

## РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ИММУННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПО HLA В СИСТЕМЕ «МАТЬ-ПЛОД» В РЕАЛИЗАЦИИ РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ СПОРАДИЧЕСКИХ СЕПТАЛЬНЫХ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ СЕРДЦА БЕЗ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ПОСЛЕДУЮЩЕМ ПОКОЛЕНИИ

© 2018 г. С. В. Горшкова<sup>1,2\*</sup>, А. В. Шабалдин<sup>1,2</sup>, Л. В. Антонова<sup>1</sup>,  
А. А. Коростелев<sup>2</sup>, Е. В. Шабалдина<sup>2</sup>

\*E-mail: sofi28.95@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Министерства науки и высшего образования РФ, Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Кемерово, Россия

Эпидемиологические исследования показывают сохраняющийся рост врожденных пороков сердца (ВПС) в промышленных регионах России и мира. В тоже время эффективной программы прегравидарного прогнозирования риска формирования ВПС не существует. Иммунные нарушения в системе «мать-эмбрион» в эмбриональном периоде определяют выраженность альтерирующего компонента воспаления, как фактора тератогенеза, в том числе и в сердечно-сосудистой системе. Новый метод оценки иммунных взаимодействий в системе «мать-эмбрион» показал эффективность выявления нарушений иммунного распознавания по HLA ассоциированных с рождением детей, имеющих спорадические септальные ВПС.

**Ключевые слова:** Врожденные пороки сердца, смешанная культура лимфоцитов, HLA

DOI: 10.31857/S102872210002624-1

### Авторы:

**Горшкова С. В.**, лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий, отдела экспериментальной и клинической кардиологии ФГБНУ «Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Министерства науки и высшего образования РФ; студентка шестого курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Кемеровского государственного медицинского университета» МЗ РФ, Кемерово, Россия;

**Шабалдин А. В.**, д.м.н., в.н.с. лаборатории клеточных технологий, отдела экспериментальной и клинической кардиологии ФГБНУ «Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Министерства науки и высшего образования РФ; профессор кафедры оториноларингологии и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Кемеровского государственного медицинского университета» МЗ РФ, Кемерово, Россия;

**Антонова Л. В.**, к.м.н., заведующая лабораторией клеточных технологий, отдела экспериментальной и клинической кардиологии ФГБНУ «Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Кемерово, Россия;

**Коростелев А. А.**, д.м.н., профессор, профессор кафедры оториноларингологии и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Кемеровского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Россия;

**Шабалдина Е. В.**, д.м.н., доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Кемеровского государственного медицинского университета» МЗ РФ, Кемерово, Россия.

**Введение.** Эпидемиологические исследования в России и в мире показывают, что врожденные пороки сердца (ВПС) у детей являются лидирующей врожденной и наследственно патологией [1, 2]. Для Кемеровской области отмечен годовой рост этой патологии в течении последних 10 лет. Эффективной программы прегравидарного прогнозирования риска формирования ВПС не существует. В тоже время, именно прогнозирование этого риска на этапе планирования беременности является перспективным для современной медицины, так как может предотвращать рождение детей с ВПС. Поиск материнских и отцовских иммунологических критериев, определяющих иммунные нарушения в системе «мать-эмбрион/плод», как факторов индукции иммунного стресса и альтерирующего компонента воспаления, является наиболее перспективным, так как дает возможность разработки методов иммунопрофилактики ВПС на этапе планирования беременности. Доказано, что эффективный иммунный ответ материнских иммунокомпетентных клеток на молекулы HLA отцовского происхождения являются основой для адекватных иммунных взаимодействий в системе «мать-эмбрион/плод» и, соответственно, для антитератогенной защиты.

**Цель настоящего исследования** заключалась в определении дефицита иммунного распознавания материнскими лимфоцитами отцовских HLA и анти-HLA гуморальной супрессии у женщин, имеющих детей с врожденными пороками сердца.

