

## **ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del У ЖЕНЩИН, ИМЕЮЩИХ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА ИЛИ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПОТЕРИ В РАННИЕ СРОКИ ГЕСТАЦИИ**

**Шабалдин А.В.<sup>1</sup>, Цепочкина А.В.<sup>1</sup>, Шмулевич С.А.<sup>2</sup>, Понасенко А.В.<sup>1</sup>,  
Крюков П.М.<sup>3</sup>, Шабалдина Е.В.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»,  
г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ КО «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика  
Л.С. Барбараша», г. Кемерово, Россия

<sup>3</sup> МАУЗ «Детская городская клиническая больница № 5», г. Кемерово, Россия

<sup>4</sup> ГБОУ ВПО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Кемерово, Россия

**Резюме.** Врожденные пороки сердца являются доминирующей патологией среди всех врожденных пороков плода и новорожденного. Нарушения иммунных взаимодействий в системе «мать – эмбрион» могут быть следствием тератогенеза. *HLA-G* является основной молекулой, посредством которой формируется толерантность материнского иммунного микроокружения к полуаллогенному эмбриону. Полиморфный вариант гена *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del влияет на устойчивость и экспрессию матричной РНК и тем самым на эффективность блокирования иммунного отторжения полуаллогенного эмбриона. Цель исследования была связана с поиском ассоциативных связей между носительством женщинами одного из полиморфных вариантов гена *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del с репродуктивными потерями и рождением детей с врожденными пороками сердца.

Обследовано 103 женщины, имеющие детей с врожденными пороками сердца, 21 женщина с репродуктивными потерями до 9 недель беременности и 101 женщина, имеющая двух и более здоровых детей.

Выявлено, что маркером ранних репродуктивных потерь у женщин являлся минорный гомозиготный генотип *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins (OR = 5,25; 95%CI = 1,31-21,11) и аллель *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins (OR = 2,34; 95%CI = 1,13-4,84). При носительстве женщиной гетерозиготного вариантного генотипа 14-bp ins/14-bp del *HLA-G* 3'UTR значимых ассоциаций с рождением детей с ВПС не определено.

**Ключевые слова:** *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del, репродуктивные потери, врожденные пороки сердца

### **Адрес для переписки:**

Цепочкина Анна Викторовна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»  
652002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6.  
Тел.: 8 (3842) 64-46-50.  
E-mail: cepoav1991@gmail.com

### **Address for correspondence:**

Tsepokina Anna V.  
Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases  
650002, Russian Federation, Kemerovo, Sosnoviy blvd, 6.  
Phone: 7 (3842) 64-46-50.  
E-mail: cepoav1991@gmail.com

### **Образец цитирования:**

А.В. Шабалдин, А.В. Цепочкина, С.А. Шмулевич,  
А.В. Понасенко, П.М. Крюков, Е.В. Шабалдина  
«Особенности распределения аллелей и генотипов  
*HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del у женщин, имеющих детей  
с врожденными пороками сердца или репродуктивные  
потери в ранние сроки гестации» // Медицинская  
иммунология, 2017. Т. 19, № 6. С. 763-770.  
doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-763-770

© Шабалдин А.В. и соавт., 2017

### **For citation:**

A.V. Shabal'din, A.V. Tsepokina, S.A. Shmulevich,  
A.V. Ponasenko, P.M. Kryukov, E.V. Shabal'dina  
"Distribution patterns of alleles and genotypes for *HLA-G* 3'UTR 14-bp  
ins/del in mothers of children with congenital heart defects  
or reproductive losses at early gestation terms", *Medical  
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2017,  
Vol. 19, no. 6, pp. 763-770.  
doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-763-770

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-6-763-770

## DISTRIBUTION PATTERNS OF ALLELES AND GENOTYPES FOR *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del IN MOTHERS OF CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DEFECTS OR REPRODUCTIVE LOSSES AT EARLY GESTATION TERMS

Shabaldin A.V.<sup>a</sup>, Tsepokina A.V.<sup>a</sup>, Shmulevich S.A.<sup>b</sup>, Ponasenko A.V.<sup>a</sup>, Kryukov P.M.<sup>c</sup>, Shabaldina E.V.<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

