

## ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ КОНОТРУНКУСА БЕЗ ХРОМОСОМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2019 г. Н. С. Деева<sup>1,2</sup>, А. В. Цепочкина<sup>1</sup>, А. В. Шабалдин<sup>1,2\*</sup>,  
С. А. Шмулевич<sup>3</sup>, Е. Н. Воронина<sup>4</sup>, М. Л. Филипенко<sup>4</sup>,  
Е. В. Шабалдина<sup>2</sup>

\*E-mail: weit2007@yandex.ru

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

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

<sup>3</sup>ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер  
имени академика Л. С. Барбараша», Кемерово, Россия;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского  
отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Исследование посвящено изучению роли гена *HLA-G 3'UTR* в развитии пороков конотрункуса. В исследование включено 14 детей с тетрадой Фалло и 103 условно-здоровых ребенка. Типирование *HLA-G 3'UTR* проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР), в соответствии с протоколом производителя (Applied Biosystems, USA), с дальнейшей детекцией результатов в полиакриламидном геле. Выявлено, что в группе детей с тетрадой Фалло гомозиготный генотип *HLA-G 3'UTR14-bp ins/ins* встречался статистически значимо чаще, по сравнению с группой контроля.

**Ключевые слова:** тетрада Фалло, *HLA-G*, система «мать-эмбрион/плод», иммунное воспаление

DOI: 10.31857/S102872210006583-6

**Адрес:** 650002 Кемерово, Сосновый бульвар 6, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», лаборатория клеточных технологий. Шабалдин Андрей Владимирович.

Тел.: 8 903 907 51 97

**E-mail:** weit2007@yandex.ru

**Авторы:**

**Деева Н. С.**, лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

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

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

**Шмулевич С. А.**, к.м.н., заведующая детским отделением ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика Л. С. Барбараша», Кемерово, Россия;

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

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

**Шабалдина Е. В.**, д.м.н., заведующая кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Кемерово, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Во всем мире врожденные пороки сердца (ВПС) являются одной из ведущих причин инвалидизации и смертности в детском возрасте. Показано, что их удельный вес среди всей врожденной патологии превышает 50% [1]. При этом, более 80% ВПС являются спорадическими (без семейной истории) и не связаны с хромосомными заболеваниями [2]. Известно,

что формирование сердечно-сосудистой системы приходится на 2–7 неделю эмбрионального периода, и в этот же временной период идет активное взаимодействие полуаллогенного эмбриона с материнским иммунным микроокружением, схожее по клеточным и гуморальным реакциям с воспалительным ответом. Декомпенсация воспалительного процесса в системе «мать-эмбрион/плод» может трансформироваться в тератогенез сердца и сосудов.

Важной молекулой, ограничивающей иммунное воспаление, является эмбриональная HLA-G, которая блокирует киллерные рецепторы (KIR2DL4 и ILT-2) маточных иммунокомпетентных лимфоцитов (натуральных киллеров и натуральных киллерных Т-лимфоцитов).

Исходя из этого, врожденные пороки конотрункуса рассматриваются с точки зрения воздействия альтерирующего компонента иммунного воспаления в микроокружении эмбриона, которое возникает при конфликте по HLA в системе «мать-эмбрион/плод» и оказывает тератогенное действие на сердечно-сосудистую систему.

**Цель.** Изучить распределение аллелей и генотипов *HLA-G 3'UTR14-bp* у детей с пороками конотрункуса без хромосомных заболеваний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 14 детей с диагнозом тетрада Фалло без хромосомных заболеваний (основная группа) и 103 неродственных донора (контрольная группа). Материалом для исследования послужила геномная ДНК, выделенная из лимфоцитов периферической крови, методом фенол-хлороформной экстракции. Амплификацию полиморфных участков генов проводили методом ПЦР, в соответствии с протоколом производителя (Applied Biosystems, USA), с дальнейшей электрофоретической детекцией результатов в 7,5% полиакриламидном геле.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 8.0. (Stat Soft Inc., США). Равновесие Харди-Вайнберга определяли при помощи критерия хи-квадрат Пирсона. Для оценки риска вычислялось отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал к нему (CI). Различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что распределение генотипов *HLA-G 3'UTR* (14-bp del/del; 14-bp ins/ins; del/ins) детей обеих групп не отклонялось от расчетных величин, полученных по уравнению Харди-Вайнберга. Выявлено, что в основной группе детей с пороками конотрункуса (тетрада Фалло) достоверно чаще встречался гомозиготный генотип *HLA-G 3'UTR ins/ins*, по отношению к контрольной группе (5,48% против 3,84%,  $p < 0,05$ ; OR=3,57; 95% CI=1,51–8,44).

