

УДК 575.164:618.3

ББК 28.95

П 56

Понамарева Полина Олеговна*Магистрант кафедры биохимии и физиологии Кубанского государственного университета, Краснодар, e-mail: poli.volkova@mail.ru***Миляян Наталья Станиславовна***Врач детской краевой клинической больницы, Краснодар, e-mail: natamililian@gmail.ru***Золотавина Мария Леонидовна***Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биохимии и физиологии Кубанского государственного университета, Краснодар, e-mail: zolotavina_m@mail.ru***Частота встречаемости полиморфизма генов системы свертывания крови и их зависимость от групповой и резусной принадлежности у женщин**
(Рецензирована)

Аннотация. Обнаружено, что наибольшая частота встречаемости полиморфизма характерна для генов свертывания крови PAI-1, MTRR, MTR; наименьшая частота встречаемости характерна для генов FGB, ITGB-3, FV, FII, FVII, MTHFR. Рассмотрены гены фолатного цикла и системы свертывания крови, у которых полиморфизмы встречаются чаще, чем у других генов свертывания крови. С помощью гипотезы закона распределения случайной величины (критерий Пирсона) встречаемости полиморфизма этих генов была установлена связь с групповой и резусной принадлежностью крови у женщин. Показано, что полиморфизмы аллелей MTR достоверно связаны с патологическими процессами системы свертывания крови у женщин с первой группой крови – $I^0I^0D^+$ и D^- принадлежностью, второй группой крови – $I^A I^0D^+$ принадлежностью, с четвертой группой крови – $I^A I^B D^+$ принадлежностью; для остальных выбранных – такая связь не доказана.

Ключевые слова: система антигенов ABO, система антигенов Rh, полиморфизм, гены фолатного цикла, гены свертывания крови, невынашиваемость беременности.

Ponamareva Polina Olegovna*Master's Degree Student of Department of Biochemistry and Physiology, Kuban State University, Krasnodar, e-mail: poli.volkova@mail.ru***Mililyan Natalya Stanislavovna***Clinical laboratory diagnostician of Children's Regional Clinical Hospital, Krasnodar, e-mail: natamililian@gmail.ru***Zolotavina Mariya Leonidovna***Candidate of Biology, Associate Professor, Associate Professor of Department of Biochemistry and Physiology, Kuban State University, Krasnodar, e-mail: zolotavina_m@mail.ru***Encounter rates of gene polymorphism of the clotting system and their dependence on blood-group specificity and Rh affinity among women**

Abstract. The authors have discovered that the largest encounter rates of a polymorphism are characteristic of genes of blood clotting of PAI-1, MTRR, MTR; and the least encounter rates are indicative of genes of FGB, ITGB-3, FV, FII, FVII, and MTHFR. In this paper, we examine genes of a folate cycle and clotting system at which polymorphisms occur more often than at other genes of blood clotting. By means of a hypothesis of the distribution law of a random value (Pearson's criterion) of encounter rates of a polymorphism of these genes, connection with blood-group specificity and Rh affinity at women was established. Polymorphisms of alleles of MTR are significantly associated with pathological processes of blood clotting system at women with blood group O – $I^0I^0D^+$ and D^- affinity, with blood group A – $I^A I^0D^+$ affinity, and with blood group AB – $I^A I^B D^+$ affinity; for other chosen cases such association is unproved.

Keywords: system of ABO antigens, system of Rh antigens, polymorphism, genes of a folate cycle, genes of blood clotting, abortion.

Введение

Среди современных проблем гинекологии невынашиваемость беременности (НБ) составляет 10–15% от физиологических беременностей [1]. Особое место в изучении патологий НБ занимают патологические аллели генов и их проявления. Внешние и внутренние воздействия (особенности питания, беременность, инфекции, прием лекарств, образ жизни, тяжелый физический труд, стресс и т.д.) на организм могут повлиять на появление таких генов, более того, многие аллельные гены не проявляют патологическую активность продолжительное время [2].

В настоящее время в гинекологии наибольшее внимание уделяется исследованию двух блоков мутаций: первый связан с фолатным циклом эритроцитов, второй – с системой свертывания крови. Влияние первого блока мутаций проявляется в нарушении метаболизма фолатов в организме, вызывая ошибки хромосомной сегрегации и аномальную генную экспрессию. Развитие патологий второго блока мутаций может привести к гипер- или гипокоагуляционному процессу, ДВС-синдрому [2]. По мнению Ф.Н. Гильмияровой и др. [3], предпосылками для формирования подобных патологических процессов является принадлежность к определенным группам крови.

