

УДК: 618.396: 616 - 097.1

Анохова Л.И., Белокриницкая Т.Е., Тарбаева Д.А., Смоляков Ю.Н.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ HLAII-DRB1 У ПАЦИЕНТОК С ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМИ РОДАМИ

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования Читинская государственная медицинская академия  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Чита, Россия*

**Цель исследования.** Изучение распространенности полиморфизма генов лейкоцитарного антигена человека II класса HLA-DRB1 у пациенток с преждевременными родами.

**Материалы и методы.** Обследовано 158 женщин с преждевременными родами (основная группа). В группу сравнения включены 74 здоровые беременные, родившие в срок. Молекулярно-генетическое типирование для выявления групп аллелей гена DRB1 главного комплекса тканевой совместимости человека проведено на ДНК, полученной из периферической крови. В качестве метода исследования использована полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени.

**Результаты.** Обнаружено протективное влияние (снижение риска наступления преждевременных родов) генотипов HLAII: DRB1\*01\*15, DRB1\*03\*07, DRB1\*04\*07, DRB1\*04\*07, DRB1\*11\*15 и DRB1\*13\*15. Так, DRB1\*01\*15 в 13,9 раз, DRB1\*03\*07 в 9,5 раз снижают шанс наступления преждевременных родов.

**Заключение.** Результаты подтверждают наследственную предрасположенность к преждевременным родам. Некоторые полученные ассоциативные связи HLA с преждевременными родами, объяснимы, вероятно, полигенным контролем иммунного ответа, что ограничивает реализацию биологических эффектов, детерминированных различными генами системы HLA.

**Ключевые слова:** преждевременные роды, HLAII-DRB1, полиморфизм.

*Anokhova L.I., Belokrinitskaya T.E., Tarbaeva D.A., Smolyakov Y.N.  
POLYMORPHISM OF GENES HLA II-DRB1 IN PRETERM LABOR  
Chita State Medical Academy*

**Summary.** The aim of study was to investigate the prevalence of polymorphisms of HLAII-DRB1 genes in patients with preterm labor. The study involved 158 women with preterm labor (study group). The comparison group included 74 healthy pregnant women with term labor. Molecular genetic typing for the detection of groups of alleles of the DRB1 gene of Human Leukocyte Antigen (HLA) was performed on DNA obtained from peripheral blood. Polymerase chain reaction with real-time detection was used as a research method.

**Results.** A protective effect (decrease in the risk of premature labor) of HLAII genotypes was found: DRB1\*01\*15, DRB1\*03\*07, DRB1\*04\*07, DRB1\*04\*07, DRB1\*11\*15 and DRB1\*13\*15. Thus, DRB1\*01\*15, DRB1\*03\*07 reduce the chance of premature labor at 13.9 and 9.5 times.

**Conclusion.** The results confirm the hereditary predisposition to premature labor. Associative links of HLA with preterm labor are probably explained by polygenic control of the immune response, which limits the realization of biological effects determined by the different genes of the HLA system.

**Keywords:** premature labor, HLAII-DRB1, polymorphism.

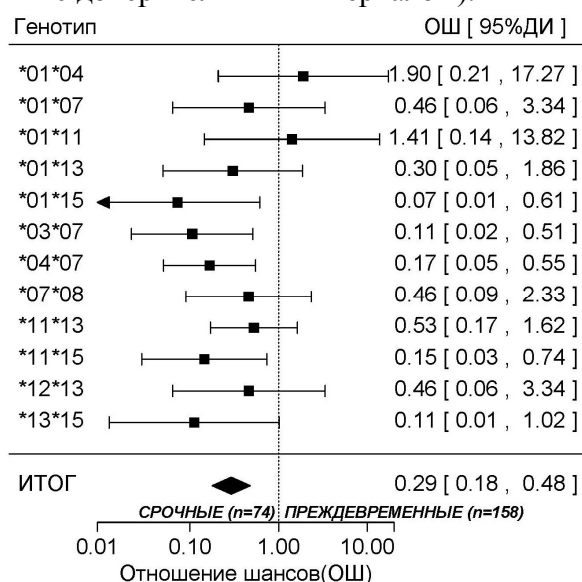
**Введение.** Преждевременные роды (ПР) являются мировой проблемой акушерства и перинатологии. По оценкам ВОЗ ежегодно до 15 млн. детей рождаются преждевременно, а 1 млн. умирает из-за осложнений, связанных с ПР [2, 3]. В настоящее время продолжается поиск предикторов ПР. Несмотря на большое количество известных методов прогнозирования и биомаркеров, чувствительность используемых тестов не высока и составляет 40–60%. Более половины случаев ПР остаются не прогнозируемыми. Большие надежды возлагаются на современные иммунологические и генетические тесты, что, вероятно, позволит оценивать риск наступления ПР.

