

**ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА ФАКТОРА V (A506G),
ГЕНА ПРОТРОМБИНА (G20210A) И ГЕНА MTHFR (C677T И A1298C) У ЗДОРОВЫХ
ДОНОРОВ КРОВИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**

Колосков А.В.,^{1,2} Филиппова О.И.,^{1,2} Лыщев А.А.,³ Батурина О.А.,^{1,3} Васильева М.Ю.,^{1,2}

Гуляихина Д.Е.,^{1,2} Никитин М.М.,⁴ Богданов К.В.⁴

¹ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.
Мечникова» Министерства здравоохранения России

191015, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41, т. (812) 948-09-17

Andrei.Koloskov@szgmu.ru

²СПб ГБУЗ «Городская больница № 26»

196247, Россия, Санкт-Петербург, ул. Костюшко, д. 2, т. (812) 375-30-10

milidoctor@mail.ru

³ООО «МедЛаб СПб»

192029, Россия, Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, д. 71, т. (812) 360-57-04

laa0209@mai.ru

⁴ООО «Люмэкс-маркетинг»

192029, Россия, Санкт-Петербург, пр. Обуховской Обороны, д. 70/2, т. (812) 718-53-90

nikitinmm@lumex.ru

Изучена частота встречаемости генетических полиморфизмов, ассоциированных с тромбофилией, в популяции жителей Санкт-Петербурга. В исследование включен 261 здоровый донор крови (150 мужчин (57,5%) и 111 женщин (42,5%)). Средний возраст составил $35,3 \pm 0,7$ лет (от 18 до 68 лет). Носительство гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина встречается у жителей Санкт-Петербурга с частотой 3,8 % и 2,7 %, соответственно. Выполнение донорской функции бессимптомными носителями гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина не сопряжено с риском развития тромботических событий. Выявление гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина не является абсолютным предиктором развития тромботического события и не может, по нашему мнению, быть эквивалентно понятию «наследственная тромбофилия». Носительство мутации C677T в гене MTHFR встречается в исследованной популяции с частотой 42,5 % для гетерозиготной формы и с частотой 3,1 % для гомозиготной формы. Носительство мутации A1298C в гене MTHFR встречается с частотой 36,4 %, и 17,2 % для гетерозиготной и гомозиготной формы, соответственно. Мутации C677T и A1298C в гене MTHFR не являлись

предикторами тромботических событий у здоровых доноров крови. Не обнаружена зависимость между частотой выявления полиморфизмов A506G в гене фактора V, G20210A в гене протромбина, C677T и A1298C в гене MTHFR и группой крови по системе AB0.

Ключевые слова: ген фактора V, ген протромбина, ген MTHFR, A506G, G20210A, C677T, A1298C, тромбофилия, доноры крови, популяционное исследование

FREQUENCIES OF FACTOR V (A506G), PROTHROMBIN (G20210A) AND MTHFR (C677T AND A1298S) POLYMORPHISMS IN HEALTHY BLOOD DONORS IN SAINT-PETERSBURG

Koloskov A.V.,^{1,2} Philippova O.I.,^{1,2} Lyshchev A.A.,³ Baturina O.A.,^{1,3} Vasileva M.Yu.,^{1,2}

Gulyaikhina D.E.,^{1,2} Nikitin M.M.,⁴ Bogdanov K.V.⁴

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St.Petersburg, Russia, e-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru

