

УДК: 618.177.056.773

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ HLA II КЛАССА ПРИ ЖЕНСКОМ БЕСПЛОДИИ

**Хикматова Нигина Изатуллаевна**, д.м.н.

Бухарский государственный медицинский институт имени

Абу Али ибн Сино. Узбекистан. Бухара

**Хегай Татьяна Рудольфовна**, д.м.н.

Институт иммунологии и геномики человека АН РУз.

Узбекистан. Ташкент

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ HLA II КЛАССА ПРИ ЖЕНСКОМ БЕСПЛОДИИ

**Хикматова Нигина Изатуллаевна**, д.м.н.

Бухарский государственный медицинский институт имени

Абу Али ибн Сино. Узбекистан.

**Хегай Татьяна Рудольфовна**, д.м.н., профессор

Институт иммунологии и геномики человека АН РУз. Научно-диагностический

центр «Иммуноген-тест». Узбекистан. Ташкент

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Определить наследуемые факторы в возникновении бесплодия у женщин, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан, для определения прогноза заболевания и выбора персонализированных подходов к диагностике и лечению. **Материалы и методы.** Были обследованы 50 женщин фертильного возраста. Основную

группу составили 26 женщин, страдающих бесплодием инфекционного и смешанного генеза; контрольную группу- 24 здоровые женщины, проживающие в этом же регионе. Экстракция ДНК проводилась из венозной крови спиртово-солевым методом. Полимеразные праймеры, специфичные для последовательности цепной реакции (PCR-SSP), использовали для HLA-типирования (DRB1, DQA1, DQB1) с использованием наборов и устройства «DT-Prime» (Россия). **Результаты и обсуждение.** Возраст обследованных женщин был  $30,0 \pm 2,3$  года. Для оценки влияния наследственного фактора в этиологии бесплодия нами были изучены ассоциативные связи HLA DQA1, DRB1, DQB1 с бесплодием у женщин. **Выводы.** Увеличение риска развития бесплодия у женщин фертильного возраста, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан, установлено по аллелям HLA-DQA1 \* 0401 в 15,7 раз, по HLA-DRB1 \* 13 в 7,6 раз и по HLA-DRB1 \* 04 в 2,6 раза, что следует учитывать при прогнозе и оценке репродуктивной функции у женщин, проживающих на этой территории. Следует отметить, что аллели HLA-DQA1 \* 0401 и HLA-DRB1 \* 13 и HLA-DRB1 \* 04 могут быть предрасполагающими генами бесплодия у женщин, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан.

**Ключевые слова:** бесплодие у женщин, генетические факторы, прогноз.

## FEATURES OF THE DISTRIBUTION OF HLA CLASS II ANTIGENS IN FEMALE INFERTILITY

**Khikmatova Nigina Izatullaevna,**

Doctor of Medical Sciences

Bukhara State Medical Institute named after

Abu Ali ibn Sino. Uzbekistan. Bukhara

**Khegay Tatyana Rudolfovna,**

Doctor of Medical Sciences, Professor

Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan. Scientific diagnostic center "Immunogen-test". Uzbekistan.  
Tashkent

### SUMMARY

**Targeted research.** To determine the hereditary factors of the age of infertility in surviving women in the Bukhara region of the Republic of Uzbekistan, to determine the prognosis of the disease and to choose individual approaches to diagnosis and treatment. Materials and methods. We beat a survey of 50 women of fertile age. The main group consisted of 26 women suffering from mixed infertility; control group - 24 healthy women living in this region. DNA extraction was carried out from venous blood by the alcohol-salt method. Sequential chain reaction specific polymerase primers (PCR-SSP) were used for HLA typing (DRB1, DQA1, DQB1) using DT-Prime kits and devices (Russia). **Results and observation.** The age of the observed female was  $30.0 \pm 2.3$  years. To assess the influence of the hereditary factor in the etiology of infertility, we studied the associative links of HLA DQA1, DRB1, DQB1 with infertility in women. **Conclusions.** An increased risk of infertility in women of fertile age who survived in the Bukhara region of the Republic of Uzbekistan was established for the alleles HLA-DQA1 \* 0401 15.7 times, for HLA-DRB1 \* 13 7.6 times and for HLA-DRB1 \* 04 v 2, 6 times, which should be taken into account when predicting and assessing reproductive function in women living in this territory. It should be noted that the alleles HLA-DQA1 \* 0401 and HLA-DRB1 \* 13 and HLA-DRB1 \* 04 may be predisposing genes for infertility in women who survived in the Bukhara region of the Republic of Uzbekistan.