Система антигенов АВ0 у человека определяется тремя альтернативными вариантами гена гликозилтрансферазы, наследуемого с учетом множественного принципа – действие различных вариантов одного гена проявляется в равной степени, независимо друг от друга. На основании нуклеотидной последовательности полиморфизма, который детектируется на данной хромосоме, к настоящему моменту описано большое число аллелей гена АВ0. Но только те полиморфные замены, которые приводят к смене аминокислоты, являются критическими в определении активности и субстратной специфичности и, таким образом, ответственными за различный АВ0-фенотип [4].

Цель исследования – определение частоты встречаемости полиморфизма генов свертывающей системы крови и их зависимость от генов групповой и резусной принадлежностей крови среди беременных женщин.

Материал и методы исследования

С целью определения частоты встречаемости полиморфизма генов свертывания крови и определения влияния групповой и резусной принадлежности на полиморфизмы генов свертывания крови было проведено исследование крови 100 женщин.

Исследование проводилось на базе ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» г. Краснодара.

Определение группы крови системы АВ0 и резус-фактора проводилось с использованием цоликлонов или гелевой технологии. Анализ полиморфизма генов проводился методом ПЦР.

Результаты исследования и обсуждение

При анализе 100 проб крови пациенток обнаружено, что кровь пациенток с $I^0I^0D^+$ групповой и резусной принадлежностью составляла 18%; с $I^A I^0D^+$ – 39%; с $I^B I^0D^+$ – 25%; для $I^A I^B D^+$ – 4%. Количество пациенток, не обладающих резус-фактором, составило по 5% у $I^0I^0D^-$ и у $I^A I^0D^-$ принадлежностями, с $I^B I^0D^-$ – 4%. Пациенток с $I^A I^B D^-$ принадлежностями среди обследованных не оказалось.

Для изучения связи вариантов полиморфизма аллельных генов свертывания крови и генов групповой и резусной принадлежностей были исследованы следующие гены свертывающей системы крови: ген FV, ген FII, ген FVII, гены FGB, PAI-1, ITGB-3, MTHFR, MTRR, MTR. Результаты представлены на рисунках 1 и 2.

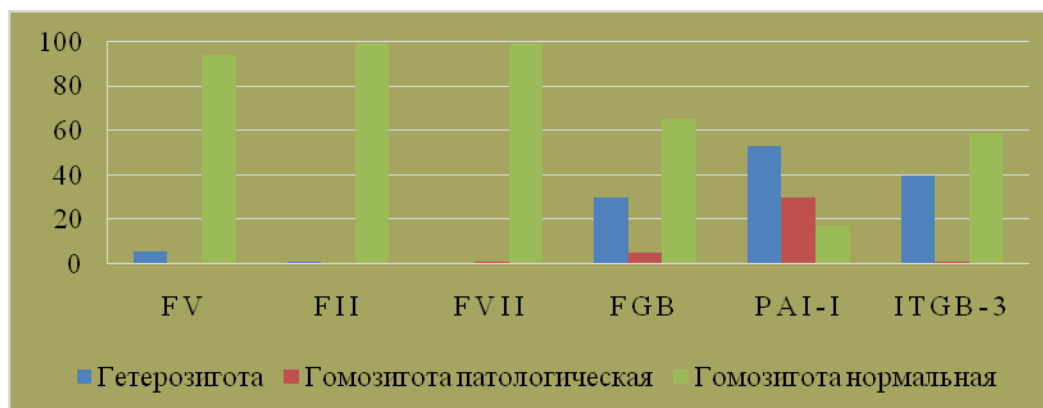


Рис. 1. Полиморфизмы первого блока мутаций (количество случаев)

Среди первого блока мутаций нормальная гомозиготная форма гена характерна для FV, FII и FVII и составили 94, 99, 99, соответственно. Гетерозиготная форма полиморфизма характерна для генов FGB, PAI-1 и ITGB-3 – 30, 53, 40, соответственно. Патологическая гомозиготная форма чаще встречалась у гена PAI-1 и составила 30 случаев.

