

Эпидемиология аллельных вариантов генов наследственного тромбофилического состояния у населения Архангельской области

А.С. Воронцова ✉, Н.А. Воробьева, А.И. Воробьева, Е.Ю. Мельничук

Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

Аннотация. Однонуклеотидные замены в генах, кодирующих белки системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов, являются одной из причин наследственной предрасположенности к состоянию гиперкоагуляции и повышенному тромбообразованию. **Цель:** оценить распространенность отдельных аллельных вариантов генов системы гемостаза у населения Архангельской области. **Материалы и методы:** в исследование включено две группы участников уроженцев Архангельской области: пациенты Регионального центра анти тромботической терапии (РЦАТТ) ($n = 2354$) и здоровые добровольцы ($n = 195$). Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов системы гемостаза проводилось методом ПЦР. **Результаты исследования.** По результатам исследования статистически значимой разницы в распространении неблагоприятных аллельных вариантов генов системы гемостаза между двумя группами участников не обнаружено. Вероятно, для реализации наследственной склонности к повышенному тромбообразованию необходимо сочетание полиморфизма изучаемых генов с другими факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: наследственная тромбофилия, полиморфизм генов системы гемостаза, Архангельская область

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

Epidemiology of allelic gene variants of hereditary thrombophilic condition in the population of the Arkhangelsk region

A.S. Vorontsova ✉, N.A. Vorobyeva, A.I. Vorobyeva, E.Yu. Melnichuk

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Abstract. Single-nucleotide substitutions in genes encoding proteins of the hemostasis system and platelet receptors are one of the causes of hereditary predisposition to hypercoagulation and increased thrombosis. The **aim** is to assess the prevalence of individual allelic variants of hemostasis genes in the population of the Arkhangelsk region. **Materials and methods:** The study included two groups of participants from the Arkhangelsk region: patients of the Regional Center for Antithrombotic Therapy (RCATT) ($n = 2354$) and healthy volunteers ($n = 195$). The molecular genetic study of the polymorphism of the genes of the hemostasis system was carried out by PCR. **The results of the study:** According to the results of the study, there was no statistically significant difference in the distribution of unfavorable allelic variants of hemostasis genes between the two groups of participants. Probably, in order to realize the hereditary tendency to increased thrombosis, it is necessary to combine the polymorphism of the studied genes with other

Keywords: hereditary thrombophilia, polymorphism of genes of the hemostasis system, Arkhangelsk region

За последние 20 лет знания в области изучения наследственной тромбофилии существенно расширились благодаря идентификации ряда однонуклеотидных замен в генах, вызывающих состояние гиперкоагуляции. Предполагают, что наследственная тромбофилия в основном связана с полиморфизмом генов, кодирующих белки – факторы свертывания крови и тромбоцитарные рецепторы. К таким маркерам можно отнести полиморфизм генов протромбина, фибриногена, V, XIII факторов гемостаза, ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1), генов рецепторов тромбоцитов (ITGA2, ITGB3) [1]. Результаты исследований весьма противоречивы, так, по данным одних авторов, имеется взаи-

мосвязь между развитием тромботических состояний и различными полиморфными вариантами генов системы гемостаза, другие – отрицают такую [2, 3]. Кроме того, нередко осложнения течения беременности также связывают с генетически детерминированной тромбофилией. Так, отдельными исследованиями показана взаимосвязь между полиморфными вариантами генов системы гемостаза с задержкой развития плода и различными осложнениями беременности, такими как преэклампсия и невынашивание беременности [4]. В связи с этим анализ полиморфизма генов системы гемостаза – маркеров наследственной тромбофилии является актуальным как для фундаментальной, так и для клинической медицины.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Анализ распространения полиморфизма генов тромбофилического состояния на выборке пациентов Регионального центра антитромботической терапии (РЦАТТ) г. Архангельска.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эпидемиологическое проспективное одномоментное поперечное исследование выполнено на выборке этнических русских, уроженцев Архангельской области. Исследование проведено на базе Регионального центра антитромботической терапии (РЦАТТ) ГБУЗ АО «Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волосевич» г. Архангельска.