При гомозиготном генотипе плода *HLA-G 3'UTR ins/ins* происходит удлинение на 14 bp длины 3' UTR, что приводит к уменьшению устойчивости транслируемой РНК к действию ферментов РНКаз. Снижение экспрессии молекулы HLA-G на клетках эмбриона сведет к минимуму блокирование киллерных рецепторов (KIR2DL4 и ILT-2), что повлечет за собой атаку эмбриона НК-лимфоцитами матки [3]. Декомпенсация конфликта в системе «мать-эмбрион/плод» приведет к запуску иммунного воспаления, альтерирующий компонент которого может оказывать тератогенное действие и приводить к развитию ВПС.

## ВЫВОД

В данной работе установлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа *HLA-G 3'UTR ins/ins* с риском формирования спорадического врожденного порока конотрункуса (тетрада Фалло) без хромосомных заболеваний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hinton R. B. Genetic and environmental factors contributing to cardiovascular malformation: a unified approach to risk. J Am Heart Assoc 2014;3: e000292.
2. Yu D., Feng Y., Yang L., Da M., Fan C., Wang S., Mo X. Maternal Socioeconomic Status and the Risk of Congenital Heart Defects in Offspring: A Meta-Analysis of 33 Studies. Wallace GR, ed. PLoS ONE. 2014.
3. 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 & Neonatal Medicine, 2016, V.29(9); 1509–15.

**IMMUNOGENETIC ASPECTS OF THE FORMATION OF CONGENITAL CONOTRUNCUS WITHOUT CHROMOSOMAL DISEASES**

© 2019 N. S. Deeva<sup>1,2</sup>, A. V. Tsepokina<sup>1</sup>, A. V. Shabaldin<sup>1,2\*</sup>,  
S. A. Shmulevich<sup>3</sup>, E. N. Voronina<sup>4</sup>, M. L. Filipenko<sup>4</sup>,  
E. V. Shabaldina<sup>2</sup>

\*E-mail: weit2007@yandex.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Federal state budgetary educational institution of higher education «Kemerovo state medical University» of the Ministry of health of the Russian Federation, Kemerovo, Russia;

<sup>3</sup>State budgetary institution of health care «Kemerovo regional clinical cardiology clinic named after academician L. S. Barbarash», Kemerovo, Russia;

<sup>4</sup>Federal state budgetary scientific institution «Institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences», Novosibirsk, Russia

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

The study showed the role of the gene *HLA-G 3'UTR* in the development of congenital malformations of conotruncus. The study included 14 children with tetralogy of Fallot and 103 healthy children. *HLA-G 3'UTR* typing was performed by amplification of polymorphic gene sites by allele-specific polymerase chain reaction (PCR), in accordance with the manufacturer's Protocol (Applied Biosystems, USA), with further detection of results in polyacrylamide gel. The study found that in the group of children with a tetralogy of Fallot homozygous genotype *HLA-G 3'UTR14-bp ins/ins* met statistically significantly more often than in the control group.

*Key words:* tetralogy of Fallot, HLA-G, «mother-embryo/fetus» system, immune inflammation

**Authors:**

**Deeva N. S.**, laboratory assistant-researcher of the laboratory of cellular technologies of Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases" Kemerovo, Russia;

**Tsepokina A. V.**, junior researcher of the laboratory of genomic medicine of Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases" Kemerovo, Russia;

**Shabaldin A. V.**, M.D., leading researcher of laboratory of cell technologies of Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russia. **E-mail:** weit2007@yandex.ru;

**Shmulevich S. A.**, PhD, head of children's Department of "Kemerovo regional clinical cardiology clinic named after academician L. S. Barbarash", Kemerovo, Russia;

**Voronina E. N.**, PhD, researcher of the laboratory of pharmacogenomics of Federal state budgetary scientific institution "Institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences", Novosibirsk, Russia;

**Filipenko M. L.**, PhD, head of the laboratory of pharmacogenomics of Federal state budgetary scientific institution "Institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences", Novosibirsk, Russia;

**Shabaldina E. V.**, M.D., head of the Department of otolaryngology of the state budgetary educational institution of higher education "Kemerovo state medical University", Kemerovo, Russia.