

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *HLA-G*, ВНУТРИМАТОЧНОЙ ИНФЕКЦИИ И НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН

Гордеева Л.А.¹, Воронина Е.Н.², Поленок Е.Г.¹, Мун С.А.¹,
Нерсисян С.Л.³, Оленникова Р.В.³, Филипенко М.Л.², Глушков А.Н.¹

¹ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

² ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

³ ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», г. Кемерово, Россия

Резюме. Изучали связь полиморфизма гена *HLA-G* (rs41551813, rs12722477 и rs41557518), внутриматочной инфекции и невынашивания беременности у женщин. Исследуемую группу (НБ) составили 180 женщин с невынашиванием беременности, определяемой как два и более повторяющихся самопроизвольных выкидыша (min = 2; max = 8) до 20 недель беременности. На момент обследования женщины были не беременными и наблюдались в медико-генетической консультации г. Кемерово. Каждая женщина прошла гинекологическое обследование. Из исследования были исключены женщины с медицинскими абортами, родами и внематочными беременностями, с сахарным диабетом. Для исключения других известных причин самопроизвольного выкидыша были проведены ультразвуковое исследование органов малого таза и кариотипирование женщины и мужчины. Средний возраст женщин составил $29,6 \pm 4,8$ (SD) лет. Группа сравнения (контроль) включала 408 здоровых и фертильных женщин. Критериями включения в исследование для них были роды 1-2 здоровых детей. Средний возраст женщин составил $26,8 \pm 5,2$ (SD) лет. Влияние инфекционного фактора анализировали на основании лабораторных тестов: микроскопического исследования (для выявления бактериального вагиноза и вульво-вагинального кандидоза); иммуноферментного анализа и полимерно-цепной реакции (для выявления генитального герпеса, цитомегаловируса, вируса папилломы человека типа 16/18; *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Gardnerella vaginalis*; и *Trichomonas vaginalis*). Данные были получены из медицинских карт обследуемых женщин. Все женщины дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Типирование полиморфизма Thr31Ser (rs41551813, *HLA-G*01:03*) в экзоне 2, Leu110Ile (rs12722477, *HLA-G*01:04*) и 1597 delC (rs41557518, *HLA-G*01:05N*) в экзоне 3 гена *HLA-G* проводили методом асимметричной ПЦР в режиме реального времени. Как показало исследование, у обследуемых женщин внутриматочная инфекция не являлась самостоятельно значимым фактором риска НБ ($p = 0,30$). Обнаружено, что аллель 110 Ile (*HLA-G*01:04*) являлся фактором риска НБ как у женщин с внутриматочной ин-

Адрес для переписки:

Гордеева Людмила Александровна
Федеральный исследовательский центр угля и углехимии
Сибирского отделения Российской академии наук
(Институт экологии человека СО РАН)
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел.: 8 (913) 322-78-99.
E-mail: gorsib@rambler.ru, ihe@kemtel.ru

Address for correspondence:

Gordeeva Ludmila A.
Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian
Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Human
Ecology, SB RAS)
650065, Russian Federation, Kemerovo,
Leningradsky ave., 10.
Phone: 7 (913) 322-78-99.
E-mail: gorsib@rambler.ru, ihe@kemtel.ru

Образец цитирования:

Л.А. Гордеева, Е.Н. Воронина, Е.Г. Поленок, С.А. Мун,
С.Л. Нерсисян, Р.В. Оленникова, М.Л. Филипенко,
А.Н. Глушков «Изучение связи полиморфизма гена
HLA-G, внутриматочной инфекции и невынашивания
беременности у женщин» // Медицинская иммунология,
2021. Т. 23, № 2. С. 369-380.
doi: 10.15789/1563-0625-SOR-2155
© Гордеева Л.А. и соавт., 2021

For citation:

L.A. Gordeeva, E.N. Voronina, E.G. Polenok, S.A. Mun,
E.A. Sokolova, S.L. Nersisyan, R.V. Olennikova,
M.L. Filipenko, A.N. Glushkov "Study of relationships
between *HLA-G* gene polymorphism, intrauterine infection
and recurrent miscarriage in women", *Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2021, Vol. 23, no. 2,
pp. 369-380. doi: 10.15789/1563-0625-SOR-2155
DOI: 10.15789/1563-0625-SOR-2155

фекцией ($OR_a = 4,50 [2,41-8,38]$, $p = 2,09e-06$), так и у женщин без инфекции ($OR_a = 2,46 [1,44-4,21]$, $p = 0,0009$). Выявлено совместное влияние генетического и инфекционного факторов с риском НБ у женщин ($OR_{a+f} = 3,50 [2,01-6,09]$, $p = 8,78e-06$). Наши результаты могут быть полезны в понимании молекулярных механизмов иммунных нарушений в системе мать-плод и при выборе тактики ведения и лечения женщин с НБ.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, *HLA-G*, невынашивание беременности

STUDY OF RELATIONSHIPS BETWEEN *HLA-G* GENE POLYMORPHISM, INTRAUTERINE INFECTION AND RECURRENT MISCARRIAGE IN WOMEN

Gordeeva L.A.^a, Voronina E.N.^b, Polenok E.G.^a, Mun S.A.^a,
Sokolova E.A.^b, Nersesyan S.L.^c, Olennikova R.V.^c, Filipenko M.L.^b,
Glushkov A.N.^a

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

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

^c Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. The relationship between the *HLA-G* gene polymorphism (rs41551813, rs12722477, rs41557518), intrauterine infection and recurrent miscarriage (RM) in women were studied. The case group consisted of 180 patients with RM, defined as two or more consecutive miscarriages (min = 2; max = 8) at up to 20 weeks of gestation, and with clinically confirmed pregnancies and non-viable fetuses. At the time of examination, the women were enrolled from the Genetic Counseling Center at the Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russia, and were not pregnant. Each patient underwent a gynecological examination. We excluded women with a history of medical abortion, birth, and ectopic pregnancies. In addition, we excluded women with endocrine (e.g. diabetes) disorders. To exclude other known causes of spontaneous abortion, the following tests were performed: ultrasound examination of pelvic organs, and karyotyping in women and men. The women's mean age in the RM group, was 29.6 ± 4.8 (SD) years. The control group comprised 408 fertile women. These women didn't have a history of spontaneous abortion, or a family history of congenital malformations. They have born, at least, 1-2 healthy children. Women's mean age at birth of last child was 26.8 ± 5.2 (SD) years. Influence of the intrauterine infection was analyzed on the basis of laboratory tests. Diagnostics of bacterial vaginosis and vulvo-vaginal candidiasis by microscopic examination was conducted. Viral agent infections (herpes simplex virus type 2, cytomegalovirus, human papilloma virus type 16/18), *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis* were detected by enzyme-linked immunoassay and polymerase chain reaction (PCR). The data were obtained from the medical cards of the surveyed women. All the women gave a written informed consent before participating in the study. Typing of polymorphisms of Thr31Ser (rs41551813, *HLA-G*01:03*) in exon 2, Leu110Ile (rs12722477, *HLA-G*01:04*) and 1597 delC (rs41557518, *HLA-G*01:05N*) in exon 3 *HLA-G* genes were performed by real-time PCR followed by melting analysis. The study showed that the intrauterine infection was not a risk factor for RM ($p = 0.30$) in the examined women. It was found that the 110 Ile allele (*HLA-G*01:04*) was a risk factor for RM both in women with intrauterine infection [$OR_a = 4.50 (2.41-8.38)$, $p = 2.09e-06$], and in women without infection [$OR_a = 2.46 (1.44-4.21)$, $p = 0.0009$]. The cooperative influence of genetic and infections factors with the risk of RM in women was revealed [$OR_{a+f} = 3.50 (2.01-6.09)$, $p = 8.78e-06$]. Our results will be useful in understanding the molecular mechanisms of immune disorders in fetomaternal interface, and for choosing the strategy of management and treatment in women with RM.