**Key words:** infertility in women, genetic factors, prognosis.

## AYOLLARNING BEPUSHTLIGIDA HLA II ANTIGENLARINI TAQSIMLASH XUSUSIYATLARI

**Xikmatova Nigina Izatullaevna**, tibbiyot fanlari doktori

nomidagi Buxoro davlat tibbiyot instituti

Abu Ali ibn Sino. O‘zbekiston. Buxoro

**Khegay Tatyana Rudolfovna**, tibbiyot fanlari doktori, professor

O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Odam immunologiyasi va genomikasi instituti. "Immunogen-test" ilmiy diagnostika markazi. O‘zbekiston. Toshkent

### XULOSA

**Tadqiqotdan maqsad:** O‘zbekiston Respublikasining Buxoro viloyatida omon qolgan ayollarda bepushtlik yoshidagi irsiy omillarni aniqlash, kasallik prognozini aniqlash va diagnostika va davolashga individual yondashuvlarni tanlash.

**Materiallar va uslublar.** Biz tug‘ruq yoshidagi 50 ayol o‘rtasida o‘tkazilgan so‘rovnomani engdik. Asosiy guruh aralash bepushtlik bilan og‘rigan 26 ayoldan iborat edi; nazorat guruhi - ushbu mintaqada yashovchi 24 sog‘lom ayol. DNK ekstraktsiyasi venoz qondan spirt-tuz usuli bilan amalga oshirildi. DT-Prime to‘plamlari va qurilmalari (Rossiya) yordamida HLA (DRB1, DQA1, DQB1) terish uchun ketma-ket zanjirli reaksiyaga xos polimeraza primerlari (PCR-SSP) ishlatilgan. **Natijalar va kuzatish.** Kuzatilgan ayolning yoshi  $30,0 \pm 2,3$  yosh edi. Bepushtlik etiologiyasida irsiy omil ta’sirini baholash uchun biz HLA DQA1, DRB1, DQB1 ning ayollarda bepushtlik bilan assotsiativ aloqalarini o‘rganib chiqdik.

**Xulosa.** HLA-DQA1 \* 0401 allellari uchun HLA-DQA1 \* 0401 allellari uchun O‘zbekiston Respublikasining Buxoro viloyatida omon qolgan tug‘ish yoshidagi ayollarda bepushtlik xavfi 15,7 baravar, HLA-DRB1 \* 13 uchun 7,6 marta va HLA-DRB1 \* 04 v 2, 6 marta, bu ushbu hududda yashovchi ayollarda reproduktiv

funktsiyani taxmin qilish va baholashda hisobga olinishi kerak. Shuni ta'kidlash kerakki, HLA-DQA1 \* 0401 va HLA-DRB1 \* 13 va HLA-DRB1 \* 04 allellari O'zbekiston Respublikasining Buxoro viloyatida omon qolgan ayollarda bepushtlik uchun genlarni moyil qilishi mumkin.

**Kalit so'zlar:** ayollarda bepushtlik, genetik omillar, prognoz.

Частота бесплодных браков во многих странах мира составляет 10-18%. Даже в тех странах мира, где традиционно имеет место высокая рождаемость, показатели бесплодия остаются в этих пределах. По данным Всемирной организации здравоохранения в мире ежегодно более 1 млн человек ежедневно заражаются инфекцией, передаваемой половым путем, возбудителями этих инфекций являются свыше 30 различных бактерий, вирусов и паразитов [1.3]. По данным ряда исследователей частота выявления экстрагенитальной инфекции составляет до 11,8%.

В настоящее время абсолютно установлено, что в 80% случаев причиной вульвовагинитов, цервицитов и воспалительных заболеваний органов малого таза являются полимикробные инфекции [4.6]. Длительный воспалительный процесс влияет на качество жизни женщины и приводит к развитию ряда осложнений, таких как воспалительные заболевания органов малого таза, спаечный процесс и хроническая тазовая боль, инициация процесса канцерогенеза, формирование полипов цервикального канала и эндометрия, развитие эндометритов, нарушение репродуктивной функции женщин, бесплодие, невынашивание беременности, внематочная беременность, аномалии родовой деятельности, послеродовому эндометриту [6.8.10].