**Материалы и методы.** Проведено обследование 21 семейной пары (основная группа), имеющих детей со спорадическими септальными ВПС без хромосомных болезней (дефект межжелудочковой перегородки), 50 семейных пар (группа сравнения), имеющих две и более репродуктивные потери (выкидыши, замершие беременности) в ранние сроки гестации (до 9 недель), и контрольной группы семей с тремя и более здоровыми детьми ( $n=35$ ). Проведено обследование всех семейных групп с помощью собственного разработанного и запатентованного метода оценки иммунного ответа женских лимфоцитов на мужские в их смешанной культуре (СКЛ) [3]. Эффективность иммунного ответа оценивали по коэффициенту прироста (КП) экспрессии HLA-DR на различных субпопуляциях лимфоцитов в СКЛ по отношению к спонтанным женским и мужским культурам лимфоцитов. Характер иммуномодулирующего эффекта женской аутоыворотки на СКЛ супругов оценивали по степени блокирования (коэффициент блокирования – КБ) или активации (коэффициент активации – КА) СКЛ с добавлением женской аутоыворотки, по отношению к СКЛ с ЭТС.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 10.0. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Проведенное исследование показало, что в группе семей, имеющих двух и более детей иммунное распознавание материнскими лимфоцитами HLA на мужских лимфоцитах, оцененное в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) супругов, было эффективным (КП =  $21,17 \pm 2,41\%$ ). В то время как в группе семей с репродуктивными потерями (группа сравнения) этот показатель, был статистически значимо снижен (КП =  $6,95 \pm 4,53\%$ ,  $p < 0,05$ ). В семьях, имеющих ВПС (основная группа), иммунное распознавание материнскими лимфоцитами HLA на лимфоцитах супругов было сопоставимо с контрольной группой (КП =  $23,05 \pm 8,92\%$ ) и соответственно отличалось от группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Эти данные указывают, что характер иммунного распознавания по HLA в системе «мать-эмбрион» при нарушениях в эмбриогенезе сердца не нарушено.

Оценка иммуносупрессорного потенциала женской аутоыворотки на СКЛ супругов (с учетом распознавания «женщина-мужчина» и «мужчина-женщина») показала, что в контрольной группе семей имело место подавление экспрессии HLA-DR на женских CD3-отрицательных лимфоцитах в СКЛ супругов (КБ =  $-84,31 \pm 77,01\%$ ) и активацию экспрессии HLA-DR на женских CD3-положительных лимфоцитах (КА =  $+81,49 \pm 18,55\%$ ). Этот феномен имеет биологический смысл, укладывающийся в общее представление об иммунологии репродукции, подавляются В-лимфоциты способные синтезировать активные (в отношении аллогенных HLA) антитела и активируются как эффекторные Т-лимфоциты способные защитить эмбрион от ксено- и резидентных вирусов, так и регуляторные Т-лимфоциты, способствующие имплантации и трофики зародыша [4, 5].

В группе семей с репродуктивными потерями (группа сравнения) ситуация носила прямо противоположный характер, под действием женской аутоыворотки активировалась в СКЛ экспрессия HLA-DR на женских CD3-отрицательных лимфоцитах (КА =  $+2036,68 \pm 533,09\%$ ) и подавлялась на CD3-положительных лимфоцитах (КБ =  $-3080,47 \pm 1367,74\%$ ). По этим показателям контрольная группа и группа сравнения имели значимые различия ( $p < 0,001$ ).

В основной группе семей, имеющих детей с ВПС, женская аутоыворотка проявляла выраженный супрессорный эффект на СКЛ. Для субпопуляции CD3-отрицательных лимфоцитов КБ экспрессии HLA-DR составлял ( $-$ )  $3100,6 \pm 2331,43\%$ , а для субпопуляции CD3-положительных лимфоцитов был равен ( $-$ )  $330,02 \pm 139,84\%$ . Для основной группы получены значимые различия по этим показателям как с контрольной группой ( $p < 0,01$ ), так и с группой сравнения ( $p < 0,001$ ).

**Обсуждение/выводы.** Проведенное исследование показало высокий уровень подавления экспрессии HLA-DR на материнских лимфоцитах гуморальными иммунными факторами собственной сыворотки крови женщин, имеющих детей с ВПС. Высокий уровень подавления экспрессии основных молекул, участвующих в межклеточных контактах при формировании, вынашивании ранних сроков беременности и текущем эмбриогенезе, является важным фактором в тератогенезе сердечно-сосудистой системы.

Врожденные пороки сердца у детей ассоциированы с высоким уровнем супрессии в отношении экспрессии HLA-DR.