Keywords: genetic polymorphism, *HLA-G*, recurrent miscarriage

Введение

Беременность является серьезным испытанием для материнской иммунной системы. Ее успех зависит от включения сложных регуляторных механизмов, позволяющих полуаллогенному плоду расти и развиваться, несмотря на тесный контакт с материнскими иммунокомпетентными клетками [4]. Феномен уклонения плода от материнского иммунного надзора получил название иммунотолерантности и связан с продукцией уникального набора антигенов (АГ) Главного комплекса гистосовместимости человека – G (HLA-G) [9].

HLA-G принадлежит к неклассическим молекулам семейства HLA I класса. Уникальность их функций во время беременности заключается в обеспечении иммунотолерантности и поддержки защиты плода от патогенов [19, 37]. Хотя HLA-G представляют ограниченный, но разный набор пептидов, они могут регулировать функции иммунных клеток через прямое взаимодействие с клеточными рецепторами [26]. Как выяснилось, HLA-G связываются с рецепторами ILT2 и ILT4 (IgG-подобный транскрипт семейства рецепторов LILR-leukocyte Ig-like receptor) и KIR2DL4 (IgG-подобный рецептор киллерных клеток) на NK-клетках (ILT2 и KIR2DL4), CD4⁺ (ILT2) и CD8⁺ (ILT2) Т-клетках, В-клетках (ILT2), моноцитах/макрофагах и дендритных клетках (ILT2 и ILT4) [11, 19]. Они не активируют NK-клетки и CD8⁺Т-клетки, а напротив, ингибируют цитотоксичность и опосредуют апоптоз этих клеток, индуцируют развитие АГ презентующих клеток (АПК), дендритных клеток и различных типов регуляторных Т-клеток, тем самым способствуя иммуносупрессии [26]. При осложнениях беременности, связанных с нарушением иммуносупрессии, наблюдается низкая продукция молекул HLA-G [25]. Помимо беременности установлена связь молекул HLA-G с хроническими вирусными и паразитарными инфекциями, а также раком [23].

У человека обнаружено семь изоформ белка HLA-G. Четыре из них связаны с клеточной мембраной (HLA-G1, HLA-G2, HLA-G3 и HLA-G4), а три являются растворимыми (sHLA-G: HLA-G5, HLA-G6 и HLA-G7) и образуются в результате альтернативного сплайсинга первичных транскриптов [6]. Особенности продукции молекул HLA-G, их взаимодействия с клеточными рецепторами и модуляции иммунного ответа контролируются полиморфизмом гена *HLA-G* [33].

По сравнению с классическими генами *HLA* I класса ген *HLA-G* слабо полиморфен, полиморфные изменения затрагивают как кодирующие, так и не кодирующие регионы гена. Полиморфизм в кодирующем регионе гена связан

с изменениями в аминокислотной последовательности белка. Установлены основные группы аллелей – *HLA-G*01:01:xx*, *HLA-G*01:02*, *HLA-G*01:03:xx*, *HLA-G*01:04:xx*, *HLA-G*01:05N* (нулевой аллель), *HLA-G*01:06* и *HLA-G*01:07* – *HLA-G*01:18*, выявляемые у людей в разных популяциях [33]. Обнаружена связь аллелей *HLA-G* и биологических функций молекул HLA-G, таких как связывание с пептидами и образование изоформ белка и его количества [11, 23]. Как показали исследования, уровень экспрессии гена и стабильность мРНК регулируется полиморфизмом в некодирующем регионе гена *HLA-G* – промоторной области (5'URR) и 3'-нетранслируемой области (3'UTR). Нуклеотидная последовательность 3'UTR-области отличается вариативностью. У людей выявлено более 40 гаплотипов 3'UTR, из которых только семь (с UTR1 по UTR7) стабильно представлены у разных этносов и составляют ~90% от всех известных гаплотипов. Обнаружены ассоциации UTR-гаплотипов с поверхностной экспрессией HLA-G и продукцией sHLA-G в плазме/сыворотке крови у людей [7, 19].

Полиморфизм гена *HLA-G* неоднократно изучался у женщин с разными осложнениями беременности, в том числе с невынашиванием беременности (НБ) [7]. Однако результаты исследований весьма противоречивы в разных популяциях людей. Остается неизвестной связь полиморфизма гена *HLA-G* с чувствительностью к внутриматочной инфекции, которая может выступать триггером для повторных выкидышей во время беременности. Поэтому целью настоящего исследования стало изучение связи полиморфизма гена *HLA-G*, внутриматочной инфекции и невынашивания беременности у женщин.

Материалы и методы

Выборки. Основную группу (НБ) составили 180 женщин, обратившиеся в Медико-генетическую консультацию г. Кемерово в связи с невынашиванием беременности. На момент обследования 159 (88%) женщин были не беременными и находились на реабилитации после очередного выкидыша. 21 (12%) женщина была беременной, настоящая беременность тоже протекала с угрозой прерывания. Каждая женщина прошла гинекологическое обследование. Условиями отбора женщин в основную группу были: отсутствие в анамнезе медицинских аборт и внематочных беременностей; подряд два и более самопроизвольных выкидыша; отсутствие аутоиммунных заболеваний; отсутствие репродуктивных проблем у мужчины. Для исключения других известных причин самопроизвольного выкидыша были проведены ультразвуковое исследование органов малого таза и кариотипирование женщины и

мужчины. Характеристика обследуемых женщин представлена в таблице 1.

