



Оригинальная статья

Ассоциация генетических маркеров целиакии с репродуктивными нарушениями

Минайчева Л.И.¹ • Брагина Е.Ю.¹ • Жалсанова И.Ж.¹ • Чеснокова Н.А.¹ • Марусин А.В.¹

Минайчева Лариса Ивановна – д-р мед. наук, врач-генетик, медико-генетический центр¹

✉ 634040, г. Томск, ул. Московский тракт, 3, Российская Федерация.
Тел.: +7 (913) 864 61 71.
E-mail: larisa.minaycheva@medgenetics.ru

Брагина Елена Юрьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории популяционной генетики¹

Жалсанова Ирина Жаргаловна – аспирант лаборатории популяционной генетики¹

Чеснокова Наталья Александровна – ординатор¹

Марусин Андрей Викторович – канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории эволюционной генетики¹

Обоснование. Многочисленные исследования показали связь генов, вовлеченных в иммунный ответ, с бесплодием и невынашиванием беременности. Наиболее значимые ассоциации установлены для генов цитокинов (*IL1B*, *IL6*, *IL10*, *IL18*), хемокинов (*CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL11*), генов главного комплекса гистосовместимости HLA II класса (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*). Гены HLA ассоциированы с целиакией, генетически детерминированным аутоиммунным заболеванием, одним из симптомов которого является нарушение репродуктивной функции у мужчин и женщин. **Цель** – оценить распространенность полиморфных вариантов генов иммунного ответа (HLA: *DQA1*, *DQB1*, *DRB1*; *TNF*, *IL10*, *CXCL10*) у пациентов с нарушением репродуктивной функции. **Материал и методы.** В пилотном исследовании изучен полиморфизм генов *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624), HLA II класса (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*) у семейных пар (n = 220) с репродуктивными нарушениями (бесплодие и невынашивание беременности). Генотипирование осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (реал-тайм ПЦР) и рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПЦР-ПДРФ). Для сравнения использовали популяционные данные о генотипах и аллелях по исследуемым вариантам генов *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624). Различия в распространенности аллелей и генотипов

оценивали с помощью χ^2 теста. Достигнутый уровень значимости различий считали при $p < 0,05$. Гаплотипическое разнообразие рассчитывали с помощью программы Arlequin, версия 3.5.x. **Результаты.** Наблюдали значительное перераспределение генотипов и аллелей по варианту гена *TNF* (rs1800629) у мужчин с нарушениями функций репродукции по сравнению с популяционными данными. Для других изученных вариантов генов различий не обнаружено. В исследуемой выборке частота гаплотипов генов HLA II класса (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*), связанных с целиакией (*DQ2* и *DQ8*), составила 23,8%. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о важной роли генов, связанных с целиакией, в развитии нарушений репродукции.

Ключевые слова: репродуктивная функция, невынашивание беременности, бесплодие, целиакия, гены иммунного ответа, полиморфизм

Для цитирования: Минайчева ЛИ, Брагина ЕЮ, Жалсанова ИЖ, Чеснокова НА, Марусин АВ. Ассоциация генетических маркеров целиакии с репродуктивными нарушениями. Альманах клинической медицины. 2019;47(1):72–82. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-006.

Поступила 04.11.2018; принята к публикации 31.01.2019; опубликована 15.02.2019

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики (НИИ медицинской генетики) ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; 634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10, Российская Федерация



Бесплодие диагностируется у 6–17% супружеских пар и представляет собой серьезную клиническую и социальную проблему [1]. Уровень распространенности и структура причин бесплодия значительно различаются в развитых странах и в развивающихся регионах мира. По данным Росстата, в нашей стране отмечается рост этой патологии. Так, в 2017 г. по результатам анализа заболеваемости показатель бесплодия (впервые выявленного) у женщин составил 278,8 (на 100 000 женщин в возрасте от 18 до 49 лет), в то время как в 2005 г. он был на уровне 146,6 [2]. Невынашивание беременности – одно из частых событий, которым заканчивается от 15 до 25% случаев всех беременностей и которое регистрируется у 5% супружеских пар [3, 4]. В настоящее время не существует надежных методов оценки степени риска этого серьезного осложнения.

К основным причинам, приводящим к бесплодию и невынашиванию беременности, относятся структурные аномалии репродуктивных органов, хронический эндометриоз, возраст матери, злоупотребление алкоголем, курение, гормональные и иммунологические нарушения, психоэмоциональное состояние, мужской фактор, а также генетические причины. Среди генетических факторов повторных потерь беременности весомая доля (от 50 до 70%) принадлежит хромосомным аномалиям одного из партнеров [5, 6].

Несомненно, успешная беременность зависит от иммунного баланса. Во время беременности преобладает субпопуляция цитокинов Th2-типа. Они индуцируют иммунную толерантность матери к плоду как к аллотрансплантату, тем самым обеспечивая успешную имплантацию и репродуктивные результаты. Сдвиг в сторону цитокинов Th1-типа приводит к иммунному дисбалансу, в результате которого значительно возрастает риск потери беременности [7]. В этой связи важная роль отводится исследованию генетической предрасположенности, обусловленной влиянием функционально ослабленных вариантов генов, вовлеченных прежде всего в иммунный ответ, а также в процессы коагуляции, обмена веществ и ангиогенез [8]. Наиболее выраженные ассоциации, регистрируемые в разных популяциях, установлены для генов главного комплекса тканевой совместимости человека (HLA), фенотипирование которых получило широкое применение в клинической практике, генов цитокинов, включая *IL1B*, *IL6*, *IL10*, *IL18*, и многих других генов, необходимых для успешной имплантации эмбриона и поддержания активности Th2-клеток [3, 9,

10]. Однако после полного скрининга известных этиологических или предрасполагающих факторов примерно в 40% всех случаев привычного невынашивания причина этого состояния остается неизвестной [11].

В нескольких исследованиях установлено влияние заболеваний кишечника на дисфункцию репродуктивной системы [12, 13]. Целиакия, будучи наиболее изученной среди этих патологий, может стать интересной моделью для исследования нарушений функции репродуктивной системы. Целиакия – хроническое генетически детерминированное аутоиммунное заболевание, характеризующееся иммунопатологическими нарушениями слизистой оболочки тонкой кишки. Репродуктивные расстройства при целиакии относят к атипичному течению заболевания, когда гастроинтестинальные симптомы отсутствуют. Для этой формы целиакии характерны бесплодие, спонтанные аборт, привычное невынашивание беременности у женщин, вторичное бесплодие у мужчин [14, 15]. Предполагается, что способность антител классов IgA и IgG к тканевой трансглутаминазе нарушать инвазивность трофобласта и дифференцировку эндотелиальных клеток эндометрия лежит в основе неудач ранней плацентации при целиакии [12].