Критерии включения в исследование: 1-я группа – пациенты, наблюдающиеся в РЦАТТ с отягощенным тромботическим, акушерским анамнезом; этнические русские; уроженцы Архангельской области; письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. 2-я группа – здоровые добровольцы обоих полов; этнические русские; уроженцы Архангельской области; письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: отказ от участия на любой стадии исследования.

В эпидемиологическое исследование включено 2 549 человек, из них 2 354 пациента РЦАТТ и 195 здоровых добровольцев. Проведен анализ базы генетического биобанка пациентов РЦАТТ, у здоровых добровольцев выполнено лабораторное молекулярно-генетическое исследование генов, детерминирующих состояние системы свертывания крови. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Северного государственного медицинского университета (протокол №01/02-23 от 15.02.2023).

Генотипирование однонуклеотидных полиморфных аллельных вариантов генов системы гемостаза выполнено методом ПЦР в режиме реального времени с использованием реагентов «РеалБест-Генетика Гемостаз 12» (ЗАО «ВекторБест» Россия) на базе лаборатории ГБУЗ АО «Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волосевич» г. Архангельска. Проведено исследование полиморфных вариантов генов системы гемостаза: F2 20210 G>A (*rs1799963*), F5 1691 G>A (*rs6025*), F7 10976 G>A (*rs6046*), F13 G>T (*rs5985*), FGB 455 G>A (*rs1800790*), ITGA2 807 C>T (*rs1126643*), ITGB3_1565 T>C (*rs5918*), PAI-1 675 5G>4G (*rs1799889*).

Статистическая обработка данных, полученных в ходе исследования, проводилась методами описательной и аналитической статистики с использованием языка программирования R 4.2.3 в программе Rstudio 1.2.5019. Характер распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Считали, что распределение данных отличается от нормального рас-

пределения (распределения Гаусса) при значении статистического уровня значимости (p) менее 0,05. Для описания полученных данных, распределение которых не отличалось от распределения Гаусса, использовали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (σ) в формате $M \pm \sigma$. Данные, распределение которых отличалось от распределения Гаусса, представлены в виде медианы (Me), первого ($Q1$) и третьего ($Q3$) квартилей. Рассчитывали частоты отдельных аллелей в изучаемых группах и проверяли их соответствие закону Харди – Вайнберга с использованием онлайн-калькулятора. Для сопоставления частот генотипов использовали критерий хи-квадрат Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании проанализированы данные базы генетического биобанка пациентов РЦАТТ ГБУЗ АО «Первая городская больница им. Е.Е. Волосевич» ($n = 2354$), и данные генетического тестирования здоровых добровольцев, уроженцев Архангельской области ($n = 195$). Среди пациентов РЦАТТ доля женщин составила 66 % ($n = 1554$), доля мужчин – 34 % ($n = 800$). Возраст группы составил $Me = 46$ [32, 65]. Диагноз, связанный с сердечно-сосудистой патологией у пациентов, составил 75 %, отягощенный акушерский анамнез отмечен в 22 % случаев, сочетание сердечно-сосудистой патологии и отягощенного акушерского анамнеза наблюдалось у 3 % обследуемых. В группе здоровых участников исследования удельный вес женщин составил 78 % ($n = 152$), мужчин – 22 % ($n = 43$), возрастной интервал группы составил от 22 до 44 лет ($Me = 22$ [22, 24]).

Проведен эпидемиологический анализ распределения однонуклеотидных замен в генах, кодирующих белки системы гемостаза (табл.). Расчет частот аллелей генов проводился по формуле Харди – Вайнберга.

Проведенный анализ распределения аллельных вариантов генов наследственной тромбофилии высокого риска (мутация II и V факторов) показал, что в группе пациентов частота носительства аллеля A полиморфизма *rs1799963* гена F2, кодирующего протромбин, составила 3,0 %, в группе здоровых добровольцев данный аллель встречался в 2 раза реже и составил 1,5 %. Гомозиготных носителей данного полиморфизма в гене F2 не выявлено ни в одной группе обследуемых. Известно, что точечная мутация в гене протромбина, в результате которой происходит замена гуанина на аденин в позиции 20210 в промоторе гена, приводит к повышению уровня протромбина в плазме на 30 % с увеличением риска развития состояния гиперкоагуляции. Распространение мутации *rs1799963* гена F2 в европейской популяции в целом составляет от 1 до 5 %, а у пациентов с венозными тромбоэмболиями достигает от 4 до 18 % [5].