Группу сравнения (контроль) составили 408 женщин без НБ и врожденных пороков развития (ВПР) у плода/ребенка. Из них 264 (65%)

женщины были беременными (15-36 нед.) и уже имели 1-2 детей, 144 (35%) женщины – роженицы доношенных и недоношенных I степени детей (родились в сроки 35-40 недель с массой тела больше 2000 г). Отсутствие ВПР у плода во время

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE STUDIED GROUPS

Параметр Parameter	Группа Group	
	НБ RM (n = 180)	Контроль Control (n = 408)
возраст age m±SD min-max	29,6±4,8 19-43	26,8±5,2 16-45
кол-во выкидышей number of miscarriages: m; min-max 2 выкидыша / 2 miscarriage 3 и более выкидышей / 3 and more miscarriages	2,4 (2,0-8,0) 132 48	–
выкидыши miscarriages до 12 недель / up to 12 weeks после 12 недель / after 12 weeks до и после 12 недель / before and after 12 weeks	107 10 63	–
хронические заболевания chronic diseases есть / yes нет / no неизвестно / unknown	77 69 34	131 208 69
осложненный акушерско-гинекологический анамнез complicated obstetric and gynecological history отслойка плаценты / placental abruption клинические признаки угрозы прерывания беременности / clinical signs of threatened abortion синдром задержки развития плода / fetal growth retardation syndrome фетоплацентарная недостаточность / fetoplacental insufficiency хронический эндометрит / chronic endometritis хроническое воспаление придатков матки / chronic inflammation of the uterine appendages нет / no	157 81 124 8 47 66 11 23	157 – 11 – 100 32 14 251
инфекционный фактор infectious factor вирусы / viruses бактерии / bacterium простейшие / protozoa смешанного генеза (бактерии + вирусы + простейшие) / mixed genesis (bacteria + viruses + protozoa) сопутствующий бактериальный вагиноз / concomitant bacterial vaginitis нет / no	87 29 39 – 19 17 93	177 15 144 3 5 129 231
курение / smoking есть / yes нет / no неизвестно / unknown	14 132 34	37 220 151

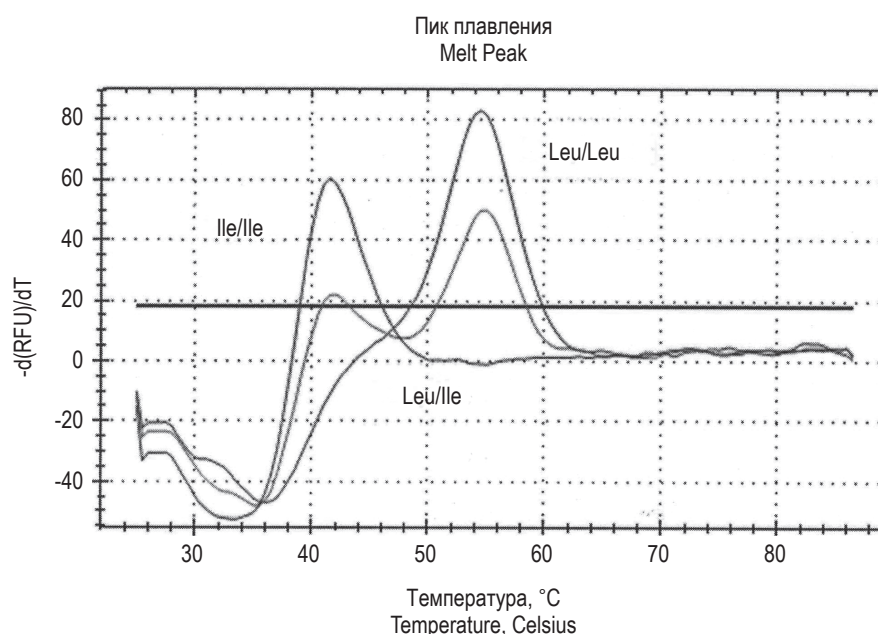


Рисунок 1. Кривые плавления продуктов амплификации rs12722477 полиморфизма гена *HLA-G*
Figure 1. Melting curves of the amplification products of rs12722477 polymorphism of *HLA-G* gene

беременности подтверждалось ультразвуковым исследованием, а при рождении ребенка — врачами-неонатологами.

Влияние инфекционного фактора анализировали на основании лабораторных тестов: микроскопическое исследование (для выявления бактериального вагиноза и вульво-вагинального кандидоза); иммуноферментного анализа и полимеразно-цепной реакции (для выявления генитального герпеса, цитомегаловируса, вируса папилломы человека (ВПЧ) типа 16/18; *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Gardnerella vaginalis*; и *Trichomonas vaginalis*. Данные были получены из медицинских карт обследуемых женщин.

Все женщины принадлежали к русской этнической группе. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с требованиями 9 Федерального закона от 27.07.06 г. «О персональных данных» №152-ФЗ. Получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

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

Типирование однонуклеотидных замен (SNP) Thr31Ser (rs41551813) в экзоне 2, Leu110Ile (rs12722477) и 1597 delC (rs41557518) в экзоне 3 гена *HLA-G* проводили методом асимметричной

ПЦР с использованием флуоресцентно-меченого олигонуклеотидного зонда с последующим плавлением амплификационных продуктов и анализа кривых плавления в режиме реального времени (рис. 1).

Реакцию амплификации проводили в следующих условиях: начальная денатурация (96 °C — 3 мин); затем 54 цикла, включающих денатурацию при 96 °C — 6 с, отжиг праймеров при 62 °C — 6 с и последующую элонгацию при 72 °C — 6 с; регистрировали кривые плавления в диапазоне температур 30-70 °C, повышая температуру на 0,5 °C в каждом цикле от начальной температуры, каждый шаг сопровождался регистрацией флуоресцентного сигнала в диапазоне, соответствующему интервалу флуорофора. Общий объем реакционной смеси составил 20 мкл: 10 mM Трис-НСl (рН 8,9), 55 mM KCl; 2,5 mM MgCl₂, 0,01% Tween 20, 0,2 mM dNTP, 20-100 ng ДНК, 1 ед. акт. KlenTaq-ДНК-полимеразы, растворы олигонуклеотидных праймеров и зондов в следующих концентрациях: лимитирующий праймер — 0,1 mM, избыточный праймер — 1 mM и зонд — 0,1 mM (табл. 2).

Статистическая обработка данных

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica for Windows v.8.0, (StatSoft, Inc.) и GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project (www.r-project.org). Соответствие частот генотипов гена *HLA-G* рав-

ТАБЛИЦА 2. ПРАЙМЕРЫ И ЗОНДЫ ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ИССЛЕДОВАНИИ

TABLE 2. SEQUENCE OF PRIMERS AND PROBES USED IN THE STUDY

Полиморфизм Polymorphism	Праймеры Primers	Последовательность праймеров Sequence of primers	Последовательность зонда Sequence of probe
Thr31Ser (rs41551813)	прямой direct	5'-GAGCCCCGCTTCATCGTCA-3'	5'-Fam-TGGACGACACGCAGTTC-BHQ-3'
	обратный reverse	5'-CACGCCGAGTCGCTGTC-3'	
Leu110Ile (rs12722477)	прямой direct	5'- CAGTGGATGATTGGCTGCGA -3'	5'-R6G-CGACGGACGCCTCCTCC-BHQ2-3'
	обратный reverse	5'- CGAGGTAATCCTTGCCATCGT -3'	
1597 delC (rs41557518)	прямой direct	5'-TGAACAGTATGCCTCCGATGG-3'	5'-Rox-AACGAGGACCTGCGCTC-BHQ2-3'
	обратный reverse	5'-CGAGGTAATCCTTGCCATCGT-3'	

новесию Харди–Вайнберга (HWE) оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. В этом случае и при использовании других критериев нулевую гипотезу отвергали при $p \leq 0,05$.