Гены HLA в значительной степени ассоциированы с развитием целиакии. Так, у 90% пациентов выявляют гаплотипы DQ2 (DQA1*0501-DQB1*0201) и DQ8 (DQA1*0301-DQB1*0302) [16, 17]. Наличие рисков для целиакии аллелей HLA не объясняет полностью генетическую составляющую заболевания. Получены убедительные данные об ассоциации полиморфных вариантов генов *IL10*, *TNFA* с подверженностью целиакии [18–20]. В ряде работ обнаружена важная роль генов хемокинов (*CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL11*) в развитии воспаления при целиакии [21, 22]. У женщин с целиакией отмечен высокий риск развития репродуктивных нарушений по сравнению с общей популяцией [23, 24]. У мужчин с целиакией также выявляются фертильные проблемы, включая андрогенную резистентность, снижение подвижности сперматозоидов [25, 26], недостаточность минералов и витаминов [27–29]. Анализ данных литературы показал противоречивость полученных результатов. В недавнем масштабном исследовании не было обнаружено снижения репродуктивной функции у пациенток с диагностированной целиакией, в то же время наблюдается значительное снижение фертильности до установления диагноза аутоиммунного заболевания [30]. Возможно, различия в результатах проведенных

**Таблица 1.** Последовательности праймеров для генотипирования полиморфных вариантов генов *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624)

Ген	Полиморфизм	Метод генотипирования	Последовательности праймеров	Эндонуклеаза и фрагменты рестрикции, п.о.
<i>IL10</i>	rs1800872	ПЦР-ПДРФ	F: 5'-ggtcacgtgagcactacct R: 5'-aaaaagttgattctctgggg	Rsa I A: 311+182; C: 493
<i>TNF</i>	rs1800629	ПЦР в режиме реального времени	F: gaaatggaggcaatagttttgag R: ggcaactgactgattgtgtgtag FAM: ccgtcctcatgcc-RTQ1 ROX: ccgtcccatgcc - BHQ2	–
<i>CXCL10</i>	rs4386624	ПЦР в режиме реального времени	F: gtaggaactccatcattaagcaga R: tctacctcacctcctctctttt FAM: tctagcaaattgcattaccaccaagcaa HEX: tctagcaaattccattaccaccaagcaa	–

ПЦР – полимеразная цепная реакция, ПЦР-ПДРФ – полимеразная цепная реакция с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов

Использовали последовательности праймеров из опубликованных источников [33, 34]. F (forward) – прямой праймер, R (reverse) – обратный праймер. FAM, ROX, HEX – флуоресцентные красители для детекции ПЦР-продукта

исследований обусловлены тем, что последствия, связанные с репродуктивной дисфункцией, как у мужчин с целиакией, так и у женщин успешно корректируются с помощью безглютеновой диеты [31, 32]. Не исключено, что генетические причины, предрасполагающие к целиакии, играют важную роль в снижении фертильности.

Цель – изучить распространенность полиморфных вариантов генов *TNF*, *IL10*, *CXCL10*, HLA: *DQA1*, *DQB1*, *DRB1* у пациентов с нарушением репродуктивной функции.

Материал и методы

В работе изучен полиморфизм генов, для которых ранее установлен высокий прогностический потенциал в отношении целиакии, включая *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), HLA II класса (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*), а также вариант гена *CXCL10* (rs4386624) [14, 15, 18–22]. Исследование носит пилотный характер. Генотипирование выполнено у 110 семейных пар с нарушениями репродуктивной функции (220 человек), обратившихся в генетическую клинику НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ в период с декабря 2014 по апрель 2018 года. Критериями включения в исследование были диагнозы «бесплодие» и «невынашивание беременности» (все случаи подтверждены медицинскими документами: выписками из стационаров и протоколами ультразвукового

исследования). Средний возраст женщин (\pm стандартное отклонение) составил $32,25 \pm 4,6$ года, мужчин – $34,94 \pm 6,49$ года. Все пациенты подписали информированное согласие об участии в исследовании.

Забор образцов крови, сбор данных анамнеза, формирование групп исследования проводились сотрудниками генетической клиники НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Из анализа исключены индивидуумы с экстрагенитальной патологией: диабетом, заболеваниями щитовидной железы, аутоиммунными заболеваниями, а также с хромосомными нарушениями и женщины с пороками развития половой системы (врожденные пороки развития матки).

Для молекулярно-генетического исследования использовали образцы ДНК, экстрагированные из лейкоцитов периферической крови с помощью фенол-хлороформного метода. Генотипирование полиморфных вариантов генов выполнено с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (реал-тайм ПЦР), а также метода полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ анализ). Структура праймеров представлена в табл. 1. Для сравнения использовали данные о частотах генотипов и аллелей исследуемых вариантов генов (*IL10* (rs1800872), *TNF*



Таблица 2. Частоты аллелей и генотипов *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624) в группе супружеских пар с репродуктивной дисфункцией

Ген	Полиморфизм	Генотипы	Семьи, n (%)	Популяция, n (%)	Критерий χ^2 (значение <i>p</i>)	
					*	**
<i>IL10</i>	1800872	CC	105 (53,8)	63 (63,6)	2,5761 (0,2758)	1,8312 (0,1759)
		CA	78 (40,0)	31 (31,3)		
		AA	12 (6,2)	5 (5,1)		
		Аллель А, %	26,2	20,7		
<i>TNF</i>	1800629	GG	168 (79,6)	64 (64,7)	8,0824 (0,0176)	6,3912 (0,0115)
		GA	40 (19)	33 (33,3)		
		AA	3 (1,4)	2 (2,0)		
		Аллель А, %	10,9	18,6		
<i>CXCL10</i>	4386624	CC	31 (15,0)	22 (22,2)	3,2798 (0,1939)	0,2412 (0,6233)
		CG	118 (57,0)	47 (47,5)		
		GG	58 (28,0)	30 (30,3)		
		Аллель G, %	43,5	45,9		

p – уровень значимости достигнутых различий при сравнении двух выборок: * при сравнении по частотам генотипов; ** при сравнении по частотам аллелей

(rs1800629), *CXCL10* (rs4386624) популяционной выборки из проекта «1000 геномов» (данные по распространенности частот у американцев северо- и западноевропейского происхождения (штат Юта, США)). Типирование специфичностей генов HLA II класса (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*) осуществляли с помощью коммерческих наборов производства ООО «ДНК-технология» (Москва). Согласно инструкции производителя в работе выявляли следующие группы аллелей для гена *DRB1*: *01, *03, *04, *07, *08, *09, *10, *11, *12, *13, *14, *15, *16; для гена *DQB1*: *02, *0301, *0302, *0303, *0304, *0305, *0401/*0402, *0501, *0502/*0504, *0503, *0601, *0602-8; для гена *DQA1*: *0201, *0101, *0102, *0103, *0301, *0401, *0501, *0601.

Проведение исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (регистрационный номер 79, протокол № 3 от 27.11.2014).

Статистический анализ. Различия в распространенности аллелей и генотипов оценивали с помощью χ^2 теста. Достигнутый уровень значимости различий считали при $p < 0,05$. Для расчетов использовали онлайн программу <https://www.socscistatistics.com>. Отношение шансов и доверительный интервал рассчитывали с помощью онлайн калькулятора (<http://vassarstats.net/odds2x2>).