Учитывая актуальность и большую встречаемость ПР, актуален поиск взаимосвязи полиморфизма генов HLAII-DRB1 с развитием изучаемой патологии.

**Целью** настоящей работы явилось изучение распространенности полиморфизма генов лейкоцитарного антигена человека II класса HLA-DRB1 у пациенток с преждевременными родами.

**Материалы и методы исследования.** Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол №44 от 09.11.2012г.). Для реализации поставленной цели обследовано 158 женщин (основная группа), беременность у которых завершилась преждевременно. В группу сравнения включены путем случайного отбора 74 здоровые беременные, родившие в срок. Пациентки обеих групп сопоставимы по паритету и возрасту. Молекулярно-генетическое типирование для выявления групп аллелей гена DRB1 главного комплекса тканевой совместимости человека проведено на ДНК, полученной из периферической крови. В качестве метода исследования использована полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени (Амплификатор «ДТ-96», ООО «ДНК-Технология», Москва) с использованием комплекта реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА и ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-Технология»). Для сравнения распределений частот генотипов в двух группах использовался критерий  $\chi^2$ . Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к изучаемой патологии судили по статистическому показателю отношения шансов (ОШ) развития преждевременных родов. При значениях  $ОШ > 1$  – фактор имеет прямую связь с вероятностью наступления исхода (преждевременные роды).  $ОШ < 1$  свидетельствует о том, что фактор имеет обратную связь с вероятностью наступления исхода. При  $ОШ = 1$ , шансы обнаружить фактор риска в сравниваемых группах одинаковы: фактор не оказывает влияния на вероятность исхода. В каждом случае оценивали статистическую значимость ОШ исходя из значений 95% доверительного интервала [95%ДИ]. Границы доверительного интервала вычисляли по формуле В. Woolf [8]. Если ДИ не пересекает 1 (оба значения границ или выше, или ниже 1), связь между фактором и исходом статистически значима ( $p < 0,05$ ). При [95%ДИ], охватывающем верхнюю границу  $> 1$ , а нижнюю  $< 1$ , влияние фактора ниже уровня значимости ( $p > 0,05$ ). Статистический анализ выполнен с помощью языка R (<http://cran.r-project.org>) версии 3.3.2.

**Результаты и обсуждение.** На основании сравнительного анализа распределения генотипов HLAII-DRB1 у здоровых (роды в срок) и пациенток с преждевременными родами обнаруженные генотипы представлены на Рис. 1 (диаграмма, показывающая оцененный эффект в каждом исследовании с доверительным интервалом).



**Рис.1.** Риск развития преждевременных родов у женщин-носительниц различных генотипов HLAII-DRB1.

В левой колонке перечислены генотипы HLAII-DRB1 в хронологическом порядке сверху вниз. Правая колонка Рис. 1 представлена измерениями эффекта (ОШ) горизонтальными линиями с [95% ДИ].