<sup>b</sup> Kemerovo L.S. Barbarash Cardiological Dispensarys, Kemerovo, Russian Federation

<sup>c</sup> Children City Clinical Hospital No. 5, Kemerovo, Russian Federation

<sup>d</sup> Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

**Abstract.** *HLA-G* is the main molecule through which provides tolerance of maternal immune microenvironment to the semi-allogeneic embryo. Polymorphic variant of 14-bp ins/del in the *HLA-G* 3'UTR gene affects stability and expression of specific mRNA and, thereby, efficiency of immune rejection blockade of the semi-allogeneic embryo. Immune interactions in the “mother – fetus” system can cause teratogenic effects. Congenital heart defects are the dominant pathology among congenital malformations of the fetus and newborns. The aim of the study was to search possible associations between polymorphic 14-bp ins/del variants of maternal *HLA-G* 3'UTR gene, and reproductive losses or congenital heart defects in their children. Subjects and Methods. We have examined 103 women who had children with congenital heart defects, 21 women with reproductive losses at up to 9 weeks of pregnancy, 101 women with two or more healthy children. Results. It was revealed that the minor homozygous genotype *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins (OR = 5.25; 95% CI = 1.31-21.11), and allele *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins (OR = 2.34; 95% CI = 1.13-4.84) were markers of early reproductive loss in women. Polymorphic variant of the 14-bp ins/14-bp del gene variant of *HLA-G* 3'UTR in the mothers was not significantly associated with birth of infants with congenital heart defects.

**Keywords:** *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del, gestation, reproductive loss, congenital heart diseases

### Введение

Вынашивание беременности является иммунным феноменом, связанным с распознаванием иммунокомпетентными клетками материнского микроокружения аллогенных антигенов главного комплекса тканевой совместимости (у человека HLA) зародыша [1]. Молекулы HLA, экспрессирующиеся на клетках эмбриона, также участвуют в формировании межклеточных контактов, обеспечивающих его имплантацию [3].

Человеческий лейкоцитарный антиген G (*HLA-G*) является представителем молекул главного комплекса тканевой совместимости, экспрессирующихся на мембране клеток зародыша и цитотрофобласта [4]. Основной функцией данной молекулы является ингибция NK-лимфоцитов матки через блокирование киллерных рецепторов (KIR2DL4 и ILT-2) по отношению к полуаллогенному зародышу [5]. Данную функцию выполняют не только *HLA-G*, экспрессирующиеся на мембране цитотрофобласта, но и растворимые формы *HLA-G* (s*HLA-G*). Блокирующий эффект растворимых форм *HLA-G* по отношению к антигенам зародыша связан и со

взаимодействием их с дендритными клетками маточного микроокружения [6].

Для *HLA-G* выявлен полиморфизм как в транслируемой (со второго по восьмой экзону), так и не в транслируемой (3'UTR) частях гена. Доказано неравновесное сцепление по отдельным гаплотипам как внутри гена *HLA-G*, так и по локусу HLA [7].

Полиморфизм *HLA-G* в позиции rs1704 (*HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del) определяет уровень трансляции гена и устойчивость матричной РНК [8]. Исследования показали, что при укорочении на 14 bp длины 3' UTR области скорость трансляции ДНК в матричную РНК увеличивается, в то же время сама матричная РНК с короткой 3' UTR областью становится менее устойчива к действию ферментов РНКаз. Возможно, что эти два противоположно направленных феномена, связанных с делецией *HLA-G* в 3' UTR, определяют разноречивость литературных данных о связи полиморфизма *HLA-G* в 3' UTR с уровнем экспрессии молекулы *HLA-G* на цитотрофобласте и концентрации ее растворимой формы в сыворотке крови.

Принимая во внимание функцию *HLA-G* как основной молекулы, предотвращающей иммунное отторжение эмбриона, а в дальнейшем плода, можно предполагать, что снижение экспрессии данной молекулы как в мембранной, так и в растворимой формах будет способствовать реализации декомпенсации иммунного конфликта между матерью и полуаллогенным плодом. В большинстве исследований, посвященных этой проблеме, указывается на ассоциативную связь между аллелем с добавлением 14 bp в 3' UTR и ранними репродуктивными потерями [9, 10, 11, 12]. В то же время в данных работах показана ассоциация материнского, но не плода, полиморфного варианта *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del. Соответственно, особенности наследования от матери к плоду того или иного полиморфного варианта гена будут реально определять экспрессию *HLA-G* на эмбрионе, цитотрофобласте и в растворимом виде.