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 546—2015—0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. <http://www.eurocat-network.eu>
2. Шабалдин А. В. Медико-социальные предикторы врожденных пороков сердца у детей крупного промышленного центра / А. В. Шабалдин, С. А. Шмелевич, А. В. Цепочкина // Детские болезни сердца и сосудов.— 2015.— № 1—С. 36—41. [*Shabaldin A. V. Medico-social predictors of congenital heart disease in*
- children of a large industrial center / A. V. Shabaldin, S. A. Shmulevich, A. V. Tsepokina // *Children's diseases of the heart and blood vessels.*— 2015.— No. 1—P. 36—41].
3. Патент РФ № 2581925 «Способ определения аллогенного иммунного ответа в кратковременной смешанной культуре лимфоцитов неродственных доноров» / Чистякова Г. Н., Шабалдин А. В., Беленкова О. В. / 2016 год. [RF patent No. 2581925 “Method for determining the allogeneic immune response in a short-term mixed culture of lymphocytes from unrelated donors” / Chistyakova G. N., Shabaldin A. V., Belenkova O. V. / 2016 year].
4. Патент РФ № 2585091 «Способ определения антител к аллогенным HLA-G» / Шабалдин А. В., Беленкова О. В., Шабалдина Е. В. / 2016 год. [RF patent No. 2585091 “Method for the determination of antibodies to allogeneic HLA-G” / Shabaldin AV, Belenkova OV, Shabaldina EV / 2016 year].
5. *Erlebacher A.* Immunology of the maternal-fetal interface. / A. Erlebacher // *Annu Rev Immunol.*— 2013.— V.31.— p. 387—411.

### THE ROLE OF IMMUNE INTERACTIONS ON HLA IN THE MATERNAL—FETAL SYSTEM IN IMPLEMENTATION OF THE RISK OF FORMING SPORADIC SEPTAL CONGENITAL HEART DISEASES WITHOUT CHROMOSOMAL DISEASES IN THE FOLLOWING GENERATION

© 2018 S. V. Gorshkova<sup>1,2</sup>, A. V. Shabaldin<sup>1,2</sup>, L. V. Antonova<sup>1</sup>, A. A. Korostelev<sup>2</sup>, E. V. Shabaldina<sup>2</sup>

\*E-mail: [sofi28.95@mail.ru](mailto:sofi28.95@mail.ru)

<sup>1</sup>FSBI Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Kemerovo State Medical University MH RF, Kemerovo, Russia

Epidemiological studies show a continuing increase in congenital heart disease (CHD) in industrial regions of Russia and the world. At the same time, there is no effective program for pre-gravity forecasting of the risk of forming the CHD. Immune disorders in the system “mother-embryo” in the embryonic period determine the severity of the altering component of inflammation, as a factor of teratogenesis, including in the cardiovascular system. A new method for evaluating immune interactions in the “mother-embryo” system has shown the effectiveness of detecting immune recognition disorders by HLA associated with the birth of children with sporadic septal CHD.

*Key words:* Congenital heart disease, mixed lymphocyte culture, HLA

#### Authors:

**Gorshkova S. V.**, ✉ laboratory assistant researcher of the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental and Clinical Cardiology, FGBICU “Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases” of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; a sixth-year student of the Pediatric Faculty of the State Pedagogical University of the Kemerovo State Medical University MH RF, Kemerovo, Russia; **E-mail:** [sofi28.95@mail.ru](mailto:sofi28.95@mail.ru);

**Shabaldin A. V.**, MD, Ph.D. Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental and Clinical Cardiology, FGBICU “Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases” of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; Professor of the Department of Otorhinolaryngology and Clinical Immunology, Federal State Educational Establishment of Higher Education of the Kemerovo State Medical University MH RF, Kemerovo, Russia;

**Antonova L. V.**, Candidate of Medical Science, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental and Clinical Cardiology, FGBICU of the Scientific Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Kemerovo, Russia.

**Korostelev A. A.**, MD, Professor, Professor of the Department of Otorhinolaryngology and Clinical Immunology, Federal State Educational Establishment of Higher Education of the Kemerovo State Medical University MH RF, Kemerovo, Russia;

**Shabaldina E. V.**, MD, Associate Professor, Head of the Department of Otorhinolaryngology and Clinical Immunology, Federal State Educational Establishment of the Russian Federation, Kemerovo State Medical University MH RF, Kemerovo, Russia.