Силу ассоциации вариантов гена *HLA-G* с самопроизвольными выкидышами — отношение шансов (odds ratio, OR) и его доверительный интервал (CI: 95%) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа (функция “glm” программы R). В качестве базовой модели исследовали аддитивную модель наследования признака.

Результаты

Изучение связи инфекции и НБ у женщин показало, что у обследуемых нами женщин внутриматочная инфекция не являлась самостоятельным фактором риска НБ. Сопоставление частоты случаев внутриматочной инфекции у женщин с НБ и в контроле не выявило статистически значимых отличий между ними (87/93 против 177/231 соответственно; $\chi^2 = 1,04$, $d(f) = 1$; $p = 0,30$, табл. 1).

Далее изучали связь генетического фактора с НБ у женщин. Распределение частот генотипов SNP rs41551813, rs12722477 и rs41557518 гена

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА ГЕНОТИПОВ ГЕНА *HLA-G* В ИЗУЧАЕМЫХ ГРУППАХ

TABLE 3. FREQUENCY OF *HLA-G* GENOTYPES IN THE STUDY GROUPS

Полиморфизм <i>HLA-G</i> Polymorphism <i>HLA-G</i>	Генотипы/аллели Genotypes/alleles	НБ RM N (f)	Контроль Control N (f)	χ^2 ; d(f); p
Thr31Ser rs41551813	Thr/Thr Thr/Ser Ser/Ser MAF (Ser, *01:03)	171 (0,950) 9 (0,050) — 9 (0,025)	389 (0,953) 19 (0,047) — 19 (0,023)	0,53; 1; 0,76
Leu110Ile rs12722477	Leu/Leu Leu/Ile Ile/Ile MAF (Ile, *01:04)	120 (0,667) 56 (0,311) 4 (0,022) 64 (0,178)	355 (0,870) 52 (0,127) 1 (0,003) 54 (0,066)	35,07; 2; < 0,001
1597 delC rs41557518	C/C C/delC delC/delC MAF (delC, *01:05N)	169 (0,939) 11 (0,061) — 11 (0,031)	395 (0,968) 13 (0,032) — 13 (0,016)	2,03; 1; 0,11

Примечание. n — количество наблюдений; f — частота встречаемости генотипа/аллеля; MAF — частота встречаемости минорного аллеля.

Note. n, number of observations; f, frequency of genotypes/alleles; MAF, minor allele frequency.

HLA-G у женщин с НБ и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$, данные не показаны).

Сопоставление частот генотипов изучаемых SNP гена *HLA-G* у женщин с НБ и в контроле показало их значимые отличия только для SNP rs12722477 гена *HLA-G* ($\chi^2 = 35,07$, $d(f) = 2$; $p < 0,001$). Для SNP rs41551813 и rs41557518 частоты генотипов были сопоставимыми. Данные представлены в таблице 3.

Далее мы предположили, что SNP rs12722477 *HLA-G* может не только отдельно, но и в сочетании с инфекцией оказывать влияние на риск НБ у женщин. Поэтому далее изучали связь между SNP rs12722477 гена *HLA-G* и риском НБ с учетом инфекционного фактора (табл. 4). Для того чтобы подтвердить или отвергнуть нашу идею, был использован подход, предложенный В.А. Вавилиным с соавторами (2000) [2].

Так, OR, рассчитанное сопоставлением частот аллелей *HLA-G* у женщин с персистентной инфекцией в группах НБ и контроль, или, наоборот, рассчитанное только для женщин с отсутствием инфекции в этих группах, показывает влияние аллеля (OR_a) на риск НБ, но в разных условиях среды. OR, рассчитанное путем сопоставления частот вариантов *HLA-G* у

женщин с инфекцией в группе НБ и у женщин контрольной группы без инфекции, учитывает взаимодействие генетического и инфекционного факторов (OR_{a+f}). Если влияние этих факторов однонаправлено, то величина OR_{a+f} будет выше, чем OR_a для женщин без инфекции. Если же влияние этих факторов разнонаправлено, то величина OR_{a+f} будет ниже [2].

Обнаружена ассоциация аллеля 110Ile (*HLA-G*01:04*) с риском НБ как у женщин с внутриматочной инфекцией ($OR_a = 4,50$ [2,41-8,38], $p = 2,09e-06$), так и у женщин без инфекции ($OR_a = 2,46$ [1,44-4,21], $p = 0,0009$). Также обнаружена связь двух факторов с риском НБ у женщин ($OR_{a+f} = 3,50$ [2,01-6,09], $p = 8,78e-06$). Полученные нами результаты демонстрируют, что аллель 110Ile (*HLA-G*01:04*) оказывает значимое влияние на риск НБ, в том числе и на НБ, ассоциированное с инфекцией.

Обсуждение

В настоящей работе мы изучали связь трех полиморфизмов rs41551813 (Thr31Ser, аллель *HLA-G*01:03*), rs12722477 (Leu110Ile, аллель *HLA-G*01:04*) и rs41557518 (1597 delC, аллель *HLA-G*01:05N*) в кодирующей части гена *HLA-G* с риском НБ у женщин. Их продукты отличаются

ТАБЛИЦА 4. АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА RS12722477 *HLA-G* И ИНФЕКЦИИ С РИСКОМ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ (АДДИТИВНАЯ МОДЕЛЬ НАСЛЕДОВАНИЯ)

TABLE 4. ASSOCIATIONS OF THE *HLA-G* RS12722477 POLYMORPHISM WITH RISK OF RECURRENT MISCARRIAGES (ADDITIVE MODEL OF INHERITANCE, MINOR ALLELE VS COMMON ALLELE)

Leu110Ile rs12722477	Наличие инфекции (+) Presence of infection (+)		Отсутствие инфекции (-) No infection		$OR_{a(+)}$ (CI: 95%), p	$OR_{a(-)}$ (CI: 95%), p	OR_{a+f} (CI: 95%), p
	НБ RM n = 87	Контроль Control n = 177	НБ RM n = 93	Контроль Control n = 231			
Leu/Leu	54 (0,621)	156 (0,881)	66 (0,710)	199 (0,862)	4,50 (2,41-8,38), 2,09e-06	2,46 (1,44-4,21), 0,0009	3,50 (2,01-6,09), 8,78e-06
Leu/Ile	32 (0,368)	21 (0,119)	24 (0,258)	31 (0,134)			
Ile/Ile	1 (0,011)	–	3 (0,032)	1 (0,004)			
MAF (Ile)	34 (0,195)	21 (0,059)	30 (0,161)	33 (0,071)			