Особый интерес в работе определил факт выявленного противоположного воздействия генотипов, снижающих риск наступления преждевременных родов: таковым обладают генотипы DRB1\*01\*15, DRB1\*03\*07, DRB1\*04\*07 и DRB1\*11\*15. Так, генотип DRB1\*01\*15

в 13,9 раз ( $\chi^2=9,62$ ,  $p=0,0002$ ), а DRB1\*03\*07 в 9,4 раз ( $\chi^2=11,1$ ,  $p=0,0008$ ) снижают шанс наступления преждевременных родов. Противопологающим действием также обладают генотипы DRB1\*04\*07 в 6 раз ( $\chi^2=10,7$ ,  $p=0,0001$ ), DRB1\*11\*15 в 6,9 раза ( $\chi^2=71$ ,  $p=0,008$ ), DRB1\*13\*15 в 9 раз ( $\chi^2=5,44$ ,  $p=0,02$ ) (Рис. 1). Проведенные нами исследования в группе с преждевременными родами подтверждают роль наследственной предрасположенности к данной акушерской патологии.

Следует отметить, что анализ встречаемости генотипов в зависимости от срока преждевременных родов не выявил значимой разницы. В настоящее время благодаря развитию методов молекулярной генетики появилась реальная возможность проводить HLA DRB1 типирование на уровне генов и антигенов как у здоровых лиц, так и больных при различной патологии: послеродовом эндометрите [1]; при невынашивании беременности [6]; при ПР и плацентарной недостаточности, преэклампсии, СЗРП [5, 7], у беременных с гриппом АН1N1pdm2009 [4, 9] и др. Заслуживают внимание данные D.K.Li и соавторов, касающиеся механизмов наследования HLA-типирования матери и плода. Авторами установлено, что при наличии общих аллелей по локусу DRB1 у матери и плода риск очень ранних преждевременных родов в 5 раз выше, чем у пар мать-ребенок, где отсутствует совместимость [12].

D. Alecsandru и J.A.Garcia-Velasco отметили важную роль в этиологии преждевременных родов посредством передачи аллелей от гетерозиготных матерей, нежели от гетерозиготных отцов [7].

Особого внимания заслуживает работа С.G. Kim в соавторстве с R. Romero, с убедительными доказательствами того, что воспалительные изменения в плаценте при ПР обусловлены не только воздействием инфекционного фактора, но имеют иммунное происхождение, в том числе от воздействия анти-HLA антител [10].

Так, J.Lee и соавторы провели исследование, в котором доказательно представили, что наличие антител к HLA во втором триместре гестации повышает риск самопроизвольных ПР в связи с отторжением, опосредованным антителами-HLA [11].

**Выводы.** Несмотря на многочисленные исследования этиологии ПР, а также применение комплексных методов терапии, частота изучаемого осложнения остается высокой. В этой связи дальнейшие исследования полиморфизма генов HLAII – DRB1 актуальны и будут востребованы. Некоторые полученные ассоциативные связи HLA с преждевременными родами, объяснимы, вероятно, полигенным контролем иммунного ответа, что ограничивает реализацию биологических эффектов, детерминированных различными генами системы HLA. Генотипы DRB1\*01\*15, DRB1\*03\*07, DRB1\*04\*07, DRB1\*11\*15 и DRB1\*13\*15, могут выступать протекторами, поскольку их встречаемость у пациенток с преждевременными родами ниже.

### Литература:

1. Анохова Л.И., Белокриницкая Т.Е., Патеюк А.В. Распределение антигенов HLA при послеродовом эндометрите // Вестник НГУ. 2013. Т. 11. № 1. С. 176-179.
2. ВОЗ. Преждевременные роды. Информационный бюллетень № 363 ноябрь 2016г. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/ru/> (дата обращения 01.03.2017).
3. Преждевременные роды. Клинические рекомендации (протокол). Письмо Минздрава России от 17.12.2013 № 15-4/10/2-9480.
4. Тарбаева Д.А., Белокриницкая Т.Е. Генетический полиморфизм HLA DRB1 специфичностей у беременных с гриппом АН1N1pdm2009 // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. № 4. С. 63-68.
5. Хорошкеева О.В., Тетрушвили Н.К., Агаджанова А.А., Бурменская О.В., Трофимов Д.Ю. Полная гистосовместимость матери и плода как один из факторов преждевременных родов и плацентарной недостаточности // Акушерство и гинекология. 2015. №10. С. 103-106.
6. Хорошкеева О.В., Тетрушвили Н.К., Бурменская О.В., Агаджанова А.А., Трофимов Д.Ю. Роль антигенов главного комплекса гистосовместимости в реализации привычного выкидыша // Акушерство и гинекология. 2016. №3. С. 5-10.