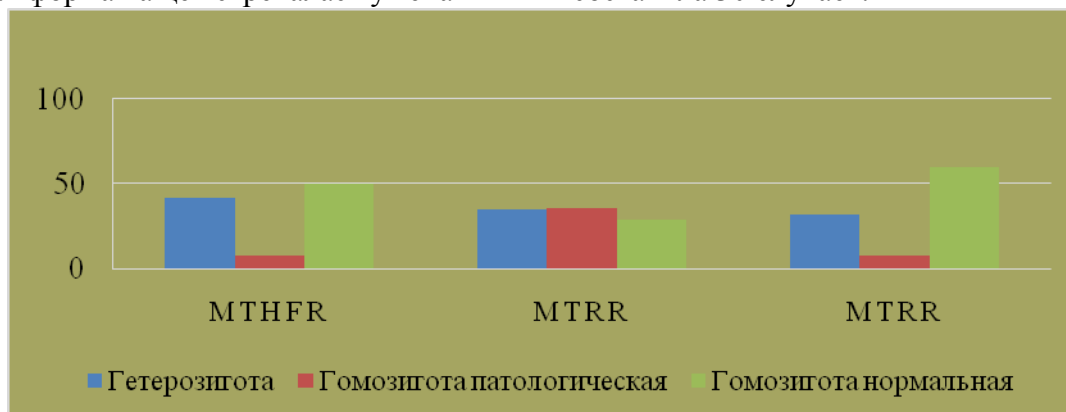


Рис. 2. Полиморфизмы второго блока мутаций (количество случаев)

Для второго блока мутаций характерны следующие особенности: патологическая гомозиготная форма наиболее часто встречается среди гена MTRR; гетерозиготная и гомозиготная нормальная формы характерны для всех генов данного блока.

Общее количество случаев, когда гены не имели патологических изменений (гомозигота нормальная), составило 572 из 900 рассмотренных случаев (100 проб крови пациенток по 9 генам). Гены, имеющие гетерозиготные полиморфизмы, были отмечены в 239 случаях, гомозиготные патологические полиморфизмы – в 89 случаях, из них 30 и 36 случаев характерно для генов PAI-1 и MTRR, соответственно.

Частоты встречаемости полиморфизма генов свертывающей системы крови и их зависимость от генов групповой и резусной принадлежностей крови среди беременных женщин представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 было отмечено, что ген свертывания крови PAI-1 имел мутационную форму (гетерозигота и патологическая гомозигота) во всех группах крови системы АВ0. У пациенток с $I^0I^0D^+$ группой крови мутации PAI-1 встречались в 16 пробах, что составило 88,9%; в крови пациенток с $I^0I^0D^-$ принадлежностью – 60%; у $I^AI^0D^+$ группы крови – 74,4%; с $I^AI^0D^-$ принадлежностью – 100%; $I^BI^0D^+$ – 88%; $I^BI^0D^-$ – 100%; $I^AI^BD^+$ – 100%.

Ген свертывания крови ITGB-3, по данным исследования, подвержен гетерозиготной форме, гомозиготная форма встречается редко. У пациенток с $I^0I^0D^+$ группой крови гетерозиготная мутация ITGB-3 встречалась в 9 пробах из 18; с $I^0I^0D^-$ принадлежностью – 2 пробы; у пациенток с $I^AI^0D^+$ – 16 из 39 проб; $I^AI^0D^-$ – 4 пробы; $I^BI^0D^+$ – в трех из 25 проб; $I^BI^0D^-$ – в четырех из 4 проб; $I^AI^BD^+$ – в двух из 4 проб.

Полиморфизмы гена FBG встречались как в гетерозиготной форме, так и в патологической гомозиготе: среди пациенток с $I^0I^0D^+$ группой крови в 6 пробах, что составило 33,3%; с $I^0I^0D^-$ принадлежностью – 20%; у $I^AI^0D^+$ группы крови – 28,2%; $I^AI^0D^-$ – 0% (ни одного раза); с $I^BI^0D^+$ принадлежностью – 44%; $I^BI^0D^-$ – 75%; $I^AI^BD^+$ – 75%.

Ген свертывания крови FV в мутантной форме был отмечен только у пациенток с $I^0I^0D^-$, $I^AI^0D^+$, $I^BI^0D^+$ и $I^AI^BD^+$ группами крови и представлен единичными случаями.

Мутация гена FII встречалась в гетерозиготной форме у пациенток с $I^AI^0D^+$ группой крови. Патологическая гомозигота гена свертывания крови FVII встречалась у пациенток $I^BI^0D^+$ группы крови, что составило 4% [5]. В исследовании данные о полиморфизмах генов свертывания крови $I^AI^BD^-$ отсутствовали.