Распространенность гаплотипов генов HLA II класса оценена в программе Arlequin, версия 3.5.x [35].

Результаты

В изученной группе супружеских пар с нарушениями репродуктивной функции наблюдали значительное перераспределение генотипов и аллелей по варианту гена *TNF* rs1800629 по сравнению с популяцией (табл. 2). Частота генотипа GG среди супружеских пар составила 79,6%, что значительно превышает популяционную распространенность – 64,7% ($p = 0,0176$).

При сравнении подгруппы женщин с популяционной выборкой не наблюдали значимых различий ни для одного из изученных полиморфных вариантов генов цитокинов (табл. 3).

Значительные различия были получены при сравнении подгруппы мужчин с частотами генотипов и аллелей популяционной группы для гена *TNF* (rs1800629) (табл. 4). У мужчин наблюдается преобладание гомозигот по аллелю G*rs1800629 (82,7%, $p = 0,0049$), а также снижение частоты гетерозигот (17,3%) по сравнению с популяцией (33,3%, $p = 0,0086$).

Преобладающими гаплотипами по генам HLA II класса в исследуемой выборке были

**Таблица 3.** Частоты аллелей и генотипов *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624) у женщин с нарушением репродуктивных функций

Ген	Полиморфизм	Генотипы	Женщины, n (%)	Популяция, n (%)	Критерий χ^2 (значение <i>p</i>)	
					*	**
<i>IL10</i>	1800872	CC	52 (53,1)	63 (63,6)	2,2789 (0,3199)	1,5436 (0,2141)
		CA	40 (40,8)	31 (31,1)		
		AA	6 (6,1)	5 (5,1)		
		Аллель А, %	26,5	20,7		
<i>TNF</i>	rs1800629	GG	82 (76,6)	64 (64,7)	4,3150 (0,1156)	2,0262 (0,1546)
		GA	22 (20,6)	33 (33,3)		
		AA	3 (2,8)	2 (2,0)		
		Аллель А, %	13,1	18,6		
<i>CXCL10</i>	rs4386624	CC	23 (22,1)	22 (22,2)	5,3236 (0,0698)	0,0036 (0,9518)
		CG	66 (63,5)	47 (47,5)		
		GG	15 (14,4)	30 (30,3)		
		Аллель G, %	46,2	45,9		

p – уровень значимости достигнутых различий при сравнении двух выборок: * при сравнении по частотам генотипов; ** при сравнении по частотам аллелей

Таблица 4. Частоты аллелей и генотипов *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624) у мужчин с нарушением репродуктивных функций

Ген	Полиморфизм	Генотипы	Мужчины, n (%)	Популяция, n (%)	Критерий χ^2 (значение <i>p</i>)	
					*	**
<i>IL10</i>	1800872	CC	52 (53,6)	63 (63,6)	2,0754 (0,3542)	1,6901 (0,1936)
		CA	38 (39,2)	31 (31,3)		
		AA	7 (7,2)	5 (5,1)		
		Аллель А, %	26,8	20,7		
<i>TNF</i>	rs1800629	GG	86 (82,7)	64 (64,7)	9,5210 (0,0086)	7,8830 (0,0049)
		GA	18 (17,3)	33 (33,3)		
		AA	0 (0)	2 (2,0)		
		Аллель А, %	9,5	18,6		
<i>CXCL10</i>	rs4386624	CC	35 (34)	22 (22,2)	1,5059 (0,4709)	0,9035 (0,3418)
		CG	52 (50,5)	47 (47,5)		
		GG	16 (15,5)	30 (30,3)		
		Аллель G, %	40,8	45,9		

p – уровень значимости достигнутых различий при сравнении двух выборок: * при сравнении по частотам генотипов; ** при сравнении по частотам аллелей



DQA1*0501-DQB1*0301-DRB1*11(05) (12%), а также гаплотипы, связанные с целиакией (DQ2 и DQ8), суммарная частота которых составила 23,8% (табл. 5).

Обсуждение

Основываясь на данных литературы о том, что возможным фактором бесплодия выступают латентные формы целиакии, как у женщин, так и у мужчин, в настоящем исследовании у семейных пар, наблюдающихся по поводу нарушения репродуктивной функции, мы изучили полиморфные варианты генов, наиболее значимые для развития целиакии [23, 24, 27–29].

В результате проведенного анализа выявлена ассоциация полиморфизма гена *TNF* (rs1800629) с нарушением репродукции. Ассоциации полиморфизма гена *TNF* в развитии аутоиммунного процесса при целиакии изучали во многих работах. Согласно данным последнего метаанализа, для полиморфизма rs1800629 установлено: риск развития целиакии связан с аллелем А ($p=0,001$; отношение шансов (ОШ) 2,051, 95% доверительный интервал (ДИ) 1,452–2,895) [36]. Мы предполагали, что рискованные аллели в отношении целиакии будут ассоциированы с нарушениями репродуктивных функций, однако в нашей работе рисковым относительно репродуктивных дисфункций у мужчин оказался другой аллель – G* rs1800629 ($p=0,0031$; ОШ 2,43, 95% ДИ 1,28–4,63), а также гомозиготный генотип GG ($p=0,0034$; ОШ 2,61, 95% ДИ 1,3–5,3). Изученный полиморфизм связывают с изменениями транскрипционной активности гена у носителей разных вариантов аллелей. По сравнению с аллелем G* rs1800629 гена *TNF* аллель A* rs1800629 имеет более высокую транскрипционную активность и часто связан с аутоиммунными заболеваниями [37]. Фактор некроза опухоли альфа представляет собой мощный провоспалительный и иммунорегуляторный цитокин, который, опосредуя цитокиновый каскад, вызывает воспаление, регулирует дифференциацию, пролиферацию и гибель клеток [38]. Ген *TNF* имеет тесную связь с генами HLA I и II класса [39]. Расположение гена в основном комплексе гистосовместимости и предполагаемое влияние полиморфизма гена *TNF* (rs1800629) на промоторную активность повышают вероятность того, что этот полиморфизм может оказывать воздействие на иммунологический гомеостаз и способствовать нарушениям репродуктивной функции. Несмотря на то что в исследуемой выборке эта зависимость наблюдалась исключительно у мужчин (см. табл. 4), эти данные позволяют предположить важное значение

Таблица 5. Распространенность предрасполагающих к целиакии гаплотипов HLA *DQA1-DQB1* среди пар с нарушениями репродуктивной функции

<i>DQA1</i>	<i>DQB1</i>	Тип	Частота гаплотипа
*0301	*0302	DQ8	5,4
*0201	*02	DQ2	10,7
*0501	*02	DQ2	7,7
Всего			23,8

данного гена в нарушении репродукции. Как показано в эксперименте на животных моделях, нокаут гена *TNF* значительно влияет на концентрацию сперматозоидов [40]. Кроме того, отмечается снижение плодовитости мышей за счет увеличения доимплантационных потерь у нокаутированных *TNF*^{-/-} животных [41]. Некоторые исследователи отмечают: подвижность и морфология сперматозоидов связаны с уровнем TNFA [42, 43], а также с функциональным полиморфизмом гена *TNF* (rs1800629) [44, 45]. В семенниках рецепторы *TNF* (p55) присутствуют в клетках Сертоли и Лейдига [46], что позволяет TNFA влиять на их функции.