ТАБЛИЦА 5. СРАВНЕНИЕ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЛЕЛЕЙ *HLA-G* У ЛЮДЕЙ ДВУХ РЕГИОНОВ РОССИИ

TABLE 5. COMPARISON OF THE FREQUENCY OF *HLA-G* ALLELES IN PEOPLE IN TWO REGIONS OF RUSSIA

Аллель Allele	Западно-Сибирский регион West Siberian region (n = 408)	Северо-Западный регион [1] Northwest region [1] (n = 118)	p
<i>HLA-G*01:01</i>	87,9%	86,5%	0,68
<i>HLA-G*01:03</i>	2,3%	2,0%	0,83
<i>HLA-G*01:04</i>	6,6%	8,5%	0,48
<i>HLA-G*01:05N</i>	1,6%	2,9%	0,36

по аминокислотному составу и имеют лишь небольшое сходство в аминокислотной последовательности репертуара предоставляемых пептидов иммунокомпетентным Т- и NK-клеткам [1, 11]. Аллели *HLA-G*01:01*, *HLA-G*01:03* и *HLA-G*01:04* наиболее распространены среди европейцев [11]. В российской популяции ранее были выявлены только аллели *HLA-G*01:01*, *HLA-G*01:03*, *HLA-G*01:04* и *HLA-G*01:05N* [1]. Мы сопоставили собственные результаты с результатами исследования из Северо-Западного региона. Выяснилось, что статистически значимые отличия в частотах встречаемости аллелей *HLA-G* у относительно здоровых людей в двух регионах России отсутствуют (табл. 5).

Нами обнаружена ассоциация аллеля 110Pе (*HLA-G*01:04*) с риском НБ как инфекционного, так и неинфекционного генеза, при этом риск НБ выше у женщин с инфекцией (табл. 4). Выявлено однонаправленное взаимодействие генетического и инфекционного факторов у женщин с НБ. Наши результаты согласуются с ранее опубликованными данными относительно связи аллеля *HLA-G*01:04* с повторяющимися самопроизвольными выкидышами [5, 40] и отторжением аллотрансплантата легкого [14] и почки [27].

Аллель 110Pе *HLA-G* кодирует $\alpha 2$ -внеклеточный домен G1 изоформы белка, связанного с клеточной мембраной (mHLA-G1). Вместе с $\alpha 1$ -внеклеточным доменом они образуют антигенсвязывающую полость, содержащую специфичный для каждого человека пептид [5]. Изоформа mHLA-G1 может подвергаться протеолитическому расщеплению матриксными металлопротеиназами и «высвободиться» в виде растворимой (sHLA-G1) формы после отделения от клеточной мембраны [31]. Обе формы mHLA-G1 и sHLA-G1 имеют одинаковую специфичность к рецепторам Т- и NK-клеток [11]. Было предположено, что аминокислотная замена Leu→Pе в положении 110 экзона 3 гена *HLA-G* может структурно изменять представляемый пептид и антигенсвязывающую полость и влиять на эффективность связывания с рецепторами NK- и Т-клеток, изменяя их активность [5, 14, 28].

Эта идея недавно получила подтверждение в исследованиях на клетках линии K652, трансдуцированных вариантами *HLA-G*01:01*, *HLA-G*01:03* и *HLA-G*01:04* (отличаются друг от друга аминокислотными заменами в $\alpha 2$ -домене АГ) в качестве мишеней, и NK-клетках в качестве эффекторов. Аллель *HLA-G*01:04* связан с пептидно-опосредованными изменениями АГ, способными влиять на взаимодействие с децидуальными и периферическими NK-клетками. Как оказалось, кодируемые аллелем *HLA-G*01:04* АГ детерминанты отличаются от остальных в пред-

ставлении профиля якорной последовательности пептида NK-клеткам. Отмечено сходство в презентации пептида *HLA-G*01:04* с другим неклассическим HLA I класса — *HLA-E*01:03*, для которого высокая поверхностная экспрессия АГ связана с повышенным ингибированием активности NK-клеток через рецептор CD94/NKG2A [11, 20]. Цитотоксический тест показал, что mHLA-G*01:04 на K652 клетках обеспечивал им максимальную защиту от лизиса NK-клетками, чем mHLA-G*01:01 и mHLA-G*01:03 [11]. В подобном исследовании с децидуальными NK-клетками (dNK CD56^{bright}/CD9⁺) было найдено, что sHLA-G*01:04 и sHLA-G*01:01 на K652-клетках имели лучшую эффективность связывания с dNK-клетками, чем вариант sHLA-G*01:03. Премированные dNK-клетки пролиферировали сильнее после их инкубации с клетками K652 с mHLA-G*01:04, чем с клетками с mHLA-G*01:01 и mHLA-G*01:03 [34].

Во время беременности dNK-клетки являются самой большой популяцией (~70-80%) лейкоцитов фетоплацентарного комплекса. В отличие от периферических NK-клеток они обладают пониженной цитотоксичностью и ориентированы на индукцию цитокинов и ангиогенных факторов, необходимых для инвазии трофобласта и сосудистого ремоделирования плаценты [19, 37]. Молекулы HLA-G отсутствуют на dNK-клетках, но они могут их приобретать из клеток трофобласта или других иммунокомпетентных клеток с помощью трофоцитоза. Приобретение молекул HLA-G dNK-клетками приводит к перепрограммированию этих клеток на создание иммуносупрессивной среды, причем они не экспрессируют HLA-G, а лишь временно их демонстрируют [19].

Предполагается, что HLA-G служит лигандом для ингибирующего внутриклеточного рецептора KIR2DL4 NK-клетки, его основным взаимодействующим партнером рассматривается sHLA-G форма [11, 26]. Комплексы HLA-G — KIR2DL4 могут приводить к устойчивой внутриклеточной передаче сигналов после интернализации и поглощения HLA-G [37]. Интернализация и деградация HLA-G, приобретенного NK-клетками, может восстанавливать цитотоксическую способность и высокую воспалительную активность dNK-клеток. Как было показано для цитомегаловирусной инфекции, прерывание цикла трофоцитоз-интернализация-поглощение цитокинами и/или вирусными продуктами обеспечивало dNK-клеткам контроль над инфекцией в фетоплацентарном комплексе [37].