Полиморфизмы гена MTHFR чаще встречаются в гетерозиготной форме. У пациенток с $I^0I^0D^+$ группой крови гетерозиготная мутация встречалась в 6 пробах из 18; с $I^0I^0D^-$ принадлежностью – 3 пробы; у $I^AI^0D^+$ группы крови – 17 из 39 проб; с $I^AI^0D^-$ принадлежностью – 3 пробы; $I^BI^0D^+$ – в 11 из 25 проб; у $I^BI^0D^-$ и $I^AI^BD^+$ полиморфизм был обнаружен в единичном случае, 1 из 4 проб.

Таблица 1

Полиморфизмы генов системы свертывания крови и групповой и резусной принадлежности беременных женщин

Полиморфизм	I^0I^0						$I^A I^0$						$I^B I^0$						$I^A I^B$		
	D^+			D^-			D^+			D^-			D^+			D^-			D^+		
	Гет.	Г.П.	Г.Н.	Гет.	Г.П.	Г.Н.	Гет.	Г.П.	Г.Н.	Гет.	Г.П.	Г.Н.	Гет.	Г.П.	Г.Н.	Гет.	Г.П.	Г.Н.	Гет.	Г.П.	Г.Н.
F5 G1691A	-	-	18	1	-	4	1	-	38	-	-	5	3	-	22	-	-	4	1	-	3
F2 G20210A	-	-	18	-	-	5	1	-	38	-	-	5	-	-	25	-	-	4	-	-	4
FGB G455A	5	1	12	1		4	9	2	28	-	-	5	10	1	14	2	1	1	3	-	1
PAI-1 -675 5G/4G	8	8	2	1	2	2	18	11	10	4	1	-	16	6	3	3	1	-	3	1	-
F7 G103T	-	-	18	-	-	5	-	-	39	-	-	5	-	1	24	-	-	4	-	-	4
ITGB-3 T1565C	9	-	9	2	-	3	16	1	22	4	-	1	3	-	22	4	-	-	2	-	2
MTHFR C677T	6	1	11	3	-	2	17	2	20	3	2	-	11	1	13	1	2	1	1	-	3
MTRR A2756G	7	6	5	3	1	1	13	15	11	-	3	2	10	7	8	-	2	2	2	2	-
MTR A66G	7	1	10	1	-	4	9	4	26	1	-	4	13	2	10	1	-	3	-	1	3
Количество проб	18 (100%)			5 (100%)			39 (100%)			5 (100%)			25 (100%)			4 (100%)			4 (100%)		

Примечание: «-» – знак минус означает отсутствие данной формы полиморфизма;

Гет. – Гетерозигота;

Г.П. – Гомозигота патологическая (мутантная);

Г.Н. – Гомозигота нормальная

Гетерозиготная форма полиморфизма MTRR чаще зарегистрирована у $I^0I^0D^+$ группы крови – в 7 пробах крови пациенток, что составило 38,8%; с $I^0I^0D^-$ принадлежностью – 60%; у $I^AI^0D^+$ группы крови – 33,3%; $I^BI^0D^+$ – 40%; с $I^AI^BI^0D^+$ принадлежностью – 50%. В оставшихся вариациях групповой и резусной принадлежности гетерозиготный аллель не наблюдался.

Из вышеприведенной таблицы ген MTR в нормальной форме встречается чаще, чем в гетеро- или патологической гомозиготной форме. У $I^0I^0D^+$ группы крови нормальный аллель MTR встречался в 10 пробах крови пациенток из 18 проб; с $I^0I^0D^-$ принадлежностью – 4 пробы из 5; у $I^AI^0D^+$ группы крови – 26 проб; $I^AI^0D^-$ – 4 из 5 проб; с $I^BI^0D^+$ принадлежностью – 10 проб из 25; с $I^BI^0D^-$ группой крови – 3 из 4 проб; $I^AI^BI^0D^+$ – 3 из 4 проб.

Из данных таблицы 1 следует, что чаще всего полиморфизмы генов свертывания крови встречаются у пациенток с I^AI^0 группой крови [2], что согласуется с данными О.А. Гусяковой, И.А. Зубовой, Ф.Н. Гильмияровой [6] по группоспецифическим особенностям системы гемостаза.

Для определения влияния генов системы свертывания крови на формирование НБ проводился подсчет частот встречаемости аллелей. Полученные данные проиллюстрированы на рисунке 3.