Несмотря на то что в нашем исследовании не выявлено ассоциаций с репродуктивной дисфункцией у женщин, в литературе есть данные о связи полиморфизма гена *TNF* (rs1800629) у женщин монголоидной популяции с привычным невынашиванием беременности [47]. Другие полиморфные варианты этого гена также имеют высокий потенциал, связанный с нарушениями фертильности у женщин. Варианты гена *TNF* -1031T>C и -238G>A способствуют увеличению риска повторных спонтанных аборт [48]. Продукция *TNF* в периферической крови и децидуальных тканях у пациенток с привычным невынашиванием беременности значительно выше, чем в группе контроля. У пациенток, перенесших спонтанный аборт дважды, уровень *TNF* был сходным с таковым у женщин с тремя спонтанными абортами в анамнезе, но был значительно ниже, чем у пациенток, перенесших спонтанный аборт более трех раз. Уровень *TNF* у пациенток, впервые перенесших спонтанный аборт, был статистически значимо ниже, чем у женщин с двумя спонтанными абортами в анамнезе [49].

Оценка частот гаплотипов генов HLA II класса показала, что в исследуемой выборке распространены гаплотипы, связанные с целиакией. Так, частота гаплотипов DQ2 и DQ8 составила 23,8% (см. табл. 5). Частота данных гаплотипов, несомненно, была значительно ниже в исследуемой выборке по сравнению с пациентами с целиакией, где она



превышает 90% [50]. Вместе с тем этот показатель в исследованной выборке был значимым.

Система HLA – важный фактор направленности в выборе половых партнеров [51, 52]. Отмечается, что гомозиготность по гену *HLA DRB1* связана с неблагоприятным прогнозом в отношении репродуктивного успеха [53]. Большинство работ, связанных с HLA генами, касаются определения совпадения аллелей между супругами. Тем не менее к настоящему времени накоплены сведения о связи аутоиммунных процессов, в основе которых лежит дефект в генах HLA, с нарушением репродуктивной функции. Выдвигается гипотеза, согласно которой бесплодие может быть вторично по отношению к аутоиммунному заболеванию [54]. Полученные данные о распространенности аллелей риска целиакии среди супружеских пар позволяют предположить недостаточное обследование супружеских пар на наличие патологий аутоиммунного характера или атипичное либо бессимптомное течение заболевания как одну из причин нарушения репродукции.

Стоит отметить, что настоящее исследование носит пилотный характер и имеет ряд ограничений. В частности, не была предусмотрена контрольная группа без репродуктивных нарушений, для сравнения использовали популяционные данные по индивидам, проживающим в ином географическом регионе, чем пациенты основной группы.

На современном этапе исследования репродуктивных дисфункций еще только накапливается материал о выявлении латентных и скрытых форм целиакии у пациентов с нарушением

фертильности и акушерскими осложнениями. Проведенный анализ показал достаточно высокую распространенность аллелей HLA (DQ2 и DQ8), связанных с целиакией, среди семейных пар с нарушениями репродукции. Исходя из этого, следует предположить, что проблемы невынашивания отчасти могут быть связаны с субклиническим течением аутоиммунного заболевания. Имея в виду ограничения выполненной работы, для подтверждения данной гипотезы необходимо проведение дальнейшего исследования в более многочисленной выборке пациентов с репродуктивными нарушениями, которое будет направлено в том числе на тщательный анализ сопутствующей патологии и данных катамнеза.

Заключение

В результате исследования генетических маркеров целиакии среди супружеских пар с репродуктивной дисфункцией установлена ассоциация полиморфизма гена *TNF* (rs1800629) у мужчин, показана высокая распространенность аллелей, предрасполагающих к аутоиммунному воспалительному заболеванию (DQ2 и DQ8), что предполагает наличие связи субклинического течения целиакии с нарушением репродукции. Учитывая вышеизложенное, дальнейшее исследование генетического аспекта целиакии в контексте невынашивания беременности и бесплодия представляется перспективным направлением, поскольку диагностика аутоиммунных состояний с последующей их коррекцией, возможно, позволит снизить частоту репродуктивных неудач. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена в рамках выполнения Государственного задания Министерства науки и высшего образования № 075-00603-19-00 (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Л.И. Миняйчева и Е.Ю. Брагина – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; И.Ж. Жалсанова и Н.А. Чеснокова – молекулярно-генетический анализ, интерпретация полученных данных, обсуждение и написание текста; А.В. Марусин – обсуждение дизайна исследования, статистическая обработка и интерпретация полученных данных, написание текста. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Литература

1. Паскарь СС, Боярский КЮ. Эпидемиологические аспекты бесплодного брака (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2017;23(5):23–6. doi: 10.17116/repro201723523-26.
2. Здравоохранение в России. 2017: Статистический сборник. М.: Росстат; 2017. 170 с.
3. El Hachem H, Crepau V, May-Panloup P, Des-camps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. Int J Womens Health. 2017;9:331–45. doi: 10.2147/IJWH.S100817.
4. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril. 2012;98(5):1103–11. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.048.
5. Gupta B, Singh P. The evolving role of genetics in recurrent pregnancy loss. In: Mehta S, Gupta B, editors. Recurrent pregnancy loss. Singapore: Springer; 2018. p. 67–77.
6. Robberecht C, Pexsters A, Deprest J, Frys JP, D'Hooghe T, Vermeesch JR. Cyto-