Сравнительный анализ частот распределения полиморфных аллелей генов системы гемостаза у пациентов и здоровых добровольцев, уроженцев Архангельской области

Исследуемый ген	Частота полиморфного аллеля, %		p	Хи-квадрат
	пациенты РЦ	здоровые участники		
F2 20210 G>A <i>rs1799963</i>	A = 3,0	A = 1,5	0,462	0,542
F5 1691 G>A <i>rs6025</i>	A = 3,0	A = 3,0	1,0	<0,001
F7 10976 G>A <i>rs6046</i>	A = 10,0	A = 9,0	0,783	0,076
F13 G>T <i>rs5985</i>	T = 25,0	T = 25,0	1,0	<0,001
FGB 455 G>A <i>rs1800790</i>	A = 23,0	A = 22,0	0,969	0,001
ITGA2 807 C>T <i>rs1126643</i>	T = 36,0	T = 31,0	0,385	0,754
ITGB3 1565 T>C <i>rs5918</i>	C = 18,0	C = 18,0	1,0	<0,001
PAI-1 675 5G>4G <i>rs1799889</i>	4G = 57,0	4G = 60,0	0,651	0,205

Полиморфизм V фактора (Лейден) является миссенс-мутацией, которая приводит к замене аминокислоты аргинин на глутамин, в результате чего происходит повышение резистентности фактора Va к активированному протеину C, где инактивация активной формы фактора V активированным протеином C замедляется в 10 раз, что способствует увеличению образования тромбина и влечет за собой гиперкоагуляцию и риск тромбообразования. Особенно высок риск тромбообразования у гомозиготных носителей мутации Лейден, при этом гетерозиготное носительство находится в зоне умеренного или низкого риска [6]. По данным проведенного нами исследования, Лейденская мутация встречалась с одинаковой частотой в обеих группах и составила 3,0 %. Гомозиготных аллельных вариантов выявлено не было, гетерозиготные варианты зарегистрированы у 5,0 % обследуемых. Полученные результаты соотносятся с данными по распространению аллеля A в европейской популяции (2,5 %).

Однонуклеотидные замены в генах F7 (*rs6046*), F13 (*rs5985*), FGB (*rs1800790*) плазменного звена гемостаза также могут вносить вклад с развитие протромбогенного состояния. Проведен ряд исследований, изучающих влияние полиморфизма данных генов на повышенную склонность к тромбообразованию. Так, одни исследования демонстрируют значимую роль однонуклеотидных замен в данных генах в развитии тромбозов, другие авторы не обнаруживают данной взаимосвязи [7]. Результаты нашего исследования не выявили статистически значимых различий по распространению полиморфизма указанных генов плазменного звена гемостаза в группах пациентов и здоровых участников.

Следующим этапом исследования явился анализ полиморфизма генов, кодирующих белки тромбоцитарного звена гемостаза. Частота аллеля C полиморфизма *rs5918* гена ITGB3, ответственного за синтез тромбоцитарного гликопротеина, в изучаемых группах составила 18,0 %. Полиморфный аллель T

полиморфизма *rs1126643* гена ITGA2 распространен в 36 % среди пациентов РЦАТТ и в 31 % среди здоровых добровольцев.

Фибринолитическое звено гемостаза в нашем исследовании представлено ингибитором активатора плазминогена I типа SERPINE1. Аллель 4G по *rs1799889* гена PAI-1 встречался в первой группе у 57 %, во второй группе – у 60 % участников. Известно, что полиморфизм *rs1799889* в промоторе гена PAI-1 приводит к повышению уровня PAI-1 и снижению фибринолитической активности крови. Данные о роли полиморфного аллеля 4G достаточно противоречивы. В отдельных исследованиях показана связь гомозиготного носительства генотипа 4G/4G и тромбоэмболических осложнений, при этом у гетерозиготных носителей такая связь не подтверждена. В других исследованиях показана взаимосвязь между носительством полиморфного аллеля 4G и развитием инфаркта миокарда, венозным тромбозом, ишемическим инсультом [1, 8].