Неоднократно показано, что реализация тератогенеза связана с иммунными нарушениями в системе «мать – эмбрион/плод» [13]. Исходя из этого, *HLA-G* является ключевой молекулой, обеспечивающей иммунные взаимодействия маточного микроокружения с аллогенными *HLA* эмбриона, а нарушения ее экспрессии будут приводить к индукции тератогенеза, связанного с фоновыми ксенобиотическими нагрузками. Исследователями показана связь материнского полиморфизма *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del с вертикальной передачей от матери к эмбриону/плоду резидентных вирусов [14]. Ранняя активация у матери и эмбриона геномов вирусов может способствовать манифестации тератогенеза [15, 16, 17].

Эмбриогенез сердца приходится на 3-5 неделю гестации. За этот короткий промежуток времени сердце из утолщенного сосуда с сократительной функцией превращается в четырехкамерный сложноорганизованный орган с автономной сократительной системой. Влияние различных тератогенов, мутагенов в этот временной промежуток приводит к формированию большого количества (более 140 нозологических форм) комбинированных и изолированных врожденных пороков сердца (ВПС). Генетические исследования при ВПС являются приоритетными в мировой кардиологии [18]. С позиции иммунной защиты эмбриона от ксенобиотиков с тератогенным эффектом обоснованным является поиск предикторов в локусе *HLA*. Исходя из того факта, что уровень кроссингвера внутри локуса *HLA* невысок, полиморфизм *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del может быть ассоциирован с аллелями *It* генов, определяющих пролонгированное воспаление.

Учитывая выполненные исследования, посвященные *HLA-G*, сформулирована **цель данной работы** – изучить особенности распределения аллелей и генотипов *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del у женщин, имеющих детей с врожденными пороками сердца или репродуктивные потери в ранние сроки гестации.

## Материалы и методы

Исследование проводили с участием трех групп женщин. Первая основная группа была представлена матерями, имеющими детей с врожденными пороками сердца (ВПС). Вторая основная группа – женщинами, имеющими в анамнезе более двух спонтанных аборт в сроке до 9 недель беременности. Третья группа была контрольной и в ней были женщины, имеющие двух и более здоровых детей. После разъяснения условий участия в исследовании все женщины давали письменное информированное согласие, одобренное комитетом по биоэтике ГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (выписка из протокола № 57/К от 09.12.2012) и локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (выписка из протокола № 20 от 24.11.2011).

Первую основную группу составили 103 женщины. Средний возраст матерей был 26 лет (от 18 до 48). Данная группа была сформирована на базе отделения детской кардиологии Кемеровского кардиологического диспансера в период с 2013 по 2015 год.

Распределение ВПС по нарушениям гемодинамики у детей основной группы, согласно классификации *Nomenclature of Diagnosis of Heart Diseases at NMMC*, представлено в таблице 1.

Вторая основная группа была представлена 21 женщиной с отягощенным акушерским анамнезом, связанным со спонтанным самопроизвольным прерыванием беременности на ранних сроках гестации. Средний возраст матерей составил 27 лет (от 18 до 47 лет) и был сопоставим с первой основной группой.

Группа контроля состояла из 103 здоровых женщин, имеющих более двух здоровых детей. Средний возраст женщин этой группы составил 24 года (от 17 до 39 лет) и был сопоставим с обеими основными группами.

Вторая основная группа и группа контроля формировалась в поликлиническом отделении ООО «Современные медицинские технологии», (главный врач д.м.н. Шабалдина Е.В.) и МБУЗ ДГКБ № 5 (директор д.м.н. Ликстанов М.И.).