- genetic and morphological analysis of early products of conception following hystero-embryoscopy from couples with recurrent pregnancy loss. *Prenat Diagn.* 2012;32(10):933–42. doi: 10.1002/pd.3936.
7. Tur-Torres MH, Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Genetics of recurrent miscarriage and fetal loss. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017;42:11–25. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.03.007.
 8. Баранов ВС, ред. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Н-Л; 2009. 528 с.
 9. Perez N, Ostojic S, Kapovic M, Peterlin B. Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril.* 2017;107(1):150–9.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.007.
 10. Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet.* 2017;91(2):265–84. doi: 10.1111/cge.12910.
 11. Tersigni C, D'Ippolito S, Di Nicuolo F, Marana R, Valenza V, Masciullo V, Scaldaferrì F, Malattaca F, de Waure C, Gasbarrini A, Scambia G, Di Simone N. Recurrent pregnancy loss is associated to leaky gut: a novel pathogenic model of endometrium inflammation? *J Transl Med.* 2018;16(1):102. doi: 10.1186/s12967-018-1482-y.
 12. D'Ippolito S, Gasbarrini A, Castellani R, Rocchetti S, Sisti LG, Scambia G, Di Simone N. Human leukocyte antigen (HLA) DQ2/DQ8 prevalence in recurrent pregnancy loss women. *Autoimmun Rev.* 2016;15(7):638–43. doi: 10.1016/j.autrev.2016.02.009.
 13. Saccone G, Berghella V, Sarno L, Maruotti GM, Cetin I, Greco L, Khashan AS, McCarthy F, Martinelli D, Fortunato F, Martinelli P. Celiac disease and obstetric complications: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(2):225–34. doi: 10.1016/j.ajog.2015.09.080.
 14. Лазебник ЛБ, Ткаченко ЕИ, Орешко ЛС, Ситкин СИ, Карпов АА, Немцов ВИ, Осипенко МФ, Радченко ВГ, Федоров ЕД, Медведева ОИ, Селиверстов ПВ, Соловьева ЕА, Шабанова АА, Журавлева МС. Рекомендации по диагностике и лечению целиакии взрослых. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015;(5):3–12.
 15. Admou B, Essaadouni L, Krati K, Zaher K, Sbihi M, Chabaa L, Belaabidia B, Alaoui-Yazidi A. Atypical celiac disease: from recognizing to managing. *Gastroenterol Res Pract.* 2012;2012:637187. doi: 10.1155/2012/637187.
 16. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology.* 1993;105(3):910–22. doi: 10.1016/0016-5085(93)90912-V.
 17. Polvi A, Arranz E, Fernandez-Arquero M, Collin P, Mäki M, Sanz A, Calvo C, Maluenda C, Westman P, de la Concha EG, Partanen J. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol.* 1998;59(3):169–75. doi: 10.1016/S0198-8859(98)00008-1.
 18. Barisani D, Ceroni S, Meneveri R, Cesana BM, Bardella MT. IL-10 polymorphisms are associated with early-onset celiac disease and severe mucosal damage in patients of Caucasian origin. *Genet Med.* 2006;8(3):169–74. doi: 10.109701.gim.0000204464.87540.39.
 19. de la Concha EG, Fernández-Arquero M, Vigil P, Rubio A, Maluenda C, Polanco I, Fernandez C, Figueredo MA. Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. *Hum Immunol.* 2000;61(5):513–7. doi: 10.1016/S0198-8859(99)00187-1.
 20. Garrote JA, Arranz E, Tellería JJ, Castro J, Calvo C, Blanco-Quirós A. TNF alpha and LT alpha gene polymorphisms as additional markers of celiac disease susceptibility in a DQ2-positive population. *Immunogenetics.* 2002;54(8):551–5. doi: 10.1007/s00251-002-0498-9.
 21. Bondar C, Araya RE, Guzman L, Rua EC, Chopita N, Chirido FG. Role of CXCR3/CXCL10 axis in immune cell recruitment into the small intestine in celiac disease. *PLoS One.* 2014;9(2):e89068. doi: 10.1371/journal.pone.0089068.
 22. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Söderman J. Celiac disease biomarkers identified by transcriptome analysis of small intestinal biopsies. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(23):4385–401. doi: 10.1007/s00018-018-2898-5.
 23. Tersigni C, Castellani R, de Waure C, Fattorosi A, De Spirito M, Gasbarrini A, Scambia G, Di Simone N. Celiac disease and reproductive disorders: meta-analysis of epidemiologic associations and potential pathogenic mechanisms. *Hum Reprod Update.* 2014;20(4):582–93. doi: 10.1093/humupd/dmu007.
 24. Khashan AS, Henriksen TB, Mortensen PB, McNamee R, McCarthy FP, Pedersen MG, Kenny LC. The impact of maternal celiac disease on birthweight and preterm birth: a Danish population-based cohort study. *Hum Reprod.* 2010;25(2):528–34. doi: 10.1093/humrep/dep409.
 25. Farthing MJ, Rees LH, Edwards CR, Dawson AM. Male gonadal function in coeliac disease: 2. Sex hormones. *Gut.* 1983;24(2):127–35. doi: 10.1136/gut.24.2.127.
 26. Farthing MJ, Rees LH, Dawson AM. Male gonadal function in coeliac disease: III. Pituitary regulation. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1983;19(6):661–71. doi: 10.1111/j.1365-2265.1983.tb00043.x.
 27. Ebisch IM, Pierik FH, DE Jong FH, Thomas CM, Steegers-Theunissen RP. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? *Int J Androl.* 2006;29(2):339–45. doi: 10.1111/j.1365-2605.2005.00598.x.
 28. Wallock LM, Tamura T, Mayr CA, Johnston KE, Ames BN, Jacob RA. Low seminal plasma folate concentrations are associated with low sperm density and count in male smokers and non-smokers. *Fertil Steril.* 2001;75(2):252–9. doi: 10.1016/S0015-0282(00)01697-6.
 29. Ebisch IM, Thomas CM, Peters WH, Braat DD, Steegers-Theunissen RP. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update.* 2007;13(2):163–74. doi: 10.1093/humupd/dml054.
 30. Zugna D, Richiardi L, Akre O, Stephansson O, Ludvigsson JF. A nationwide population-based study to determine whether coeliac disease is associated with infertility. *Gut.* 2010;59(11):1471–5. doi: 10.1136/gut.2010.219030.
 31. Ciacci C, De Rosa A, de Michele G, Savino G, Squillante A, Iovino P, Sabbatini F, Mazzacca G. Sexual behaviour in untreated and treated coeliac patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1998;10(8):649–51.
 32. Kotze LM. Gynecologic and obstetric findings related to nutritional status and adherence to a gluten-free diet in Brazilian patients with celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2004;38(7):567–74. doi: 10.1097/O1.mcg.0000131720.90598.6a.
 33. Брагина ЕЮ, Фрейдин МБ, Бабушкина НП, Гараева АФ, Колоколова ОВ, Жалсанова ИЖ, Пузырев ВП. Анализ генов цитокиновой сети в развитии «обратной» коморбидности для бронхиальной астмы и туберкулеза. Медицинская генетика. 2017;16(1):20–4.
 34. Самгина ТА, Бушуева ОЮ, Иванов ВП, Солодилова МА, Назаренко ПМ, Полоников АВ. Связь промоторного полиморфизма -308G/A гена фактора некроза опухоли с тяжестью течения острого панкреатита у русской популяции жителей Курской области. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014;(9):17–20.
 35. Excoffier L, Lischer HE. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;10(3):564–7. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
 36. Khan S, Mandal RK, Jawed A, Dar SA, Wahid M, Panda AK, Areeshi MY, Ahmed Khan ME, Haque S. TNF- α -308 G>A (rs1800629) polymorphism is associated with celiac disease: A meta-analysis of 11 case-control studies. *Sci Rep.* 2016;6:32677. doi: 10.1038/srep32677.
 37. Fan W, Maoqing W, Wangyang C, Fulan H, Dandan L, Jiaojiao R, Xinshu D, Binbin C, Yashuang Z. Relationship between the polymorphism of tumor necrosis factor- α -308 G>A and susceptibility to inflammatory bowel diseases and colorectal cancer: a meta-analysis. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(4):432–7. doi: 10.1038/ejhg.2010.159.