²City Hospital № 26, St.Petersburg, Russia, e-mail: milidoctor@mail.ru

³«MedLabSPb» Ltd., St.Petersburg, Russia, e-mail: laa0209@mai.ru

⁴«Lumex-Marketing» Ltd., St.Petersburg, Russia, e-mail: nikitinmm@lumex.ru

Studied the incidence of genetic polymorphisms associated with thrombophilia in the population of Saint-Petersburg residents, Caucasian. The study included 261 healthy blood donors (150 males (57.5%) and 111 females (42.5%)). The average age of healthy donors was 35.3 ± 0.7 years (range 18 to 68 years). Distribution heterozygous mutation A506G factor V and G20210A prothrombin is found in St. Petersburg residents with a frequency of 3.8 % and 2.7 %, respectively. Performance of donor functions asymptomatic carriers of heterozygous mutations A506G factor V and G20210A prothrombin is not associated with the risk of thrombotic events. Detection of heterozygous mutations A506G factor V and G20210A prothrombin is not an absolute predictor of thrombotic events and can't be equivalent to the concept of "hereditary thrombophilia." C677T mutation MTHFR occurs with a frequency of 42.5 % for the heterozygous form and with a frequency of 3.1 % for the homozygous form. Carriage A1298C mutation MTHFR occurs with a frequency of 36.4 % and 17.2 % for the heterozygous and homozygous form, respectively. Polymorphisms C677T and A1298C MTHFR were not predictors of thrombotic events in healthy blood donors. Not found a relationship between the frequency of detection of polymorphisms A506G factor V, G20210A prothrombin, C677T and A1298C MTHFR and blood group AB0.

Keywords: factor V gene, prothrombin gene, MTHFR gene, A506G, G20210A, C677T, A1298C, thrombophilia, blood donors, population-based study

Под термином «наследственная (гематогенная) тромбофилия» понимают патологическое состояние, проявляющееся венозными и/или артериальными тромбозами различной локализации и/или тромбоэмболиями в бассейне легочной артерии и/или других сосудов и/или ишемическими (тромботическими) инфарктами органов (легких, миокарда, мозга, печени и других), развивающимися в сравнительно молодом возрасте (моложе 40 лет) без видимых провоцирующих причин. В настоящее время большинство исследователей относят к наследственным тромбофилиям гомозиготную и гетерозиготную мутацию гена фактора V (A506G – мутация Leiden), гомозиготную и гетерозиготную мутацию гена протромбина (G20210A), дефицит антитромбина III, дефицит протеина C и дефицит протеина S [1,2]. В более ранних исследованиях обсуждалась протромботическая роль полиморфизмов C677T и A1298C гена MTHFR, ответственного за синтез фермента метилентетрагидрофолатредуктазы [3].

Исследование генетических полиморфизмов, ассоциирующихся с повышенной склонностью к тромбообразованию, имеет важное теоритическое и прикладное значение для стратификации риска развития тромбозов. Принятие решение о целесообразности проведения медикаментозной профилактики тромбозов является сложной задачей, в том числе и вследствие того, что наличие у индивидуума гетерозиготных мутаций A506G гена фактора V и гена протромбина (G20210A) может сочетаться, как это было недавно продемонстрировано, [4] с геморрагическим фенотипом, хорошо известным как болезнь Виллебранда [5].

Принципиально важной для стратификации риска тромботических осложнений является информация о распространенности генетических полиморфизмов, ассоциированных с тромботическими процессами, в конкретной популяции. Целью нашего исследования являлось изучение частоты встречаемости обсуждаемых полиморфизмов в популяции здоровых доноров крови в Санкт-Петербурге.

Материалы и методы исследования

В исследование включен 261 здоровый донор крови (150 мужчин (57,5%) и 111 женщин (42,5%)). Все доноры являлись коренными жителями Санкт-Петербурга. Средний возраст лиц, включенных в исследование, составил $35,3 \pm 0,7$ лет (от 18 до 68 лет). Для исследования полиморфизмов гена фактора V, гена протромбина и гена MTHFR

использовался метод аллель-специфической полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации методом электрофореза в полиакриламидном геле. Исследование групповой принадлежности выполнено с использованием моноклонольных антител по стандартной методике. Полученные результаты обрабатывались с использованием статистической программы STATISTICA for Windows (Версия 10). Сравнение частотных характеристик качественных показателей проводилось с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

При исследовании 261 здорового донора крови мутация A506G в гене фактора V (мутация Лейден) выявлена у 10 человек (8 мужчин и 2 женщины), что составляет 3,8 % от исследованной популяции. Во всех случаях имела место гетерозиготная форма Лейденовской мутации.