7. Alecsandru D., Garcia-Velasco J.A. Immunology and human reproduction // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2015. V. 27. N 3. P. 231-234.
8. Anderson S. Biostatistics: A computing approach. NY : CRC Press. 2012. 326 p.
9. Wang S. F. et al. Human-leukocyte antigen class I Cw 1502 and class II DR 0301 genotypes are associated with resistance to severe acute respiratory syndrome (SARS) infection // *Viral immunology.* 2011. V. 24. N 5. P. 421-426.
10. Kim C.G., Romero R., Chaemsathong P., Kim J.S. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis and clinical significance // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015. V. 213. N 4. P. S53-S69.
11. Lee J., Romero R., Xu Y., Miranda J., Yoo W., Chaemsathong P. Detection of anti-HLA antibodies in maternal blood in the second trimester to identify patients at risk of antibody-mediated maternal anti-fetal rejection and spontaneous preterm delivery // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013. V. 70. N 2. P. 161-75.
12. Li D.K., Odouli R., Liu I., Vinson M., Trachtenberg E. Transmission of parentally shared human leukocyte antigen alleles and the risk of preterm delivery // *Obstet. Gynecol.* 2004. V. 104. N 3. P. 594-600.

#### References:

1. Anohova L.I., Belokrinickaja T.E., Patejuk A.V. Distribution of HLA antigens in the postpartum endometrium. *Vestnik NGU.* 2013. T.11. No 1. P. 176-179 (in Russian).
2. WHO. Preterm birth. Fact sheet 363. Reviewed November 2016. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363> (access date 01.03.2017).
3. Premature birth. Clinical recommendations (protocol). *Pis'mo Minzdrava Rossii ot 17.12.2013 № 15-4/10/2-9480.*
4. Tarbaeva D.A., Belokrinickaja T.E. Genetic polymorphism of HLA DRB1 specificities in pregnant women with influenza AH1N1pdm2009. *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk.* 2014. N 4. P. 63-68 (in Russian).
5. Horoshkeeva O.V., Tetrushvili N.K., Agadzhanova A.A., Burmenskaja O.V., Trofimov D.Ju. Complete histocompatibility of the mother and fetus as one of the factors of premature birth and placental insufficiency. *Akusherstvo i ginekologija.* 2015. No 10. P. 103-106 (in Russian).
6. Horoshkeeva O.V., Tetrushvili N.K., Burmenskaja O.V., Agadzhanova A.A., Trofimov D.Ju. The role of antigens of the Human Leukocyte Antigens complex in the realization of a habitual miscarriage. *Akusherstvo i ginekologija.* 2016. No 3. P. 5-10 (in Russian).
7. Alecsandru D., Garcia-Velasco J.A. Immunology and human reproduction // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2015. V. 27. N 3. P. 231-234.
8. Anderson S. Biostatistics: A computing approach. NY : CRC Press. 2012. 326 p.
9. Wang S. F. et al. Human-leukocyte antigen class I Cw 1502 and class II DR 0301 genotypes are associated with resistance to severe acute respiratory syndrome (SARS) infection // *Viral immunology.* 2011. V. 24. N 5. P. 421-426.
10. Kim C.G., Romero R., Chaemsathong P., Kim J.S. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis and clinical significance // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015. V. 213. N 4. P. S53-S69.
11. Lee J., Romero R., Xu Y., Miranda J., Yoo W., Chaemsathong P. Detection of anti-HLA antibodies in maternal blood in the second trimester to identify patients at risk of antibody-mediated maternal anti-fetal rejection and spontaneous preterm delivery // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013. V. 70. N 2. P. 161-75.
12. Li D.K., Odouli R., Liu I., Vinson M., Trachtenberg E. Transmission of parentally shared human leukocyte antigen alleles and the risk of preterm delivery // *Obstet. Gynecol.* 2004. V. 104. N 3. P. 594-600.