Во время беременности концентрация sHLA-G в плазме крови женщин на порядок выше по сравнению с небеременными женщинами [23] и имеет смешанное происхождение, часть

sHLA-G выделяется клетками трофобласта [15]. Источником материнских sHLA-G служат АПК, чьи функции направлены на поддержание толерантной среды на границе мать-плод [6].

Аллель *HLA-G*01:04* связан с более высокими концентрациями sHLA-G и sHLA-I в плазме крови доноров [29], а также в слизистой цервикального канала у небеременных женщин [36] по сравнению с другими аллелями *HLA-G*. Повышенная продукция sHLA-G у носителей этого аллеля объясняется уникальной структурой гаплотипов промотора, где присутствует предковый аллель -1155A рядом с областью контроля локуса, отвечающей за регуляцию экспрессии гена [18, 35]. В связи с этим можно было бы ожидать, что опосредованные аллелем 110Pe *HLA-G* (*HLA-G*01:04*) механизмы иммуносупрессии должны способствовать успешному развитию беременности, однако исключением могут быть первичные и/или хронические инфекции у матери.

Иммуносупрессивные свойства молекул *HLA-G* используются вирусами и внутриклеточными паразитами для разработки множества стратегий уклонения от иммунного ответа хозяина [12, 18, 19]. Высокие уровни sHLA-G в плазме крови наблюдаются при вирусных (ВИЧ, цитомегаловирус, вирус гепатита С и В) и паразитарных (*Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*) инфекциях, а также в слизистой цервикального канала у небеременных женщин с бактериальным вагинозом [16, 28, 36]. Обнаружены ассоциации аллеля *HLA-G*01:04* и чувствительностью людей к вирусам ВИЧ-1 [36, 39], гепатита С [22], ВПЧ типа 16 и 18 [32]. У финок этот аллель связан с риском вертикальной передачи папилломавирусной инфекции ребенку при рождении [21].

Воспалительные реакции, опосредованные внутриматочными инфекциями, привлекают и стимулируют дифференциацию и активацию многих иммунных клеток из периферической крови матери. Эти клетки могут служить мишенями для вирусов и способствовать их репликации и распространению [38]. Кроме того, вирусы могут индуцировать присоединение восходящих бактериальных инфекций [13]. Неконтролируемые внутриматочные вирусные и бактериальные инфекции в плаценте создают воспаление, изменяющее функции регуляторных Т-клеток и активность dNK-клеток и CD8⁺ dT-клеток памяти, дестабилизирующее иммунотолерантность в системе «мать—плод» и, вероятно, провоцирующее гибель плода [13]. Есть мнение, что менее интенсивная экспрессия гена *HLA-G* у матери может обеспечивать более устойчивый иммунный ответ против вторжения патогенов во время беременности [35].

Хотя кодирующие аллели *HLA-G* отвечают за продукцию и функции молекул *HLA-G*, было обнаружено, что отдельные SNP в 5'UTR и 3'UTR регионах гена *HLA-G* оказывают влияние на его экспрессию. Структура гаплотипов, определяемая соответствующими SNP в 5'UTR и 3'UTR регионах гена и получившая название *UTR*, сохранена в популяциях людей разных этносов и связана с продукцией sHLA-G [10, 14, 18]. Аллель *HLA-G*01:04* включает *UTR3*-гаплотип. У бразильцев *HLA-G*01:04~UTR3* гаплотип ассоциирован с промежуточной продукцией sHLA-G в периферической крови [10]. Исследования легочных заболеваний и трансплантации легкого у людей показали, что *HLA-G*01:04~UTR3* гаплотип может быть маркером воспаления и ассоциирован с нарушением долгосрочной выживаемости аллотрансплантата и низкими уровнями sHLA-G в сыворотке крови реципиентов [8, 14, 17]. Сплитами *HLA-G*01:04~UTR3* гаплотипа являются варианты *HLA-G*01:04:01~UTR3* и *HLA-G*01:04:04~UTR3*, коррелирующие у здоровых людей с повышенным и пониженным содержанием sHLA-G в сыворотке крови. Как выяснилось, оба аллеля *HLA-G*01:04:01* и *HLA-G*01:04:04* отличаются нуклеотидной последовательностью в положении +1827 (G > A, кодон 267) 4 экзона и кодируют одну и ту же аминокислоту пролин. *In silico* было найдено, что замена +1827 G > A создает экзонный криптопептический акцепторный сайт, в результате транскрипты мРНК *HLA-G*01:04* могут обрабатываться по-разному и отвечать за продукцию разного количества белка у людей [18, 30]. Известно, что снижение или нарушение продукции sHLA-G в крови у женщин на ранних этапах беременности является фактором риска самопроизвольного выкидыша или будущего осложнения беременности — преэклампсии [6].

Экспрессия гена *HLA-G* дополнительно регулируется внеклеточными факторами, их рецепторами и сигнальными молекулами [24]. Имномодулирующие свойства прогестерона связаны с поддержанием иммуносупрессии и защитой плода от отторжения иммунной системой матери [3]. Прогестерон может изменять экспрессию гена *HLA-G* через специфический сайт связывания — неклассическую коровую консенсусную последовательность длиной 15 н.п. элемента ответа на прогестерон (PRE) в 5'UTR-регионе, расположенный на 37 н.п. ниже от стартового кодона ATG и перекрывающий TATA-бокс *HLA-G* [19, 24]. *In silico* обнаружено, что по сравнению с другими гаплотипами замена G > A в положении +1827 *HLA-G*01:04~UTR3* может приводить к изменению сайта PRE и нарушать активацию экспрессии гена, способствуя потере контроля над локальным воспалением [30].

Заключение

Обнаружена ассоциация аллеля 110Ile (rs12722477, *HLA-G*01:04*) с риском НБ у женщин. В нашем исследовании внутриматочная инфекция не являлась самостоятельным фактором риска НБ у женщин. В то же время аллель 110Ile (*HLA-G*01:04*) и инфекция оказывали совместный эффект влияния на предрасположенность к НБ. Нельзя не исключить, что у женщин аллель 110Ile (*HLA-G*01:04*) может быть одним из ключевых элементов рестрикции механизма иммуно-

толерантности и материнского иммунного ответа на внутриматочную инфекцию во время беременности. Поскольку аллель-зависимая продукция молекул HLA-G дополнительно контролируется полиморфизмом в 5'URR и 3'UTR регионах гена *HLA-G*, исследование *UTR*-гаплотипов *HLA-G* может помочь расширить наши знания о механизмах иммунных нарушений в системе «мать—плод», поэтому требуется продолжить исследование. Наши результаты могут быть полезными при выборе тактики ведения и лечения женщин с НБ.