Гетерозиготная форма мутации G20210A в гене протромбина обнаружена у 7 (4 мужчины и 3 женщины) из 261 здорового донора, что составляет 2,7 %. Гомозиготная форма мутации при проведении нашего исследования не обнаружена.

У одного мужчины имело место сочетание гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и гетерозиготной мутации G20210A в гене протромбина (0,4 % от исследованной популяции).

Таким образом, частота встречаемости гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V (3,8 %) и частота встречаемости гетерозиготной мутации G20210A в гене протромбина G20210A (2,7 %), полученная в результате выполненного нами исследования в популяции европеоидных жителей Санкт-Петербурга совпала с ранее опубликованным результатам исследования европеоидной популяции 2 - 7 % и 2 - 3 % [6-8].

Следующим этапом исследования выполнен анализ встречаемости мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина, у здоровых доноров старше 40 лет. В нашем исследовании 91 донора крови (34,9 % от общей популяции) превышал 40 лет. У здоровых доноров старше 40 лет мутация A506G в гене фактора V выявлена у 3 доноров (2 мужчин и 1 женщина), что составляет 3,3 % от всех здоровых доноров старше 40 лет. Мутация G20210A в гене протромбина выявлена у двух здоровых доноров (1 мужчина и 1 женщина) старше 40 лет, что составляет 2,2 % от всех здоровых доноров старше 40 лет. Таким образом, частота встречаемости мутация A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина у здоровых доноров старше 40 лет достоверно не отличалась от частоты

встречаемости данных мутаций в общей популяции 3,3 % и 2,2 % в сравнении с 3,8 % и 2,7 %, соответственно.

Следует отметить, что в нашем исследовании все лица являющиеся носителями гетерозиготной мутаций A506G в гене фактора V или мутации G20210A в гене протромбина остаются клинически здоровыми людьми, регулярно выступающими в качестве доноров цельной крови. Объем разовой донации составляет 450 мл цельной крови.

Мутация C677T в гене MTHFR была обнаружена у 45,6 % здоровых доноров крови (119 человек: 71 мужчина и 48 женщин). Из них у 111 человек (67 мужчин и 44 женщины) имела место гетерозиготная форма мутации (42,5 % от общей популяции здоровых доноров), а у 8 человек (4 мужчины и 4 женщины) - 3,07% от общей популяции здоровых доноров, – обнаружена гомозиготная мутация.

Мутация A1298C в гене MTHFR была обнаружена у 53,6 % здоровых доноров крови (140 человек: 77 мужчин и 63 женщины). У 95 человек (53 мужчины и 42 женщины) (36,4 % от общей популяции здоровых доноров) имела место гетерозиготная форма мутации, а у 45 человек (24 мужчин и 21 женщин) (17,2 % от общей популяции здоровых доноров) – гомозиготная мутация.

У 61 здорового донора (23,4 % от общей популяции) одновременно присутствуют гетерозиготные и гомозиготные варианты полиморфизмы C677T и A1298C в гене фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, при этом одновременное существование данных полиморфизмов в гомозиготной форме у одного индивидуума нами обнаружено не было.

Результаты нашего исследования свидетельствуют, что полиморфизмы C677T и A1298C гена MTHFR широко распространены в популяции европеоидов - жителей Санкт-Петербурга, являющимися здоровыми донорами крови. Выявленная в нашем исследовании высокая частота встречаемости гетерозиготной и гомозиготной формы мутации C677T гена MTHFR (42,5 % и 3,1 %, для гетерозиготной и гомозиготной формы мутации, соответственно) сопоставима с опубликованными данными о частоте встречаемости мутации C677T гена MTHFR у жителей Польши (40,2 % и 10,8%, для гетерозиготной и гомозиготной формы мутации, соответственно) [9], жителей Украины (43 % и 7,5 %, для гетерозиготной и гомозиготной формы мутации, соответственно) [10] и жителей Германии (44,9 % и 13,3 %, для гетерозиготной и гомозиготной формы мутации, соответственно) [11]. Следует обратить внимание, что по результатам нашего исследования частота встречаемости гомозиготной формы мутации C677T гена MTHFR у жителей Санкт-Петербурга была несколько ниже по сравнению с обсуждаемыми популяциями Украины, Польши и Германии. В доступной нам