Участие в репродукции человека главного комплекса гистосовместимости (human leucocyte antigens, HLA) является одной из важнейших функций системы, которая довольно тесно связана с её основной функцией – контролем иммунного ответа. Большое значение для диагностики иммунных форм невынашивания беременности имеет определение маркеров HLA [2,3, 8].

Многие исследователи считают, что потери плода чаще всего имеют иммунологическую природу, поэтому особую роль в репродуктивных неудачах отводят HLA-антигенам, которые презентированы на поверхности всех клеток организма и осуществляют контроль иммунного ответа, а значит, играют важную роль в течение гестационного процесса. Установлено, что у супружеских пар с невынашиванием беременности общие антигены системы HLA встречаются чаще по сравнению с теми парами, где беременность протекает нормально [1,5,9,13]. В работах по изучению HLA и бесплодию на русской популяции, было показано, что среди пациенток с НБ в анамнезе была достоверно выше частота встречаемости аллелей групп DQA 301 и 103, аллели 501 локуса DQB1 [8,12,14].

Следует сказать, что в настоящее время, несмотря на доказанную роль HLA системы в репродуктивных потерях, однозначного понимания механизма и связи определенного аллельного профиля пока еще нет. Так, проведенный мета-анализ 17 контролируемых исследований сопоставления клинических и генетических данных не обнаружил однозначного подтверждения или опровержения влияния антигенов HLA II класса на исходы беременности [3,5,11].

Бесплодие, как социальная проблема, является причиной резкого снижения качества жизни человека, нарушения социальной адаптации и его роли в обществе. Многофакторность этиологических причин бесплодия требуют проведения дальнейших исследований для определения коренных и главенствующих причин, приводящих к этой патологии. Давно известен наследственный фактор бесплодия у семейных пар.

**Цель.** Изучить ассоциативные связи HLA DRB1, DQA1, DQB1 с бесплодием у женщин, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан.

**Материалы и методы.** Нами были обследованы 50 женщин фертильного возраста, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан.

Основную группу составили 26 женщин, страдающих бесплодием инфекционного и смешанного генеза; контрольную группу - 24 здоровые женщины, проживающие в этом же регионе, аналогичного возраста.

Экстракция ДНК проводилась из венозной крови спиртово-солевым методом. Исходя из концентрации ДНК 50 нг / мкл. HLA типирование проводилось набором реагентов для типирования генов гистосовместимости человека (HLA) II класса DRB1, DQB1, DQA1 методом амплификации ДНК ООО «НПО ДНК-Технология». Исследования проводятся методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. В основе работы комплекта реагентов лежит принцип амплификации ДНК методом ПЦР (PCR-SSP). Для типирования по HLA-DRB1 использовали панель из 13 групп аллелей DRB1 (DRB1\*01, \*03, \*04, \*07, \*08, \*09, \*10, \*11, \*12, \*13, \*14, \*15, \*16), для HLA-DQB1 12 групп аллелей DQB1 (DQB1\*02, \*0301, \*0302, \*0303, \*0304, \*0305, \*0401/\*0402, \*0501, \*0502/\*0504, \*0503, \*0601, \*0602-8) и для HLA-DQA1 применяли панель - DQA1\*0101, \*0102, \*0103, \*0301, \*0401, \*0501, \*0601.

Статистический анализ данных выполняли на персональном компьютере с применением пакета программ Microsoft Excel, Biostat, Statistica.