38. Lahat N, Shapiro S, Karban A, Gerstein R, Kinary A, Lerner A. Cytokine profile in coeliac disease. *Scand J Immunol.* 1999;49(4):441–6. doi: 10.1046/j.1365-3083.1999.00523.x.
39. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D, Goeddel DV, Gray PW. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res.* 1985;13(17):6361–73. doi: 10.1093/nar/13.17.6361.
40. Suh JH, Gong EY, Hong CY, Park E, Ahn RS, Park KS, Lee K. Reduced testicular steroidogenesis in tumor necrosis factor-alpha knockout mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;112(1–3):117–21. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.09.003.
41. Масленникова СО, Концевая ГВ, Золотых МА, Анисимова МВ, Феофанова НА, Мошкин МП, Недоспасов СА, Герлинская ЛА. Репродуктивные эффекты нокаута гена фактора некроза опухолей (TNF) у мышей. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(4):404–9. doi: 10.18699/VJ15.052.
42. Eisermann J, Register KB, Strickler RC, Collins JL. The effect of tumor necrosis factor on human sperm motility in vitro. *J Androl.* 1989;10(4):270–4. doi: 10.1002/j.1939-4640.1989.tb00100.x.
43. Koçak I, Yenisey C, Dündar M, Okyay P, Sertler M. Relationship between seminal plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels with semen parameters in fertile and infertile men. *Urol Res.* 2002;30(4):263–7. doi: 10.1007/s00240-002-0269-y.
44. Tronchon V, Vialard F, El Sirkasi M, Dechaud H, Rollet J, Albert M, Bailly M, Roy P, Mauduit C, Fenichel P, Selva J, Benahmed M. Tumor necrosis factor-alpha -308 polymorphism in infertile men with altered sperm production or motility. *Hum Reprod.* 2008;23(12):2858–66. doi: 10.1093/humrep/den277.
45. Khademi Bami M, Dehghan Tezerjani M, Montazeri F, Ashrafzadeh Mehrjardi HR, Ghasemi-Esmailabad S, Sheikhha MH, Kalantar SM. Tumor Necrosis Factor Alpha -308 G/A Single Nucleotide Polymorphism and Risk of Sperm Abnormalities in Iranian Males. *Int J Fertil Steril.* 2017;11(2):112–6. doi: 10.22074/ijfs.2017.4830.
46. Mauduit C, Besset V, Caussanel V, Benahmed M. Tumor necrosis factor alpha receptor p55 is under hormonal (follicle-stimulating hormone) control in testicular Sertoli cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;224(3):631–7. doi: 10.1006/bbrc.1996.1077.
47. Liu RX, Wang Y, Wen LH. Relationship between cytokine gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(6):9786–92.
48. Lee BE, Jeon YJ, Shin JE, Kim JH, Choi DH, Jung YW, Shim SH, Lee WS, Kim NK. Tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in Korean patients with recurrent spontaneous abortion. *Reprod Sci.* 2013;20(4):408–13. doi: 10.1177/1933719112459237.
49. Li S, Wang L, Xing Z, Huang Y, Miao Z. Expression level of TNF- α in decidual tissue and peripheral blood of patients with recurrent spontaneous abortion. *Cent Eur J Immunol.* 2017;42(2):156–60. doi: 10.5114/cej.2017.69357.
50. Куртанов ХА, Данилова АЛ, Яковлева АЕ, Герасимова ВВ, Саввина АД, Максимова НР. Молекулярно-генетическое исследование генов HLA II класса у больных целиакией в Якутии. Якутский медицинский журнал. 2015;(4):5–7.
51. Penn DJ. The scent of genetic compatibility: sexual selection and the major histocompatibility complex. *Ethology.* 2002;108(1):1–21. doi: 10.1046/j.1439-0310.2002.00768.x.
52. Wedekind C, Furi S. Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proc Biol Sci.* 1997;264(1387):1471–9. doi: 10.1098/rspb.1997.0204.
53. Болдырева МН, Барцева ОБ, Курило ЛФ, Ткаченко ЭР, Алексеев ЛП, Адамян ЛВ. Связь HLA-DRB1-генотипа с репродуктивными неудачами. Проблемы репродукции. 2010;(6):59–63.
54. Carp HJ, Selmi C, Shoenfeld Y. The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. *J Autoimmun.* 2012;38(2–3):J266–74. doi: 10.1016/j.jaut.2011.11.016.
1. Paskar SS, Boyarsky KY. The epidemiological aspects of infertile marriage (a review). *Russian Journal of Human Reproduction.* 2017;23(5):23–6. Russian. doi: 10.17116/repro201723523-26.
2. Health care in Russia. 2017. Statistical compendium. Moscow: Rosstat; 2017. 170 p. Russian.
3. El Hachem H, Crepau V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health.* 2017;9:331–45. doi: 10.2147/IJWH.S100817.
4. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2012;98(5):1103–11. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.048.
5. Gupta B, Singh P. The evolving role of genetics in recurrent pregnancy loss. In: Mehta S, Gupta B, editors. *Recurrent pregnancy loss.* Singapore: Springer; 2018. p. 67–77.
6. Robberecht C, Pexsters A, Deprest J, Frysns JP, D'Hooghe T, Vermeesch JR. Cytogenetic and morphological analysis of early products of conception following hystero-embryoscopy from couples with recurrent pregnancy loss. *Prenat Diagn.* 2012;32(10):933–42. doi: 10.1002/pd.3936.
7. Tur-Torres MH, Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Genetics of recurrent miscarriage and fetal loss. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017;42:11–25. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.03.007.
8. Baranov VS, editor. Genetic pass as a background of personalized and predictive medicine. Saint Petersburg: N-L; 2009. 528 p. Russian.
9. Perez N, Ostojić S, Kapović M, Peterlin B. Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril.* 2017;107(1):150–9.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.007.
10. Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet.* 2017;91(2):265–84. doi: 10.1111/cge.12910.
11. Tersigni C, D'Ippolito S, Di Nicuolo F, Marana R, Valenza V, Masciullo V, Scaldaferrri F, Malatucca F, de Waure C, Gasbarrini A, Scambia G, Di Simone N. Recurrent pregnancy loss is associated to leaky gut: a novel pathogenic model of endometrium inflammation? *J Transl Med.* 2018;16(1):102. doi: 10.1186/s12967-018-1482-y.
12. D'Ippolito S, Gasbarrini A, Castellani R, Rocchetti S, Sisti LG, Scambia G, Di Simone N. Human leukocyte antigen (HLA) DQ2/DQ8 prevalence in recurrent pregnancy loss women. *Autoimmun Rev.* 2016;15(7):638–43. doi: 10.1016/j.autrev.2016.02.009.
13. Saccone G, Berghella V, Sarno L, Maruotti GM, Cetin I, Greco L, Khashan AS, McCarthy F, Martinelli D, Fortunato F, Martinelli P. Celiac disease and obstetric complications: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(2):225–34. doi: 10.1016/j.ajog.2015.09.080.
14. Lazebnik LB, Tkachenko Yel, Oreshko LS, Sitkin SI, Karpov AA, Nemtsov VI, Osipenko MF, Radchenko VG, Fedorov ED, Medvedeva OI, Seliverstov PV, Solov'yeva YeA, Shabanova AA, Zhuravleva MS. Guidelines for diagnosis and treatment of celiac disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology Journal.* 2015;(5):3–12. Russian.
15. Admou B, Essaadouni L, Krati K, Zaher K, Sbihi M, Chabaa L, Belaabidia B, Alaoui-Yazidi A. Atypical celiac disease: from recogniz-