Список литературы / References

1. Аленичев А.С., Насыхова Ю.А., Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Характеристика генетической структуры популяции Северо-западного региона РФ по гену HLA-G // Экологическая генетика, 2014. Т. XII. № 2. С. 74-80. [Alenichev A.S., Nasykhova Yu.A., Ivashchenko T.E., Baranov V.S. Population genetic structure of HLA-G gene in North-west Region of Russian Federation. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*, 2014, Vol. XII, no. 2, pp. 47-80. (In Russ.)]
2. Вавилин В.А., Часовникова О.Б., Ляхович В.В., Гавалов С.М., Рябова О.А. Генетический полиморфизм глутатион-S-трансферазы M1 и T1 у детей, больных бронхиальной астмой // Вопросы медицинской химии, 2000. Т. 46, № 4. С. 388-397. [Vavilin V.A., Chasovnikova O.B., Lyakhovich V.V., Gavalov S.M., Ryabova O.A. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1 in asthmatic childrens. *Voprosy meditsinskoy khimii = Medical Chemistry Issues*, 2000, Vol. 11, no. 6, pp. 541- 548. (In Russ.)]
3. Герлинская Л.А., Варлачев А.В., Кротов Г.И., Концевая Г.В., Мошкин М.П. Иммуногенетический диалог матери и эмбрионов как фактор становления иммунного статуса потомков // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2018. Т. 22, № 8. С. 1009-1019. [Gerlinskaya L.A., Varlachev A.V., Krotov G.I., Kontsevaya G.V., Moshkin M.P. Mother-fetus immunogenetic dialogue as a factor of progeny immune system development. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2018, Vol. 22, no. 8, pp. 1009-1019. (In Russ.)]
4. Черных Е.Р., Селедцова Н.В., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Курганова Е.В., Хонина Н.А., Останин А.А., Пасман Н.М. Дендритные клетки как возможные регуляторы иммунной перестройки при беременности // Медицинская иммунология, 2009. Т. 11, № 6. С. 541-548. [Chernykh E.R., Seledtsova N.V., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Kurganova E.V., Khonina N.A., Ostanin A.A., Pasman N.M. Dendritic cells as possible regulators of immune reorganization in pregnancy. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2009, Vol. 11, no. 6, pp. 541- 548. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2009-6-541-548.
5. Aldrich C.L., Stephenson M.D., Karrison T., Odem R.R., Branch D.W., Scott J.R., Schreiber J.R., Ober C. HLA-G genotypes and pregnancy outcome in couples with unexplained recurrent miscarriage. *Mol. Hum. Reprod.*, 2001, Vol. 7, no. 12, pp. 1167-1172.
6. Alegre E., Diaz-Lagares A., Lemaout J., López-Moratalla N., Carosella E.D., González A. Maternal antigen presenting cells are a source of plasmatic HLA-G during pregnancy: longitudinal study during pregnancy. *Hum. Immunol.*, 2007, Vol. 68, no. 8, pp. 661-667.
7. Amiot L., Vu N., Samson M. Immunomodulatory properties of HLA-G in infectious diseases. *J. Immunol. Res.*, 2014, Vol. 2014, 298569. doi: 10.1155/2014/298569.
8. Carlini F., Picard C., Garulli C., Piquemal D., Roubertoux P., Chiaroni J., Chanez P., Gras D., Di Cristofaro J. Bronchial epithelial cells from asthmatic patients display less functional HLA-G isoform expression. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 6. doi: 10.3389/fimmu.2017.00006.
9. Carosella E.D., Gregori S., LeMaout J. The tolerogenic interplay(s) among HLA-G, myeloid APCs, and regulatory cells. *Blood.*, 2011, Vol. 118, no. 25, pp. 6499-6505.
10. Castelli E.C., Mendes-Junior C.T., Deghaide N.H.S., de Albuquerque R.S., Muniz Y.C.N., Simões R.T., Carosella E.D., Moreau P., Donadi E.A. The genetic structure of 3'untranslated region of the HLA-G gene: polymorphisms and haplotypes. *Genes Immun.*, 2010, Vol. 11, no. 2, pp. 134-141.
11. Celik A.A., Simper G.S., Huyton T., Blasczyk R., Bade-Döding C. HLA-G mediated immune regulation is impaired by a single amino acid exchange in the alpha 2 domain. *Hum. Immunol.*, 2018, Vol. 79, no. 6, pp. 453-462.
12. Celsi F., Catamo E., Kleiner G., Tricarico P.M., Vuch J., Crovella S. HLA-G/C, miRNAs, and their role in HIV infection and replication. *Biomed. Res. Int.*, 2013, Vol. 2013, 693643. doi: 10.1155/2013/693643.
13. Crespo Â.C., van der Zwan A., Ramalho-Santos J., Strominger J.L., Tilburgs T. Cytotoxic potential of decidual NK cells and CD8⁺ T cells awakened by infections. *J. Reprod. Immunol.*, 2017, Vol. 119, pp. 85-90.