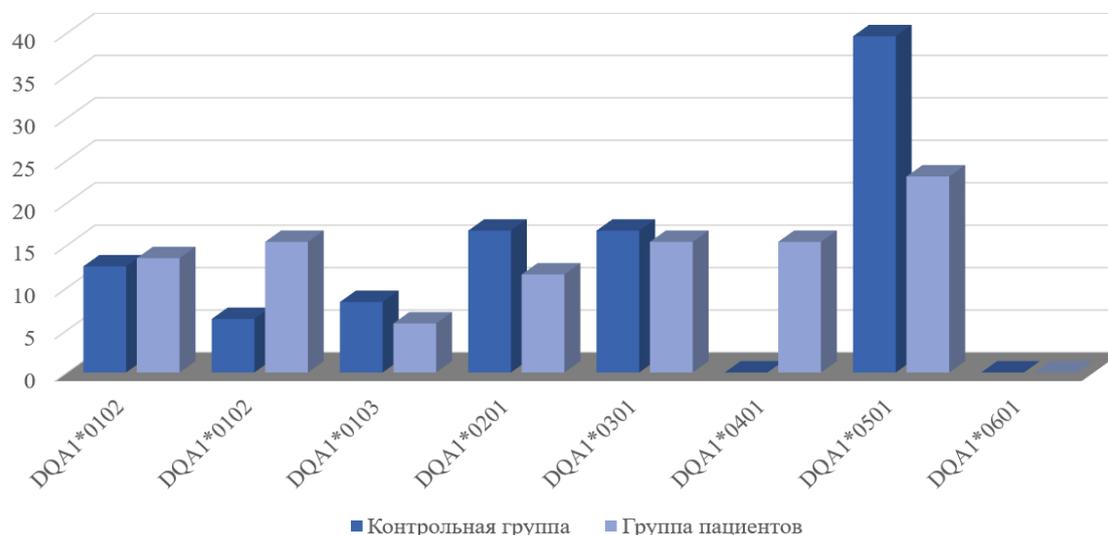
**Результаты и обсуждение.** Среди обследованных женщин бесплодие I было у 15 (57,7%); бесплодие II – у 11 (42,3%). Длительность бесплодия до 2-х лет была у 2 (7,7%); от 2 до 5 лет – у 13 (50,0%) и более 5 лет – у 11 (42,3%) обследованных.

Возраст обследованных женщин был от 20 до 40 лет. Средний возраст всех обследованных женщин составил  $30,0 \pm 2,3$  года.

Для оценки влияния наследственного фактора в этиологии бесплодия нами были изучены ассоциативные связи HLA DQA1, DRB1, DQB1 у женщин с бесплодием, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан. Нами были изучены 13 групп аллелей DRB1 (\* 01, \* 03, \* 04, \* 07, \* 08, \* 09, \* 10, \* 11, \* 12, \* 13, \* 14, \* 15, \* 16), 8 групп аллелей DQA1 (\* 0101, \* 0102, \* 0103, \*

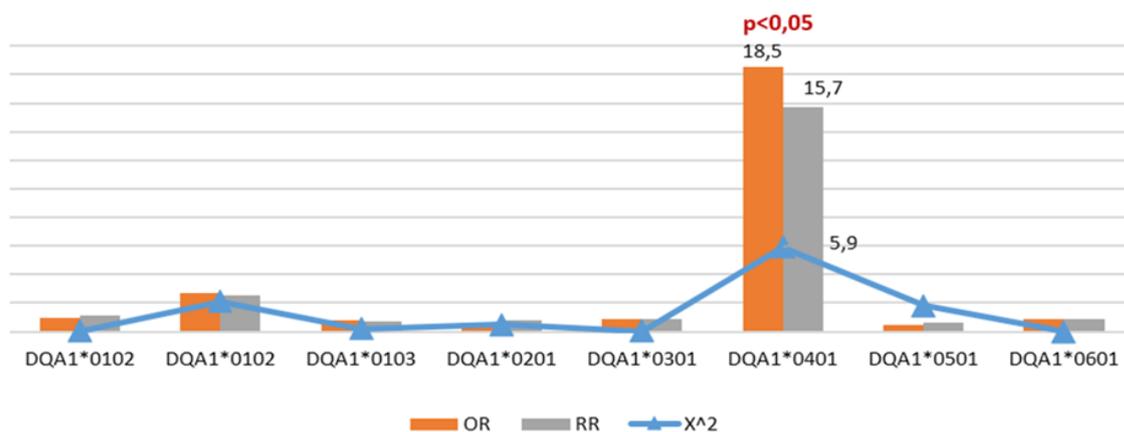
0201, \* 0301, \* 0401, \* 0501, \* 0601) и 12 групп аллелей DQB1 (\* 02, \* 0301, \* 0302, \* 0303, \* 0305, \* 0401/0402, \* 0501, \* 0502, \* 0503, \* 0601, \* 0602-8).

Анализ результатов типирования (рис.1) выявил различия лишь в аллелях HLA-DQA1\*0401, которая встречалась чаще в группе случая.