Следующим этапом исследования явился сравнительный анализ частот распределения полиморфных аллелей генов системы гемостаза у пациентов и здоровых добровольцев, уроженцев Архангельской области. Парное сравнение частот полиморфных аллелей генов, кодирующих белки системы гемостаза, не выявило статистически значимых различий между двумя группами участников.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимо отметить, что наследственная тромбофилия – это многофакторное состояние, и только совместное влияние факторов окружающей среды, образа жизни, фенотипа и генотипа может привести к развитию клинических проявлений. Генетическая склонность к тромбообразованию может быть реализована только при наличии традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [9, 10], что косвенно подтверждается результатами данного исследования – отсутствием статистически значимых

различий распространения полиморфизма генов системы гемостаза в группах пациентов с кардиоваскулярной патологией, отягощенным акушерским анамнезом и группой здоровых добровольцев.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Arachchillage D.J., Mackillop L., Chandratheva A. et al. Thrombophilia testing: A British Society for Haematology guideline. *Br J Haematol.* 2022;198(3):443–458. doi: 10.1111/bjh.18239.
2. Крючкова Н.М., Чернова А.А., Никулина С.Ю., Максимов В.Н. Генетические факторы развития тромбоэмболии легочной артерии. *Российский кардиологический журнал.* 2022;27(10):5173. doi: 10.15829/1560-4071-2022-5173.
3. Гладких Н.Н., Шушанова А.С., Ягода А.В. Влияние проатерогенных факторов и генетической тромбофилии на тяжесть поражения коронарного русла у молодых больных инфарктом миокарда 1 типа. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2022;17(4):369–373. doi: 10.14300/mnnc.2022.17089.
4. Wen Y., He H., Zhao K. Thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2023. doi: 10.1007/s10815-023-02823-x.
5. Колосков А. В., Чернова Е. В. Клиническое значение полиморфизма генов фактора V и протромбина. *Гематология и трансфузиология.* 2018;63(3):250–257. doi: 10.25837/HAT.2019.63.13.004.
6. Spector E.B., Grody W.W., Matteson C.J. et al. Technical standards and guidelines: venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin 20210G > A testing): a disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories. *Genet Med.* 2005;7(6):444–453. doi: 10.1097/01.gim.0000172641.57755.3a.
7. Филиппова О.А., Вахлова И.В., Кузнецов Н.Н. et al. Ассоциация вариантов генов плазменного (FGB -455 G>A (rs1800790), F2 20210 G>A (rs1799963), F5 1691 G>A (rs6025), F7 10976 G>A (rs6046), F13 G>T (rs5985)), тромбоцитарного (ITGA2 807 C>T (rs1126643), ITGB3 1565 T>C (rs5918)), фибринолитического (PAI-1 -675 5G>4G (rs1799889)) звеньев гемостаза с артериальными или венозными тромбозами у новорожденных: исследование «случай-контроль». *Педиатрическая фармакология.* 2020;17(5):437–444. doi: 10.15690/pf.v17i5.2163.
8. Мубарак Ш.Р., Бобоев К.Т. Клинико-генетические параллели ишемического инсульта и полиморфизма гена ингибитора активатора плазминогена PAI. *Вестник экстренной медицины.* 2020;6:42–46.
9. Wawrusiewicz-Kurylonek N., Krętownski A.J., Posmyk R. Frequency of thrombophilia associated genes variants: population-based study. *BMC Med Genet.* 2020;21(1):198. doi: 10.1186/s12881-020-01136-5.
10. Mahmoodi B.K., Veeger N.J., Middeldorp S. et al. Interaction of Hereditary Thrombophilia and Traditional Cardiovascular Risk Factors on the Risk of Arterial Thromboembolism: Pooled Analysis of Four Family Cohort Studies. *Circ Cardiovasc Genet.* 2016;9(1):79–85. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.115.001211.