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови обследуемых женщин методом фенол-хлороформной экстракции [14]. Амплификацию полиморфных участков генов проводили методом аллель-специфичной по-

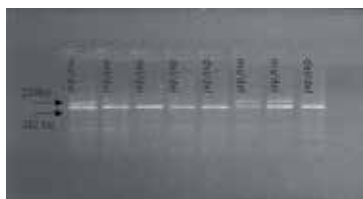


Рисунок 1. Детекция результатов на 3,0% агарозном геле  
Figure 1. Detection of results in the 3 per cent agarose gel

лимеразной цепной реакции, в соответствии с протоколом производителя (Applied Biosystems, USA), с дальнейшей электрофоретической детекцией в 3,0% агарозном геле (рис. 1).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программа Statistica 10.0. (StatSoft Inc., США). Анализ возрастных характеристик проводили с помощью методов описательной статистики (медиана,  $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). Равновесие Харди-Вайнберга определяли при помощи критерия Хи-квадрат Пирсона. Статистический анализ результатов генотипирования осуществляли посредством программы SNPStats [20]. Для оценки риска вычисляли отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (CI) для OR. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВПС У ДЕТЕЙ ОСНОВНОЙ ГРУППЫ СОГЛАСНО КЛАССИФИКАЦИИ

TABLE 1. INBORN HEART DEFECTS IN THE CHILDREN, ACCORDING TO NMMC CLASSIFICATION OF HEART DISEASES AT (NDHD)

ВПС по нарушениям гемодинамики согласно NDHD Inborn heart defects	Абсолютное число, n Absolute number, n	Удельный вес, % Relative weight, %
Стенотические или обструктивные пороки левого сердца Left heart stenotic or obstructive defects	8	7,92
Стенотические или обструктивные пороки правого сердца Right heart stenotic or obstructive defects	14	13,86
Шунтовые пороки с перегрузкой правого желудочка Shunt defects with right ventricle overload	19	18,81
Шунтовые пороки с перегрузкой левого желудочка Shunt defects with left ventricle overload	42	41,58
Комбинированные ВПС Combined inborn heart defects	18	17,82

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ГЕНОТИПОВ HLA-G 3'UTR В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ

TABLE 2. PREVALENCE OF HLA-G 3'UTR GENOTYPES IN THE STUDIED GROUPS

Группа Group	Частота генотипа Genotype frequency						$p_{ХВ}^*$ $p_{HW}^*$
	D/D		I/D		I/I		
	Абс. Abs	%	Абс. Abs.	%	Абс. Abs.	%	
Вся выборка Total sample (n = 225)	84	37,3	114	50,7	27	12,0	0,41
Первая основная группа First main group (n = 103)	44	43	51	49	8	8	0,19
Вторая основная группа Second main group (n = 21)	4	19	10	48	7	33	0,8
Контроль Controls (n = 101)	36	35	53	53	12	12	0,25

Примечание. \* – уравнение Харди-Вайнберга.

Note. \*, Hardy-Weinberg equilibrium.

## Результаты

Проведенные исследования показали, что распределение генотипов *HLA-G* 3'UTR (14-bp del/14-bp del [D/D]; 14-bp del/14-bp ins [I/D]; 14-bp ins/14-bp ins [I/I]) у женщин в первой, второй и контрольной группах не отклонялось от расчетных величин, полученных по уравнению Харди-Вайнберга, отражающего генетическое равновесие в популяции (табл. 2;  $p < 0,05$ ).

При анализе возрастного состава женщин трех групп не обнаружено статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ). Тем самым показано, что возраст матерей не являлся дополнительным ограничительным критерием для генетического сопоставления исследуемых групп.

Сравнение частот аллелей и генотипов в группе женщин, родивших детей с ВПС, и в группе сравнения не выявило значимых различий по пяти моделям наследования (табл. 3).

Анализ распределения аллелей и генотипов в группе матерей, имеющих детей с шунтовыми пороками сердца с перегрузкой левого желудочка, как наиболее часто встречаемого ВПС (42,2%), также не выявил статистически значимых различий по отношению к контролю ( $p > 0,05$ ).

Показано, что в группе женщин с ранними репродуктивными потерями чаще встречается гомозиготный генотип *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins по отношению к контрольной группе, наследуемый по рецессивной модели (табл. 4).