**Рисунок 1**

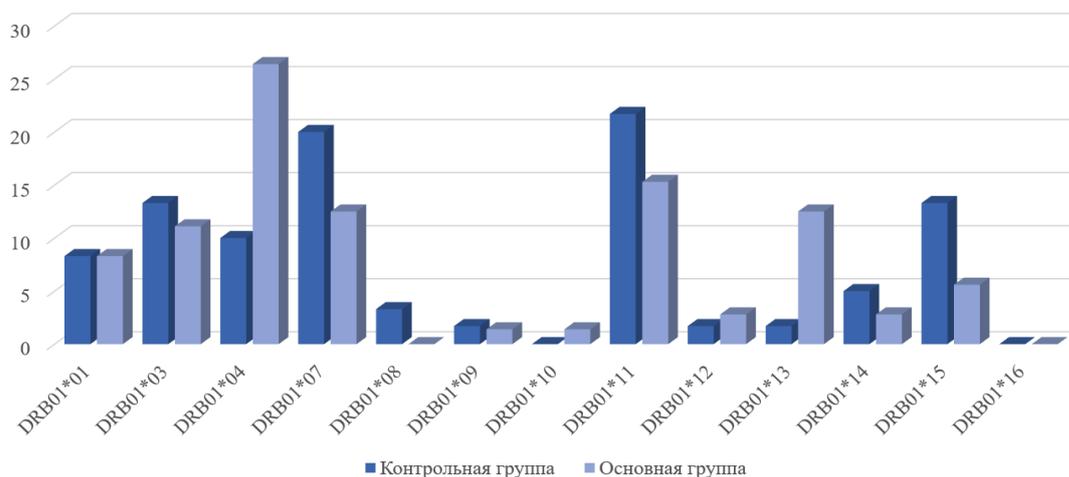
Сравнительная характеристика пациенток и группы контроля по частоте встречаемости DQA1 HLA



**Рисунок 2**

Показатели OR и RR при сравнительном анализе группы пациенток и группы контроля по частоте встречаемости DQA1 HLA

Так, в этой группе женщин OR было равно 18,5, т.е. шанс бесплодия в группе случая был выше, чем в группе контроля; RR был равен 15,7, т.е. риск бесплодия у женщин в группе случая был при наличии аллели HLA-DQA1\*0401 в 15,7 раз выше, чем в группе контроля ( $p < 0.05$ ) (рис.2).

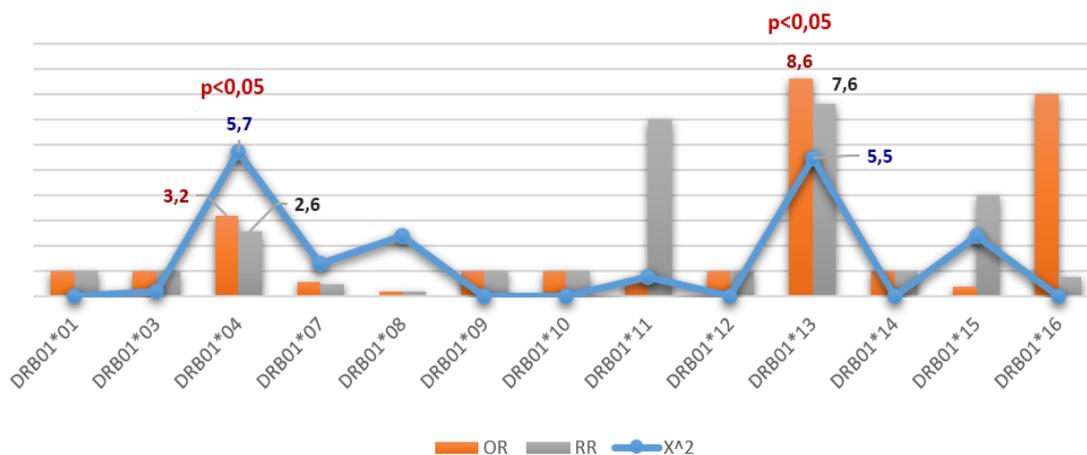


### Рисунок 3

Сравнительная характеристика пациенток и группы контроля по частоте встречаемости DRB1 HLA

Анализ результатов типирования (рис.3) выявил различия лишь в аллелях HLA- HLA-DRB1\*13, которая встречалась чаще в группе случая. Так, в этой группе женщин OR было равно 8,6 т.е. шанс бесплодия в группе случая был выше, чем в группе контроля; RR был равен 7,6, т.е. риск бесплодия у женщин в группе случая был при наличии аллели HLA-DRB \*13.