литературе мы не обнаружили данные о частоте встречаемости мутации A1298C в гене MTHFR у здоровых лиц в Европейской популяции. Частота встречаемости данного полиморфизма у жителей Китая варьирует в широком диапазоне 25,7% - 13,1% и 6,7%, - 1,4% , для гетерозиготной и гомозиготной формы мутации, соответственно [12]. В нашем исследовании частота встречаемости гетерозиготной и гомозиготной мутации A1298C в гене MTHFR у здоровых доноров была выше 36,4 % и 17,2 % (соответственно), что несколько выше по сравнению с представленными данными о популяции жителей Китая.

В связи с тем, что ряд исследователей относят к тромботическим факторам риска все группы крови по системе АВ0, отличные от группы крови 0, – «фактор риска не-0 группа крови» [13] представлялось целесообразным проанализировать возможные корреляционные связи между исследуемыми полиморфизмами и группой крови по системе АВ0. Как видно из данных, представленных в таблице 1, достоверной зависимости частоты встречаемости исследованных генетических полиморфизмов от группы крови по системе АВ0 нами не выявлено.

Таблица 1. Частота встречаемости (%) полиморфизмов генов протромбина, фактора V и MTHFR в зависимости от группы крови по системе АВ0.

группа крови АВ0	ген протромбина (20210G/A)			ген фактора V (1691 G/A)			ген MTHFR (677C/T)			ген MTHFR (1298 A/C)		
	G/G	G/A	A/A	G/G	G/A	A/A	C/C	C/T	T/T	A/A	A/C	C/C
0	35,6	0,4	0	34,1	1,9	0	17,6	16,5	1,9	17,6	14,2	4,2
A	31,4	1,9	0	32,2	1,1	0	18	14,6	0,8	13,8	11,9	7,7
B	20,7	0,4	0	20,3	0,8	0	12,3	8,4	0,4	11,1	6,1	3,8
AB	9,6	0	0	9,6	0	0	6,5	3,1	0	3,8	4,2	1,5

Выводы

1. Носительство гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина не является уникальным явлением и встречается у здоровых доноров, жителей Санкт-Петербурга с частотой, соответственно, 3,8 % и 2,7 %, что характерной для европеоидной популяции в целом.

2. Выполнение донорской функции бессимптомными носителями гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина не сопряжено с риском развития тромботических событий.

3. Выявление гетерозиготной мутации A506G в гене фактора V и мутации G20210A в гене протромбина не является абсолютным предиктором развития тромботического события

и не может, по нашему мнению, быть эквивалентно понятию «наследственная (гематогенная) тромбофилия».

4. Носительство мутация C677T в гене MTHFR представляет собой часто встречающееся явление. Данная мутация встречается у здоровых доноров крови в Санкт-Петербурге с частотой 42,5 % для гетерозиготной формы и с частотой 3,1 % для гомозиготной формы. Столь высокая частота встречаемости мутации C677T в гене MTHFR у клинически здоровых лиц не позволяет рассматривать её как предиктор тромботических событий.

5. Носительство мутации A1298C в гене MTHFR встречается у 53,6 % здоровых доноров крови. При этом на долю гетерозиготной формы приходится 36,4 %, а на долю гомозиготной формы - 17,2 %. Иными словами, мутации A1298C в гене MTHFR встречается у каждого второго здорового донора крови, что, безусловно, не позволяет рассматривать её как предиктор тромботических событий.