- ing to managing. *Gastroenterol Res Pract.* 2012;2012:637187. doi: 10.1155/2012/637187.
16. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology.* 1993;105(3):910–22. doi: 10.1016/0016-5085(93)90912-V.
 17. Polvi A, Arranz E, Fernandez-Arquero M, Collin P, Mäki M, Sanz A, Calvo C, Maluenda C, Westman P, de la Concha EG, Partanen J. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol.* 1998;59(3):169–75. doi: 10.1016/S0198-8859(98)00008-1.
 18. Barisani D, Ceroni S, Meneveri R, Cesana BM, Bardella MT. IL-10 polymorphisms are associated with early-onset celiac disease and severe mucosal damage in patients of Caucasian origin. *Genet Med.* 2006;8(3):169–74. doi: 10.109701.gim.0000204464.8754039.
 19. de la Concha EG, Fernández-Arquero M, Vigil P, Rubio A, Maluenda C, Polanco I, Fernandez C, Figueredo MA. Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. *Hum Immunol.* 2000;61(5):513–7. doi: 10.1016/S0198-8859(99)00187-1.
 20. Garrote JA, Arranz E, Tellería JJ, Castro J, Calvo C, Blanco-Quirós A. TNF alpha and LT alpha gene polymorphisms as additional markers of celiac disease susceptibility in a DQ2-positive population. *Immunogenetics.* 2002;54(8):551–5. doi: 10.1007/s00251-002-0498-9.
 21. Bondar C, Araya RE, Guzman L, Rua EC, Chopita N, Chirido FG. Role of CXCR3/CXCL10 axis in immune cell recruitment into the small intestine in celiac disease. *PLoS One.* 2014;9(2):e89068. doi: 10.1371/journal.pone.0089068.
 22. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Söderman J. Celiac disease biomarkers identified by transcriptome analysis of small intestinal biopsies. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(23):4385–401. doi: 10.1007/s00018-018-2898-5.
 23. Tersigni C, Castellani R, de Waure C, Fattorosi A, De Spirito M, Gasbarrini A, Scambia G, Di Simone N. Celiac disease and reproductive disorders: meta-analysis of epidemiologic associations and potential pathogenic mechanisms. *Hum Reprod Update.* 2014;20(4):582–93. doi: 10.1093/humupd/dmu007.
 24. Khashan AS, Henriksen TB, Mortensen PB, McNamee R, McCarthy FP, Pedersen MG, Kenny LC. The impact of maternal celiac disease on birthweight and preterm birth: a Danish population-based cohort study. *Hum Reprod.* 2010;25(2):528–34. doi: 10.1093/humrep/dep409.
 25. Farthing MJ, Rees LH, Edwards CR, Dawson AM. Male gonadal function in coeliac disease: 2. Sex hormones. *Gut.* 1983;24(2):127–35. doi: 10.1136/gut.24.2.127.
 26. Farthing MJ, Rees LH, Dawson AM. Male gonadal function in coeliac disease: III. Pituitary regulation. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1983;19(6):661–71. doi: 10.1111/j.1365-2265.1983.tb00043.x.
 27. Ebisch IM, Pierik FH, DE Jong FH, Thomas CM, Steegers-Theunissen RP. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? *Int J Androl.* 2006;29(2):339–45. doi: 10.1111/j.1365-2605.2005.00598.x.
 28. Wallock LM, Tamura T, Mayr CA, Johnston KE, Ames BN, Jacob RA. Low seminal plasma folate concentrations are associated with low sperm density and count in male smokers and non-smokers. *Fertil Steril.* 2001;75(2):252–9. doi: 10.1016/S0015-0282(00)01697-6.
 29. Ebisch IM, Thomas CM, Peters WH, Braat DD, Steegers-Theunissen RP. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update.* 2007;13(2):163–74. doi: 10.1093/humupd/dml054.
 30. Zugna D, Ricciardi L, Akre O, Stephansson O, Ludvigsson JF. A nationwide population-based study to determine whether coeliac disease is associated with infertility. *Gut.* 2010;59(11):1471–5. doi: 10.1136/gut.2010.219030.
 31. Ciacci C, De Rosa A, de Michele G, Savino G, Squillante A, Iovino P, Sabbatini F, Mazzacca G. Sexual behaviour in untreated and treated coeliac patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1998;10(8):649–51.
 32. Kotze LM. Gynecologic and obstetric findings related to nutritional status and adherence to a gluten-free diet in Brazilian patients with celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2004;38(7):567–74. doi: 10.1097/01.mcg.0000131720.90598.6a.
 33. Bragina EY, Freidin MB, Babushkina NP, Garaeva AF, Kolokolova OV, Zhalsanova IZ, Puzyrev VP. Analysis of cytokine network's genes in the development of "inverse" comorbidity between asthma and tuberculosis. *Medical Genetics.* 2017;16(1):20–4. Russian.
 34. Samgina TA, Bushueva OYu, Ivanov KP, Solodilova MA, Nazarenko PM, Polonikov AV. The association study of the promoter polymorphism -308G>A of tumor necrosis factor gene with the development and severity of acute pancreatitis in Russian population of Kursk region. *Experimental and Clinical Gastroenterology Journal.* 2014;(9):17–20. Russian.
 35. Excoffier L, Lischer HE. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;10(3):564–7. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
 36. Khan S, Mandal RK, Jawed A, Dar SA, Wahid M, Panda AK, Areeshi MY, Ahmed Khan ME, Haque S. TNF- α -308 G>A (rs1800629) polymorphism is associated with celiac disease: A meta-analysis of 11 case-control studies. *Sci Rep.* 2016;6:32677. doi: 10.1038/srep32677.
 37. Fan W, Maoqing W, Wangyang C, Fulan H, Dandan L, Jiaojiao R, Xinshu D, Binbin C, Yashuang Z. Relationship between the polymorphism of tumor necrosis factor- α -308 G>A and susceptibility to inflammatory bowel diseases and colorectal cancer: a meta-analysis. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(4):432–7. doi: 10.1038/ejhg.2010.159.
 38. Lahat N, Shapiro S, Karban A, Gerstein R, Kinaraty A, Lerner A. Cytokine profile in coeliac disease. *Scand J Immunol.* 1999;49(4):441–6. doi: 10.1046/j.1365-3083.1999.00523.x.
 39. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D, Goeddel DV, Gray PW. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res.* 1985;13(17):6361–73. doi: 10.1093/nar/13.17.6361.
 40. Suh JH, Gong EY, Hong CY, Park E, Ahn RS, Park KS, Lee K. Reduced testicular steroidogenesis in tumor necrosis factor-alpha knockout mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;112(1–3):117–21. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.09.003.
 41. Maslennikova SO, Kontsevaya GV, Zolotykh MA, Anisimova MV, Feofanova NA, Moshkin MP, Nedospasov SA, Gerlinskaya LA. Reproductive effects of the tumor necrosis factor (TNF) deficiency in mice. *Vavilov Journal of genetics and breeding.* 2015;19(4):404–9. Russian. doi: 10.18699/VJ15.052.
 42. Eisermann J, Register KB, Strickler RC, Collins JL. The effect of tumor necrosis factor on human sperm motility in vitro. *J Androl.* 1989;10(4):270–4. doi: 10.1002/j.1939-4640.1989.tb00100.x.
 43. Koçak I, Yenisey C, Dündar M, Okyay P, Sertmer M. Relationship between seminal plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels with semen parameters in fertile and infertile men. *Urol Res.* 2002;30(4):263–7. doi: 10.1007/s00240-002-0269-y.
 44. Tronchon V, Vialard F, El Sirkasi M, Dechaud H, Rollet J, Albert M, Bailly M, Roy P, Mauduit C, Fenichel P, Selva J, Benahmed M. Tumor necrosis factor-alpha -308 polymorphism in infertile men with altered sperm production or motility. *Hum Reprod.* 2008;23(12):2858–66. doi: 10.1093/humrep/den277.
 45. Khademi Bami M, Dehghan Tezerjani M, Montazeri F, Ashrafzadeh Mehrjardi HR, Ghaseemi-Esmailabad S, Sheikhha MH, Kalantar SM. Tumor Necrosis Factor Alpha -308 G/A Single Nucleotide Polymorphism and Risk of Sperm Abnormalities in Iranian Males. *Int J Fertil Steril.* 2017;11(2):112–6. doi: 10.22074/ijfs.2017.4830.
 46. Mauduit C, Besset V, Caussanel V, Benahmed M. Tumor necrosis factor alpha receptor p55 is under hormonal (follicle-stimulating hormone) control in testicular Sertoli cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;224(3):631–7. doi: 10.1006/bbrc.1996.1077.
 47. Liu RX, Wang Y, Wen LH. Relationship between cytokine gene polymorphisms and recurrent