Также, по аллели DRB1\*04 OR было равно 3,2, т.е. шанс бесплодия в группе случая, выше, чем в группе контроля; RR был равен 2,6, т.е. имел место риск у женщин в группе случая при наличии HLA-DRB1\*04 в 2,6 раза выше, чем в группе контроля. Анализ результатов по аллели DQB1 HLA 2 класса достоверных различий в группах не установил (рис.4).



**Рисунок 4**

Показатели OR и RR при сравнительном анализе группы пациенток и группы контроля по частоте встречаемости по HLA-DRB1

**Выводы.** Таким образом, у женщин имеет место ассоциация между аллелями HLA-DQA1\*0401, HLA-DRB1\*13, HLA-DRB1\*04 и развитием бесплодия (в 15,7, в 7,6 и в 2,6 раз выше, чем в группе контроля соответственно). Увеличение риска развития бесплодия у женщин фертильного возраста, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан, установлено по аллелям HLA-DQA1\*0401 в 15,7 раз, по HLA-DRB1\*13 в 7,6 раз и по HLA-DRB1\*04 в 2,6 раза, что следует учитывать при прогнозе и оценке репродуктивной функции у женщин, проживающих на этой территории.

Нами показано, что аллели HLA-DQA1\*0401 и HLA-DRB1\*13 и HLA-DRB1\*04 могут являться наследственным фактором бесплодия у женщин, проживающих в Бухарской области Республики Узбекистан.

При обследовании пациенток, страдающих бесплодием, а также при проведении программ экстракорпорального оплодотворения необходимо проводить молекулярно-генетические исследования для определения прогноза зачатия и репродуктивных потерь.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Узлова Т.В., Лейхнер Е.К., Маркина О.В. Иммунологическое бесплодие: проблемы и возможности. Вестник ЮУрГУ. 2011; 26: 88-97.
2. Volkov O.A., Shramko S.V., Bazhenova L.G. Personalized medicine and modern surgical technologies. Obstetrics and gynecology. 2019; 8: 12-18.
3. Kovin E.P., Levitskaya D.S., Kostarnoy A.V., Gancheva P.G. Stimulation of innate immunity reactions and its effect on reproductive function in infertility associated with chronic endometritis. Questions of gynecology, obstetrics and perinatology. 2019; 18 (4): 44-51.
4. Hikmatova N. I., Garib V. Y., Pakhomova Zh. E. Effect Of Women's Body Sensitisation On Its Reproductive Function. International Journal of Bio-Science and Bio-Technology (IJBSBT) ISSN: 2233-7849, Vol-11-Issue-9-September-2019, P. 138-142.
5. Hikmatova N. I. The role of natural antigens in the formation of reproductive problems Materials of the XV International scientific and practical Conference PROSPECTS OF WORLD SCIENCE - 2019, July 30 - August 7, 2019: Sheffield. Science and education LTD -72 p.
6. Khikmatova, Nigina. Improving the Effectiveness of Predicting Infertility in Women with Pelvic Inflammatory y Disease.
7. Хикматова Н.И., Гариб В.Ф., Пахомова Ж.Е., Гариб Ф.Ю. Определение антиспермальных IgE антител у женщин с бесплодием, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (7): 435-438. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-7-435-43>.
8. Шахгюлян, Я.Л. Роль определенных антигенов и гаплотипов системы HLA, предрасполагающих к привычному невынашиванию беременности. //Материалы I Международного конгресса по репродуктивной медицине. — М., 2006. - С. 236-237.

9. Ferreira L.M.R., Meissner T.B., Tilburgs T., Strominger J.L., HLA-G: at the interface of maternal-fetal tolerance. *Trends Immunol.* 2017; 38:272-286.
10. Global healthcare sector strategy on sexually transmitted infections 2016-2021. WHO; 2016. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/ru>.
11. Gordeeva L.A. Asociacija HLA-DRB1\* s reproduktivnoj patologije u zhenshin // *Medicinskaja immunologija.* 2007; 9(6): 643-648.
12. Kyrgiou M. Imperial College London. Vaginal microbiome: its effect on cervical precancer and treatment. <https://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2016.07.004>.
13. Lashley E., Meuleman T. Beneficial or harmful effect of antipaternal human leukocyte antibodies on pregnancy outcome? A systematic review and meta-analysis. *AJRI.* 2013; 70 (2): 87-103.
14. Uzlova T.V, Lejhner E.K., Markina O.V. Immunologicheskoe besplodie: problemi vozmozhnosti. *Vestnik JuUrGU.* 2011; 2:100-103.