6. Высокая частота встречаемости полиморфизмов C677T и A1298C в гене MTHFR закономерно приводит к высокой вероятности выявления в популяции лиц имеющих обе эти мутации, что по данным нашего исследования составило 23,4 % от общей популяции обследованных здоровых доноров крови. Выявление одновременно двух гетерозиготных мутаций C677T и A1298C в гене MTHFR не являлось предиктором тромботических событий у здоровых доноров крови.

7. Нами не обнаружена зависимость между частотой выявления полиморфизмов A506G в гене фактора V, G20210A в гене протромбина, C677T и A1298C в гене MTHFR и группой крови по системе АВ0.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Bates S.M., Greer I.A., Middeldorp S. et al. VTE, Thrombophilia, Antithrombotic Therapy, and Pregnancy Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines // Chest. – 2012. – V. 141 (Suppl). - P. e691S–e736S.
2. [Sherpa M.](#), [Sharma S.](#), [Avasthi R.](#) Thrombophilic molecular markers in young patients (<40 years) with coronary artery disease // [Indian J Pathol Microbiol.](#) – 2012. – V. 55. – P. 343-346.
3. Bates S.M., Greer I.A., Hirsh J., Gingsberg J.S. Use of antithrombotic Agents During Pregnancy // Chest. – 2004. – V. 126. – P. 627-644.

4. Колосков А.В., Батурина О.А., Лыщев А.А. и др. Тромботические и геморрагические риски у беременных женщин // MEDLINE.RU: сетевой журнал. - 2013. - Том 14. - С. 880 – 890. Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom14/art69.html>
5. Колосков А.В., Столица А.А., Филиппова О.И. Болезнь Виллебранда у женщин // MEDLINE.RU: сетевой журнал. - 2013. - Том 14. - С. 113 – 134. URL: <http://www.medline.ru/public/art/tom14/art10.html>
6. Rees D.C., Cox M., Clegg J.B.. World distribution of factor V Leiden // Lancet. - 1995; - V. 346. – P. 1133–1134.
7. Rosendaal F.R., Doggen C.J., Zivelin A. et al. // Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant // Thromb. Haemost. – 1998. – V. 79. – P. 706–708.
8. **Vavrinkova B., Binder T., Hadacova I.** et al. Does asymptomatic carriage of **FV Leiden** and **FII** prothrombin mutations in heterozygous configuration pose an increased risk of thromboembolic complications in the course of pregnancy, labor and puerperium? // **Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.** – 2014. – V.158. – P. 238-241.
9. Pollak A., Mueller-Malesinska M., Lechowicz U. et al **MTHFR 677T** is a strong determinant of the degree of hearing loss among Polish males with postlingual sensorineural hearing impairment // DNA Cell Biol. – 2012. – V. 31. – P. 1267-1273.
10. **Tatarsky P., Kucherenko A., Livshits L.** Allelic polymorphism of **F2, F5** and **MTHFR** genes in **population** of Ukraine // **Tsitol. Genet.** - 2010. – V. 44. – P. 3-8.
11. **Zhang J., Zotz R.B., Li Y.** et al. **Methylenetetrahydrofolate reductase C677T** polymorphism and predisposition towards esophageal squamous cell carcinoma in a German **Caucasian** and a northern Chinese **population** // **J. Cancer Res. Clin. Oncol.** – 2004. – V. 130. – P. 574-580.
12. **Yang B., Liu Y., Li Y.** et al. **Geographical distribution** of **MTHFR C677T, A1298C** and **MTRR A66G gene polymorphisms** in **China**: findings from 15357 adults of Han nationality // **PLoS One.** – 2013. – V. 8. - e57917.
13. Mansvelt E.P., Laffan M., McVey J.H., Tuddenham E.G. Analysis of the F8 gene in individuals with high plasma factor VIII: C levels and associated venous thrombosis // Thromb. Haemost. – 1998. – V. 80. – P. 561–565.