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ *HLA-G* 3'UTR В ПЕРВОЙ ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППАХ

TABLE 3. FREQUENCIES OF *HLA-G* 3'UTR GENOTYPES IN FIRST MAIN GROUP AND CONTROLS

Модель наследования Genetic model	Генотип Genotype	Контрольная группа Control group	Первая основная группа First main group	OR (95% CI) Odds ratio	P
Кодоминантная Codominant	D/D	36 (35,6%)	44 (42,7%)	1,00	0,44
	I/D	53 (52,5%)	51 (49,5%)	0,79 (0,44-1,41)	
	I/I	12 (11,9%)	8 (7,8%)	0,55 (0,20-1,48)	
Доминантная Dominant	D/D	36 (35,6%)	44 (42,7%)	1,00	0,3
	I/D-I/I	65 (64,4%)	59 (57,3%)	0,74 (0,42-1,31)	
Рецессивная Recessive	D/D-I/D	89 (88,1%)	95 (92,2%)	1,00	0,32
	I/I	12 (11,9%)	8 (7,8%)	0,62 (0,24-1,60)	
Сверхдоминантная Superdominant	D/D-I/I	48 (47,5%)	52 (50,5%)	1,00	0,67
	I/D	53 (52,5%)	51 (49,5%)	0,89 (0,51-1,54)	
Лог-аддитивная Log-additive	–	–	–	0,76 (0,49-1,17)	0,21

ТАБЛИЦА 4. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ *HLA-G* 3'UTR ВО ВТОРОЙ ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППАХ

TABLE 4. FREQUENCIES OF *HLA-G* 3'UTR GENOTYPES IN SECOND MAIN GROUP AND CONTROLS

Модель наследования Genetic model	Генотип Genotype	Контрольная группа Control group	Вторая основная группа Second main group	OR (95% CI) Odds ratio	P
Кодоминантная Codominant	D/D	36 (35,6%)	4 (19,1%)	1,00	0,049
	I/D	53 (52,5%)	10 (47,6%)	1,70 (0,49-5,83)	
	I/I	12 (11,9%)	7 (33,3%)	5,25 (1,31-21,11)	
Доминантная Dominant	D/D	36 (35,6%)	4 (19,1%)	1,00	0,13
	I/D-I/I	65 (64,4%)	17 (81%)	2,35 (0,74-7,53)	
Рецессивная Recessive	D/D-I/D	89 (88,1%)	14 (66,7%)	1,00	0,023
	I/I	12 (11,9%)	7 (33,3%)	3,71 (1,25-11,02)	
Сверхдоминантная Superdominant	D/D-I/I	48 (47,5%)	11 (52,4%)	1,00	0,69
	I/D	53 (52,5%)	10 (47,6%)	0,82 (0,32-2,11)	
Лог-аддитивная Log-additive	–	–	–	2,34 (1,13-4,84)	0,018

ТАБЛИЦА 5. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ *HLA-G* 3'UTR В ПЕРВОЙ И ВО ВТОРОЙ ОСНОВНЫХ ГРУППАХ

TABLE 5. FREQUENCIES OF *HLA-G* 3'UTR GENOTYPES IN FIRST AND SECOND MAIN GROUPS

Модель наследования Genetic model	Генотип Genotype	Первая основная группа First main group	Вторая основная группа Second main group	OR (95% CI) Odds ratio	P
Кодоминантная Codominant	D/D	44 (42,7%)	4 (19,1%)	1,00	0,006
	I/D	51 (49,5%)	10 (47,6%)	2,16 (0,63-7,36)	
	I/I	8 (7,8%)	7 (33,3%)	9,62 (2,28-40,67)	
Доминантная Dominant	D/D	44 (42,7%)	4 (19,1%)	1,00	0,034
	I/D-I/I	59 (57,3%)	17 (81%)	3,17 (1,00-10,08)	
Рецессивная Recessive	D/D-I/D	95 (92,2%)	14 (66,7%)	1,00	0,003
	I/I	8 (7,8%)	7 (33,3%)	5,94 (1,86-18,93)	
Сверхдоминантная Superdominant	D/D-I/I	52 (50,5%)	11 (52,4%)	1,00	0,87
	I/D	51 (49,5%)	10 (47,6%)	0,93 (0,36-2,37)	
Лог-аддитивная Log-additive	–	–	–	3,13 (1,47-6,68)	0,002

При сопоставлении аллелей и генотипов *HLA-G* 3'UTR групп женщин с ранними репродуктивными потерями и женщин, имеющих детей с ВПС, выявлен ряд статистически значимых различий. В группе женщин с репродуктивными потерями достоверно чаще встречались носители гомозиготного генотипа *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins, чем в группе женщин, имеющих детей с ВПС (табл. 5), в соответствии с лог-аддитивной моделью наследования.

