіді IL-4, IL-4R, IL-17A і IL-17F використовували метод полімеразної ланцюгової реакції з плавленням продуктів реакції в присутності «дотичних» олігонуклеотидів.

Встановлено, що генотип CT<sup>33</sup> (ВР 3,99; 95% ДІ 2,42–6,57) і CT<sup>S89</sup> (ВР 3,99; 95% ДІ 2,42–6,57) гена IL-4; генотип GG<sup>576</sup> (ВР 5,95; 95% ДІ 1,39–25,58) гена IL-4R і генотипи TT<sup>488</sup> (ВР 2,33; 95% ДІ 1,39–3,91) і CC<sup>688</sup> (ВР 2,27; 95% ДІ 0,76–6,84) гена IL-17F були асоційовані з достовірним збільшенням ризику невиношування вагітності. З іншого боку, не знайдені достовірні відмінності між основною і контрольною групою за частотою поліморфізмів IL-17A-G197A (rs227593).

Результати проведеного молекулярно-генетичного типування дозволили виділити в східнослов'янській популяції мешканок Одеської області України маркери імунногенетичної схильності/резистентності до розвитку звичного невиношування вагітності. Показано, що типування генів цитокинів може бути використано як один із методів ранньої діагностики і прегравидарного прогнозування імунних форм репродуктивних втрат у жінок.

**Ключові слова:** допоміжні репродуктивні технології, звичне невиношування вагітності, типування генів цитокинів, IL-4, IL-4R, IL-17A, IL-17F, поліморфізм генів.