REFERENCES

1. Arachchillage D.J., Mackillop L., Chandratheva A. et al. Thrombophilia testing: A British Society for Haematology guideline. *Br J Haematol.* 2022;198(3):443–458. doi: 10.1111/bjh.18239.
2. Kryuchkova N. M., Chernova A. A., Nikulina S.Yu., Maksimov V.N. Genetic factors of pulmonary embolism development. *Rossiiskij kardiologicheskij zhurnal = Russian Journal of Cardiology.* 2022;27(10):5173. (In Russ.) doi: 10.15829/1560-4071-2022-5173.
3. Gladkih N.N., Shushanova A.S., Yagoda A.V. The influence of proatherogenic factors and genetic thrombophilia on the severity of coronary artery disease in young patients with type 1 myocardial infarction. *Meditinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of the North Caucasus.* 2022;17(4):369–373. (In Russ.) doi: 10.14300/mnnc.2022.17089.
4. Wen Y., He H., Zhao K. Thrombophilic gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2023. doi: 10.1007/s10815-023-02823-x.
5. Koloskov A.V., Chernova E.V. Clinical significance of factor V and prothrombin gene polymorphism. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and transfusiology.* 2018;63(3):250–257. (In Russ.) doi: 10.25837/HAT.2019.63.13.004.
6. Spector E.B., Grody W.W., Matteson C.J. et al. Technical standards and guidelines: venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin 20210G > A testing): a disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories. *Genet Med.* 2005;7(6):444–453. doi: 10.1097/01.gim.0000172641.57755.3a.
7. Filippova O.A., Vahlova I.V., Kuznecov N.N. et al. Association of plasma gene variants (FGB -455 G>A (rs1800790), F2 20210 G>A (rs1799963), F5 1691 G>A (rs6025), F7 10976 G>A (rs6046), F13 G>T (rs5985)), platelet (ITGA2 807 C>T (rs1126643), ITGB3 1565 T>C (rs5918)), fibrinolytic (PAI-1 -675 5G>4G (rs1799889)) links of hemostasis with arterial or venous thrombosis in newborns: a case-control study. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology.* 2020;17(5):437–444. (In Russ.) doi: 10.15690/pf.v17i5.2163.
8. Mubarakov Sh.R., Boboev K.T. Clinical and genetic parallels of ischemic stroke and plasminogen activator inhibitor gene polymorphism pai. *Vestnik ekstreimnoi meditsiny = The Bulletin of Emergency Medicine.* 2020;6:42–46. (In Russ.)
9. Wawrusiewicz-Kurylonek N., Krętownski A.J., Posmyk R. Frequency of thrombophilia associated genes variants: population-based study. *BMC Med Genet.* 2020;21(1):198. doi: 10.1186/s12881-020-01136-5.
10. Mahmoodi B.K., Veeger N.J., Middeldorp S. et al. Interaction of Hereditary Thrombophilia and Traditional Cardiovascular Risk Factors on the Risk of Arterial Thromboembolism: Pooled Analysis of Four Family Cohort Studies. *Circ Cardiovasc Genet.* 2016;9(1):79–85. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.115.001211.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Александра Сергеевна Воронцова – ассистент кафедры клинической фармакологии и фармакотерапии, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия; ✉ baklab1gkb@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3643-0515>

Надежда Александровна Воробьева – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии и фармакотерапии, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия; nadejdav0@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6613-2485>

Алена Ивановна Воробьева – научный сотрудник, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия; greenhamster@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4817-6884>

Елизавета Юрьевна Мельничук – ассистент кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия; melnichukelisaveta@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7000-5451>

Статья поступила в редакцию 26.12.2023; одобрена после рецензирования 03.03.2024; принята к публикации 04.06.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Alexandra S. Vorontsova – Assistant at the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia; ✉ baklab1gkb@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3643-0515>

Nadezhda A. Vorobyova – MD, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia; nadejdav0@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6613-2485>

Alyona I. Vorobyova – Researcher, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia; greenhamster@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4817-6884>

Elizaveta Yu. Melnichuk – Assistant at the Department of Clinical Biochemistry, Microbiology and Laboratory Diagnostics, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia; melnichukelisaveta@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-7000-5451>

The article was submitted 26.12.2023; approved after reviewing 03.03.2024; accepted for publication 04.06.2024.