Тем самым в исследовании продемонстрировано увеличение частоты встречаемости аллеля 14-bp ins *HLA-G* 3'UTR и соответствующего гомозиготного генотипа *HLA-G* 3'UTR у женщин с репродуктивными потерями, как по отношению к женщинам, имеющих здоровых детей, так и к женщинами, имеющих детей с ВПС.

## Обсуждение

Проведенный анализ литературных данных показал, что аллель *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins и соответствующий гомозиготный генотип достоверно чаще встречается у женщин с ранними репродуктивными потерями [5, 22, 25]. Известно, что для HLA-генов всегда имеет место кодоминантная модель наследования, то есть постоянное участие в иммунных процессах всех унаследованных аллелей [15]. С этих позиций при гомозиготном генотипе женщины *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins плод получает аллель *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins, который постоянно участвует в процессах, направленных на ограничение иммунного отторжения со стороны материнского микроокружения. Неоднократные исследования показали ассоциативную связь с понижением экспрессии молекулы HLA-G на клеточных культурах гомозиготных по *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins, а также

растворимой формы sHLA-G в супернатантах [3, 18]. Принимая во внимание доказанный факт блокирования молекулой HLA-G киллерных рецепторов натуральных киллерных лимфоцитов (KIR2DL4 и ILT-2) [8, 12], можно утверждать, что понижение экспрессии HLA-G у эмбриона на цитотрофобласте и в растворимом виде будет приводить к иммунному отторжению полуаллогенного зародыша или прерыванию беременности на более поздних сроках.

Представленное исследование показало, что в группе женщин с ранними репродуктивными потерями частота гомозиготного генотипа *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins была достоверно выше, чем в контрольной группе. Достоверные различия получены не только для кодоминантной модели наследования, но и для рецессивной, и для лог-аддитивной. Это указывает на тот факт, что даже в гетерозиготном состоянии, при наличии второго, мажорного аллеля, данный минорный аллель будет проявлять свои негативные качества в отношении формирования репродуктивных потерь.

Исследование распределения аллелей и генотипов полиморфизма *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del в мире показали незначительные изменения в частоте встречаемости мажорных и минорных аллелей и генотипов от популяции к популяции (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>). Кроме того, для европейских и монголоидных популяций отмечена аналогичная тенденция в повышении гомозиготного генотипа *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/1-4bp ins у женщин с репродуктивными потерями [10]. Учитывая этот факт, можно утверждать, что данный генотип является маркерным для ранних репродуктивных потерь и в популяции Западной Сибири.

Выдвинутая гипотеза о том, что ВПС могут формироваться вследствие иммунных нарушений в системе «мать – плод», имеет право на существование. Морфологические исследования эмбрионов от спонтанно закончившихся беременностей в ранние сроки показали у них пороки развития и хромосомные аномалии в более 90% случаях [6]. Этот факт указывает на общность особенностей этиологии и патогенеза репродуктивных потерь и врожденных пороков развития плода. Показано, что ВПС являются доминирующей патологией в группе врожденных пороков развития плода и новорожденного ребенка, удельный вес которых для всех популяций мира превышает 50% [11]. Тем самым можно говорить, что общность иммунных нарушений, приводящих к репродуктивным потерям и формированию врожденных пороков развития плода, распространяется и на формирование ВПС. С позиции обеспечения нормальных иммунных взаимодействий между материнским микроокружением и полуаллогенным зародышем locus HLA является основополагающим. Кроме того, ранее были получены ассоциации между аллелями и генотипами *HLA-DR* и ВПС, как для детей с ВПС, так и для их матерей [1, 2]. Другой путь формирования ВПС, ассоциированный с *HLA-G*, может быть связан с активацией вертикального пути передачи вирусов от матерей к плоду. Показано, что

ВИЧ и цитомегаловирус достоверно чаще передаются от инфицированных матерей к их детям при наличии у матерей аллелей или генотипов с *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins [21]. Известно, что герпетические вирусы индуцируют формирование ВПС. Но настоящее исследование не показало достоверных положительных ассоциаций между полиморфизмом *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del матерей и ВПС у их детей. Более того, показано достоверное различие по частоте носительства гомозиготного генотипа *HLA-G*\* 14-bp ins/14-bp ins у женщин с ранними репродуктивными потерями и имеющих детей с ВПС. Эти данные указывают на минимальную роль иммунных нарушений в системе «мать – плод» по *HLA-G* в индукции тератогенеза в формирующемся сердце.

