

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА ФЕТО-МАТЕРИНСКОГО МИКРОХИМЕРИЗМА ПО ГЕНАМ КОМПЛЕКСА HLA У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ И С ИММУНОЛОГИЧЕСКИМ КОНФЛИКТОМ

Руководитель исследования: Зав. кафедрой детских болезней, д.м.н. Иванов Д.О.

Ответственный исполнитель: Зав. НИЛ физиологии и патологии новорожденных, к.м.н. Петренко Ю.В.

Перечень научных подразделений, участвовавших в исполнении исследования:

1. НИЛ физиологии и патологии новорожденных.
2. НИЛ онкогематологии.
3. Биобанк СЗФМИЦ им. В.А.Алмазова.

Цель исследования:

Установить потенциальную роль фето-материнского химеризма по генам комплекса HLA в механизмах программирования сердечно-сосудистых заболеваний в группах новорожденных и детей старшего возраста, родившихся с иммунологическим конфликтом, и с задержкой внутриутробного развития.

Материалы и методы исследования:

Группы исследования:

1. Новорожденные дети со ЗВУР. Кровь для исследования будет забрана у женщины перед родами или в течение 1 нед после родов.

2. Новорожденные дети, рожденные женщинами с O(I) или Rh(-) кровью, имевшие титр иммунных антител во время беременности, развившие гемолитическую болезнь новорожденного (ГБН). Кровь для исследования будет забрана у женщины перед родами или в течение 1 нед после родов.

3. Новорожденные дети после проведенного наружного поворота плода (НПП). Кровь для исследования будет забрана у женщины перед родами после проведенной операции наружный поворот плода.

4. Новорожденные дети от женщин со злокачественным образованием. Кровь для исследования будет забрана у женщины в течение 1 нед после родов.

Новорожденные дети без ЗВУР составят контрольную группу исследования. Срок гестации детей будет сходен с исследуемыми группами. Кровь для исследования будет забрана у женщины в течение 1 нед после родов.

Методы:

1. Типирование крови по генам HLA методом SSP-ПЦР

2. Секвенирование.

3. При интерпретации результатов будет произведена попытка выявления специфичных аллелей, наличие которых у детей со ЗВУР может привести к риску развития соединительнотканых заболеваний и сахарного диабета 1 типа.

4. Использованы центильные таблицы Г.М. Дементьевой и Е.В. Короткой (1985г.) для оценки соответствия основных антропометрических показателей (масса тела и рост) гестационному возрасту детей.

5. Для изучения распределения основных антропометрических показателей в группах обследуемых, были вычислены значения медианы и 5-95 перцентили для каждого из показателей. Рассчитанные средние оценки по шкале Апгар в исследуемых группах, позволили косвенно оценить состояние детей при рождении.

Основные результаты:

В результате проведенного исследования микрохимеризм генов системы HLA был выявлен у 33,9% пациентов и 19,2% в контрольной группе ($p=0,16$). Результаты распределения химерных генов в исследуемых группах представлены в таблице 5. Чаще микрохимеризм генов системы HLA обнаруживался у пациентов из группы 2 (ГБН) (42,5% по сравнению с 19,2% в контрольной группе, $p=0,04$). У пациентов с другой перинатальной патологией отличия в частоте химерных генов от контрольной группы не были статистически значимыми.

Среди всех выявленных случаев микрохимеризма генов системы HLA, материнский микрохимеризм наблюдался у 7,9% пациентов и не встречался в контрольной группе, а фетальный микрохимеризм – у 23,7% пациентов и у 7,7% здоровых женщин. В остальных случаях природа происхождения химерных HLA генов не была установлена. Учитывая то факт, что чаще явление микрохимеризма наблюдалось у новорожденных с развившейся ГБН, где у 76,2% обследованных были выполнены гемотрансфузии, можно было предположить, что источником чужеродного генетического материала в таких случаях могли стать донорские клетки. Однако изучение выявления микрохимеризма генов HLA у таких пациентов показало, что только у 6 из них (37,5%) обнаруживались химерные гены, отличные от материнских. Еще у одного новорожденного с ГБН, перенесшего гемотрансфузию был выявлен ММХ.

Во всех исследуемых группах чаще выявлялся микрохимеризм генов в локусе HLA-C, а у пациентов с ГБН еще и в локусе HLA-DRB1. Кроме того, в ряде случаев у пациентов из групп ЗВУР и ГБН отмечалось сочетание нескольких химерных генов из разных локусов. В контрольной группе комбинации химерных HLA генов не встречались.

В настоящее планируется выполнение второго этапа лабораторного исследования методами ПЦР в режиме реального времени, секвенирования. В непрерывном режиме происходит клиническое, лабораторное, инструментальное обследование детей из основных групп и группы контроля. Осуществляется динамическое наблюдение за развитием обследованных детей.

Таблица. Выявление микрохимеризма по генам системы HLA в исследуемых группах.

Исследуемая группа	Кол-во чел в группе	Микрохимеризм												
		Общ.	%	ММХ	%	ФМ	X	%	Локусы системы HLA					
									A	B	C	DRB1	DQB1	Комб. локусов
ЗВУР	40	12	30,0	1	5,0	2	10,0	0	1	9	0	0	2	
ГБН	42	19	45,2*	1	4,8	4	19,0	0	1	13	2	1	2	
НПП	22	5	22,7	0	0,0	2	18,2	1	0	3	1	0	0	
РЗ	8	2	25,0	1	50,0	1	50,0	0	0	2	0	0	0	
Пациенты с ПП	112	38	33,9	3	7,9	9	23,7	1	2	25	3	1	4	
Контроль	26	5	19,2	0	0,0	1	7,7	1	1	2	0	1	0	

Примечание: $p=0,04$