14. Cristofaro J.D., Reynaud-Gaubert M., Carlini F., Roubertoux P., Loundou A., Basire A., Frassati C., Thomas P., Gomez C., Picard C. HLA-G*01:04-UTR3 recipient correlates with lower survival and higher frequency of chronic rejection after lung transplantation. *Am. J. Transplant.*, 2015, Vol. 15, no. 9, pp. 2413-2420.
15. Dahl M., Klitkou L., Christiansen O.B., Djuricic S., Piosik Z.M., Skovbo P., Møller A.M., Steffensen R., Hviid T.V.F. Human leukocyte antigen (HLA)-G during pregnancy part II: associations between maternal and fetal HLA-G genotypes and soluble HLA-G. *Hum. Immunol.*, 2015, Vol. 76, no. 4, pp. 260-271.
16. d'Almeida T.C., Sadissou I., Sagbohan M., Milet J., Avokpaho E., Gineau L., Sabbagh A., Moutairou K., Donadi E.A., Favier B., Penetier C., Baldet T., Moiroux N., Carosella E., Moreau P., Rouas-Freiss N., Cottrell G., Courtin D., Garcia A. High level of soluble human leukocyte antigen (HLA)-G at beginning of pregnancy as predictor of risk of malaria during infancy. *Sci Rep.*, 2019, Vol. 9, no. 1, 9160. doi: 10.1038/s41598-019-45688-w.
17. di Cristofaro J., El Moujally D., Agnel A., Mazieres S., Cortey M., Basire A., Chiaroni J., Picard C. HLA-G haplotype structure shows good conservation between different populations and good correlation with high, normal and low soluble HLA-G expression. *Hum Immunol.*, 2013, Vol. 74, no. 2, pp. 203-206.
18. Donadi E.A., Castelli E.C., Arnaiz-Villena A., Roger M., Rey D., Moreau P. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011, Vol. 68, no. 3, pp. 369-395.
19. Ferreira L.M.R., Meissner T.B., Tilburgs T., Strominger J.L. HLA-G: at the interface of maternal-fetal tolerance. *Trends Immunol.*, 2017, Vol. 38, no. 4, pp. 272-286.
20. Jucaud V., Ravindranath M.H., Terasaki P.I. Immunobiology of HLA class-Ib molecules in transplantation. *SOJ Immunol.*, 2015, Vol. 3, no. 4, pp. 1-15.
21. Louvanto K., Roger M., Faucher M.C., Syrjänen K., Grenman S., Syrjänen S. HLA-G and vertical mother-to-child transmission of human papillomavirus infection. *Hum. Immunol.*, 2018, Vol. 79, no. 6, pp. 471-476.
22. Martinetti M., Pacati I., Cuccia M., Badulli C., Pasi A., Salvaneschi L., Minola E., De Silvestri A., Iannone A.M., Maccabruni A. Hierarchy of baby-linked immunogenetic risk factors in the vertical transmission of hepatitis C virus. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 2006, Vol. 19, no. 2, pp. 369-378.
23. Morandi F., Rizzo R., Fainardi E., Rouas-Freiss N., Pistoia V. Recent advances in our understanding of HLA-G biology: lessons from a wide spectrum of human diseases. *J. Immunol. Res.*, 2016, Vol. 2016, 4326495. doi: 10.1155/2016/4326495.
24. Moreau P., Flajollet S., Carosella E.D. Non-classical transcriptional regulation of HLA-G: an update. *J. Cell. Mol. Med.*, 2009, Vol. 13, no. 9B, pp. 2973-2989.
25. Nilsson L.L., Djuricic S., Hviid T.V.F. Controlling the immunological crosstalk during conception and pregnancy: HLA-G in reproduction. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 13, no. 5, 198. doi: 10.3389/fimmu.2014.00198.
26. Persson G., Melsted W.N., Nilsson L.L., Hviid T.V.F. HLA class Ib in pregnancy and pregnancy-related disorders. *Immunogenetics*, 2017, Vol. 69, no. 8-9, pp. 581-595.
27. Pirri A., Contieri F.C., Benvenuti R., Bicalho M.G. A study of HLA-G polymorphism and linkage disequilibrium in renal transplant patients and their donors. *Transpl. Immunol.*, 2009, Vol. 20, no. 3, pp. 143-149.
28. Rebmann V., da Silva Nardi F., Wagner B., Horn P.A. HLA-G as a tolerogenic molecule in transplantation and pregnancy. *J. Immunol. Res.*, 2014, Vol. 2014, 297073. doi: 10.1155/2014/297073.
29. Rebmann V., van der Ven K., Pässler M., Pfeiffer K., Krebs D., Grosse-Wilde H. Association of soluble HLA-G plasma levels with HLA-G alleles. *Tissue Antigens*, 2001, Vol. 57, pp. 15-21.
30. Ribeyre C., Carlini F., René C., Jordier F., Picard C., Chiaroni J., Abi-Rached L., Gouret P., Marin G., Molinari N., Chanez P., Paganini J., Gras D., Di Cristofaro J. HLA-G Haplotypes Are Differentially Associated with Asthmatic Features. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 278. doi: 10.3389/fimmu.2018.00278.
31. Rizzo R., Gabrielli L., Bortolotti D., Gentili V., Piccirilli G., Chiereghin A., Pavia C., Bolzani S., Guerra B., Simonazzi G., Cervi F., Capretti M.G., Fainardi E., Luca D.D., Landini M.P., Lazzarotto T. Study of Soluble HLA-G in Congenital Human Cytomegalovirus Infection. *J. Immunol. Res.*, 2016, Vol. 2016, 3890306. doi: 10.1155/2016/3890306.
32. Simões R.T., Gonçalves M.A., Castelli E.C., Júnior C.M., Bettini J.S., Discorde M.L., Duarte G., Quintana S.M., Simões A.L., Moreau P., Carosella E.D., Soares E.G., Donadi E.A. HLA-G polymorphisms in women with squamous intraepithelial lesions harboring human papillomavirus. *Mod. Pathol.*, 2009, Vol. 22, no. 8, pp. 1075-1082.
33. Singh M., Rajak J., Kadam S., Rajadhyaksha S.B. Alloimmunization and role of HLA in pregnancy. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.84211>.
34. Stieglitz F., Celik A.A., von Kaisenberg C., Camps M.A., Blasczyk R., Bade-Döding C. The microstructure in the placenta is influenced by the functional diversity of HLA-G allelic variants. *Immunogenetics*, 2019, Vol. 71, no. 7, pp. 455-463.
35. Tan Z., Shon A.M., Ober C. Evidence of balancing selection at the HLA-G promoter region. *Hum. Mol. Genet.*, 2005, Vol. 14, no. 23, pp. 3619-3628.
36. Thibodeau V., Lajoie J., Labbe A.C., Zannou M.D., Fowke K.R., Alary M., Poudrier J., Roger M. High level of soluble HLA-G in the female genital tract of Beninese commercial sex workers is associated with HIV-1 infection. *PLoS ONE*, 2011, Vol. 6, e25185. doi: 10.1371/journal.pone.0025185.
37. Tilburgs T., Evans J.H., Crespo A.C., Strominger J.L. The HLA-G cycle provides for both NK tolerance and immunity at the maternal-fetal interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, Vol. 112, no. 43, pp. 13312-13317.
38. Tilburgs T., Strominger J.L. CD8⁺ effector T cells at the fetal-maternal interface, balancing fetal tolerance and antiviral immunity. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2013, Vol. 69, no. 4, pp. 395-407.

39. Turk W.J., Kimani J., Bielawny T., Wachih C., Ball T.B., Plummer F.A., Luo M. Associations of human leukocyte antigen-G with resistance and susceptibility to HIV-1 infection in the Pumwani sex worker cohort. *AIDS*, 2013, Vol. 27, pp. 7-15.

40. Vargas R.G., Sarturi P.R., Mattar S.B., Bompeixe E.P., Silva J.S., Pirri A., Bicalho M.G. Association of HLA-G alleles and 3' UTR 14 bp haplotypes with recurrent miscarriage in Brazilian couples. *Hum. Immunol.*, 2011, Vol. 72, no. 6, pp. 479-485.

Авторы:

Гордеева Л.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Воронина Е.Н. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

Поленок Е.Г. — к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Мун С.А. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Нерсисян С.Л. — врач-генетик медико-генетической консультации ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», г. Кемерово, Россия

Оленникова Р.В. — врач-генетик медико-генетической консультации ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», г. Кемерово, Россия

Филипенко М.Л. — к.б.н., заведующий лабораторией фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия

Глушков А.Н. — д.м.н., заместитель директора, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (Институт экологии человека СО РАН), г. Кемерово, Россия

Authors:

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

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

Polenok E.G., PhD (Pharmacy), Leading Research Associate, Laboratory of Immunochemistry, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Human Ecology, SB RAS), Kemerovo, Russian Federation

Mun S.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Human Ecology, SB RAS), Kemerovo, Russian Federation

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

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

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

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