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Маркером ранних репродуктивных потерь у женщин является минорный аллель *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins, а носительство женщиной гомозиготного генотипа по этому аллелю (*HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/14-bp ins) ассоциировано с более чем пятикратным увеличением риска (OR = 5,25; 95%CI = 1,31-21,11).

2. Полиморфный вариант гена *HLA-G* 3'UTR 14-bp ins/del (rs1704) матерей не имеет достоверных ассоциаций с рождением детей с ВПС.

## Список литературы / References

1. Шабалдин А.В., Цепокина А.В., Литвинова Н.А., Шмудевич С.А., Крюков П.М. Ассоциации материнских HLA-DRB1\* с риском формирования у их детей септальных врожденных пороков сердца // *Мать и дитя в Кузбассе*, 2016. № 2. С. 15-20. [Shabal'din A.V., Tsepokina A.V., Litvinova N.A., Shmulevich S.A., Kryukov P.M. The association of maternal HLA-DRB1\* with risk of development congenital septal heart defects at their children. *Mat' i ditya v Kuzbassa = Mother and Baby in Kuzbass*, 2016, no. 2, pp. 15-20. (In Russ.)]
2. Christiansen O.B., Dahl M., Djuricic S., Klitkou L., Hviid Th.F. Correlation between maternal soluble HLA-G at midterm and term with umbilical cord soluble HLA-G and their association to maternal and fetal HLA-G genotypes. *Journal of Reproductive Immunology*, 2016, Vol. 115, p. 58.
3. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. *Annu Rev. Immunol.*, 2013, Vol. 31, pp. 387-411.
4. Fan W., Li S., Huang Z., Chen Q. Relationship between HLA-G polymorphism and susceptibility to recurrent miscarriage: a meta-analysis of non-family based studies. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2014, Vol. 31, no. 2, p. 173.
5. García-Enguñidas A. Risk factors in miscarriage and malformation: a review. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 2002, Vol. 102, no. 2, pp. 111-119.
6. Gładki M.M., Składzień T., Skalski J.H. The impact of environmental factors on the occurrence of congenital heart disease in the form of hypoplastic left heart syndrome. *Kardiologia i Torakochirurgia Polska*, 2015, Vol. 12, no. 3, pp. 204-207.
7. Gonen-Gross T., Gazit R., Achdout H., Hanna J., Mizrahi S., Markel G., Hořejší V., Mandelboim O. Special organization of the HLA-G protein on the cell surface. *Human Immunology*, 2003, Vol. 64, no. 11, pp. 1011-1016.
8. Hong Heather A., Paximadis M., Gray Glenda E., Kuhn L., Tiemessen Caroline T. Maternal human leukocyte antigen-G (HLA-G) genetic variants associate with in utero mother-to-child transmission of HIV-1 in Black South Africans. *Infection, Genetics and Evolution*, 2015, Vol. 30, pp. 147-158.
9. Hunt J., Petroff M., McIntire R., Ober C. HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *The FASEB Journal*, 2005, Vol. 19, no. 7, pp. 681-693.
10. Jin B., Luo X.P., Ni H. C., Shen W., Shi H.M., Li Y. A meta-analysis of HLA-DR polymorphism and genetic susceptibility to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Molecular Biology Reports*, 2012, Vol. 39, no.1, pp. 221-226.
11. Kang H.W., Cho Y.G., Yoon U.H. DNA extraction method for RFLP and PCR analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1998, Vol. 16, pp. 90-103.