- spontaneous abortion. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(6):9786–92.
48. Lee BE, Jeon YJ, Shin JE, Kim JH, Choi DH, Jung YW, Shim SH, Lee WS, Kim NK. Tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in Korean patients with recurrent spontaneous abortion. *Reprod Sci*. 2013;20(4):408–13. doi: 10.1177/1933719112459237.
49. Li S, Wang L, Xing Z, Huang Y, Miao Z. Expression level of TNF- α in decidual tissue and peripheral blood of patients with recurrent spontaneous abortion. *Cent Eur J Immunol*. 2017;42(2):156–60. doi: 10.5114/cej.2017.69357.
50. Kurtanov HA, Danilova AL, Yakovleva AE, Gerasimova VV, Savvina AD, Maksimova NR. Molecular and genetic testing of HLA II class genes in celiac disease patients in Yakutia. *Yakut Medical Journal*. 2015;(4):5–7. Russian.
51. Penn DJ. The scent of genetic compatibility: sexual selection and the major histocompatibility complex. *Ethology*. 2002;108(1):1–21. doi: 10.1046/j.1439-0310.2002.00768.x.
52. Wedekind C, Furi S. Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proc Biol Sci*. 1997;264(1387):1471–9. doi: 10.1098/rspb.1997.0204.
53. Boldyreva MN, Bartseva OB, Kurilo LF, Tkachenko ÉR, Alekseev LP, Adamian LV. Association between reproductive failures and HLA-DRB1-genotype. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2010;(6):59–63. Russian.
54. Carp HJ, Selmi C, Shoenfeld Y. The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. *J Autoimmun*. 2012;38(2–3):J266–74. doi: 10.1016/j.jaut.2011.11.016.

Association of celiac disease genetic markers with reproduction disorders

L.I. Minaycheva¹ • E.Yu. Bragina¹ • I.Zh. Zhalsanova¹ • N.A. Chesnokova¹ • A.V. Marusin¹

Background: Numerous studies have shown a link between genes involved in the immune response and infertility and miscarriage. The most significant associations have been established for the cytokine genes (*IL1B*, *IL6*, *IL10*, *IL18*), chemokine genes (*CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL11*), and genes of the major histocompatibility complex HLA II class (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*). HLA genes are associated with celiac disease, a genetically determined autoimmune disorder, where male and female reproduction impairment is one of the symptoms. **Aim:** To assess the prevalence of polymorphic variants of the immune response genes (HLA: *DQA1*, *DQB1*, *DRB1*; *TNF*, *IL10*, *CXCL10*) in patients with reproduction disorders. **Materials and methods:** This pilot study involved assessment of the following gene polymorphisms: *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), *CXCL10* (rs4386624), and HLA class II (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*) in couples (n=220) with reproduction disorders (infertility and miscarriage). Genotyping was performed by real-time polymerase chain reaction (PCR) and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) methods. The genotypes and alleles population data were used for comparison with the studied variants of the genes *IL10* (rs1800872), *TNF* (rs1800629), and *CXCL10* (rs4386624). Differences in the prevalence of alleles and genotypes were assessed by

χ^2 test. The differences were considered significant at $p < 0.05$. Haplotype diversity was calculated by the Arlequin software, version 3.5.x. **Results:** Compared to the populational data, there was significant re-distribution of the genotypes and alleles to the *TNF* gene (rs1800629) variant in men with impaired reproductive functions. No differences were found for other gene variants studied. The frequency of HLA class II gene (*DQA1*, *DQB1*, *DRB1*) haplotypes associated with celiac disease (DQ2 and DQ8) in the study sample was 23.8%. **Conclusion:** The results indicate the important role of genes associated with celiac disease in the development of reproduction disorders.

Key words: reproduction function, miscarriage, infertility, celiac disease, immune response genes, polymorphism

For citation: Minaycheva LI, Bragina EYu, Zhalsanova IZh, Chesnokova NA, Marusin AV. Association of celiac disease genetic markers with reproduction disorders. *Almanac of Clinical Medicine*. 2019;47(1):72–82. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-006.

Received 04 November 2018; accepted 31 January 2019; published 15 February 2019

Larisa I. Minaycheva – MD, PhD, Geneticist¹
✉ 3 Moskovskiy trakt ul., Tomsk, 634040, Russian Federation. Tel.: +7 (913) 864 61 71.
E-mail: larisa.minaycheva@medgenetics.ru

Elena. Yu. Bragina – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Population Genetics Laboratory¹

Irina Zh. Zhalsanova – Postgraduate Student, Population Genetics Laboratory¹

Natalia A. Chesnokova – Resident¹

Andrey V. Marusin – PhD (in Biol.), Research Fellow, Evolutionary Genetics Laboratory¹

Funding

The study was done under the State project by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. 075-00603-19-00 (Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences).

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; 10 Naberezhnaya reki Ushayki ul., Tomsk, 634050, Russian Federation