12. Mandò Ch., Pileri P., Mazzocco M. I., Lattuada D., Zolin A., Plebani M. Maternal and fetal HLA-G 14 bp gene polymorphism in pregnancy-induced hypertension, preeclampsia, intrauterine growth restricted and normal pregnancies. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2016, Vol. 29, no. 9, pp. 1509-1514.
13. Meuleman T., Lashley L., Dekkers O.M., Jan M.M. van Lith, Claas F.H.J. HLA associations and HLA sharing in recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis. *Human Immunology*, 2015, Vol. 76, no. 5, pp. 362-373.
14. Robertson S.A., Prins J.R., Sharkey D.J., Moldenhauer L.M. Seminal fluid and the generation of regulatory T cells for embryo implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2013, Vol. 69, no. 4, pp. 315-330.
15. Rousseau P., le Discorde M., Mouillot G., Marcou C., Carosella E.D., Moreau P. The 14 bp Deletion-Insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. *Human Immunology*, 2003, Vol. 64, no. 11, pp. 1005-1010.
16. Segat L., Catamo E., Fabris A., Padovan L., Morgutti M., Crovella S. HLA-G 3'UTR haplotypes and HIV vertical transmission. *AIDS*, 2009, Vol. 23, no. 14, pp. 1916-1918.
17. Segat L., Crovella S. HLA-G 14 bp del/ins genetic variation: association with susceptibility to human immunodeficiency virus-1 vertical transmission but not with human immunodeficiency virus-1 infection through horizontal transmission. *Tissue Antigens*, 2012, Vol. 80, no. 1, pp. 12-13.
18. Segat L., Zupin L., Kim H.Y., Catamo E., Thea D.M., Kankasa C., Aldrovandi G.M., Kuhn L., Crovella S. HLA-G 14 bp deletion/insertion polymorphism and mother-to-child transmission of HIV. *Tissue Antigens*, 2014, Vol. 83, no. 3, pp. 161-167.
19. Shankarkumar U., Shankarkumar A., Chedda Z., Ghosh K. Role of 14-bp deletion/insertion polymorphism in exon 8 of the HLA-G gene in recurrent spontaneous abortion patients. *J. Hum. Reprod. Sci.*, 2011, Vol. 4, no. 3, pp. 143-146.
20. Sole X., Guino E., Valls J., Iñiest R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*, 2006, Vol. 22, no. 15, pp. 1928-1929.
21. Wang X., Jiang W., Zhang D. Association of 14-bp insertion/deletion polymorphism of HLA-G gene with unexplained recurrent spontaneous abortion: a meta-analysis. *Tissue Antigens*, 2013, Vol. 81, no. 2, pp. 108-115.
22. Xue S., Yang J., Yao F., Xu L., Fan L. Recurrent spontaneous abortions patients have more -14 bp/+14 bp heterozygotes in the 30UT region of the HLA-G gene in a Chinese Han population. *Tissue Antigens*, 2007, Vol. 69, no. 1, p. 153.
23. Zhu Y., Huo Z., Lai J., Li S., Jiao H., Dang J., Jin C. Case-control study of a HLA-G 14-bp insertion-deletion polymorphism in women with recurrent miscarriages. *Scand. J. Immunol.*, 2010, Vol. 71, no. 1, pp. 52-54.

**Авторы:**

**Шабалдин А.В.** — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

**Цепоккина А.В.** — младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

**Шмудевич С.А.** — заведующая детским отделением ГБУЗ КО «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбараша», г. Кемерово, Россия

**Понасенко А.В.** — к.м.н., заведующая лабораторией геномной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

**Крюков П.М.** — к.м.н., заведующий отделением новорожденных МАУЗ «Детская городская клиническая больница № 5», г. Кемерово, Россия

**Шабалдина Е.В.** — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии и клинической иммунологии ГБОУ ВПО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Кемерово, Россия

**Authors:**

**Shabaldin A.V.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of cell Technologies, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

**Tsepokina A.V.**, Junior Research Associate, Laboratory of Genomic Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

**Shmulevich S.A.**, Head, Pediatric Department, Kemerovo L.S. Barbarash Cardiological Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

**Ponassenko A.V.**, PhD (Medicine), Head, Laboratory of Genomic Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

**Kryukov P.M.**, PhD (Medicine), Head, Department for Newborn Children, Children City Clinical Hospital No. 5, Kemerovo, Russian Federation

**Shabaldina E.V.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Otolaryngology and Clinical Immunology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

Поступила 15.02.2017  
Принята к печати 22.02.2017

Received 15.02.2017  
Accepted 22.02.2017