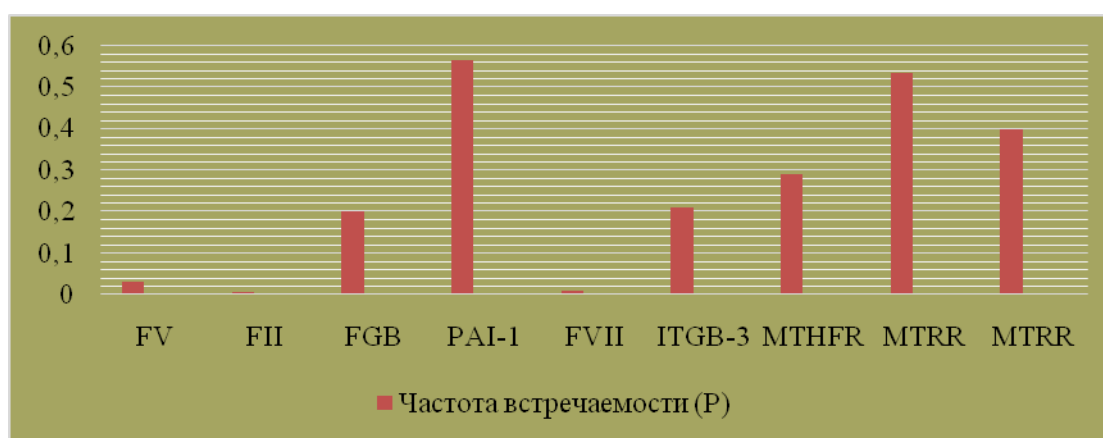


Рис. 3. Частота встречаемости полиморфизма генов

Как представлено на рисунке 3, полиморфизмы генов FV, FII и FVII встречаются крайне редко: $P=0,03$; $P=0,005$; $P=0,01$ (соответственно). Наиболее часто встречаются в гетерозиготной и патологической гомозиготной форме гены $P(PAI-1)=0,565$; $P(MTRR)=0,535$; $P(MTR)=0,4$.

Для проверки гипотезы закона распределения случайной величины был произведен расчет критерия Пирсона. Для расчета критерия χ^2 были взяты часто встречаемые полиморфизмы генов свертывания крови (табл. 2).

Таблица 2

Критерий χ^2 для антигенов системы АВ0 и антигенов системы Резус (5% значимость)

Генотипы	Аллели	Групповая и резусная принадлежности							
		I^0I^0		I^AI^0		I^BI^0		$I^AI^BI^0$	
		D ⁺	D ⁻	D ⁺	D ⁻	D ⁺	D ⁻	D ⁺	D ⁻
PAI-1	5G/5G	4,22	1,8	0,28	2,2	2,68	1,5	1,5	0
	5G/4G								
	4G/4G								
MTRR	AA	1	0,2	5,15	5,4	1,08	4	2	0
	AG								
	GG								
MTR	AA	5,88	8,2	36,13	8,2	5,16	5,5	6	0
	AG								
	GG								

Следует заметить, что полиморфизмы аллелей MTR закономерны [7] и являются значимыми для определения патологических процессов системы свертывания крови у женщин с первой группой крови – $I^0I^0D^+$ и D^- принадлежностью, второй группой крови – $I^AI^0D^+$ принадлежностью, с четвертой группой крови – $I^AI^BD^+$ принадлежностью; для остальных выбранных нами генов расчет критерия χ^2 показывает, что расхождения между эмпирическими и теоретическими частотами несут случайный характер.

Выводы

Таким образом, в результате исследования обнаружены особенности:

1) среди генов, регулирующих фолатный цикл, была отмечена следующая тенденция: гетеро- и гомопатологии гена MTRR встречаются в 71 пробах крови пациенток;

2) среди генов системы гемостаза: полиморфизмы (гетеро-, гомопатологий) гена PAI-1 встречались в 83 пробах крови пациенток; полиморфизм гена FV обнаружен только в гетерозиготной форме; в генах FII и FVII мутации встречались лишь в единичных случаях: для FII характерна гетерозиготная форма, для FVII – патологическая гомозигота;

3) наибольшая частота встречаемости полиморфизма характерна для генов PAI-1 (0,565), MTRR (0,535), MTR (0,4); наименьшая частота встречаемости – FGB (0,2), ITGB-3 (0,21), FV (0,03), FII (0,005), FVII (0,01), MTHFR (0,29);

4) чаще всего встречаются полиморфизмы генов свертывания крови у пациенток с I^AI^0 группой крови.

Наиболее значимыми в диагностике процесса течения беременности женщин являются полиморфизмы гена MTR. Антигены системы ABO и системы Rh могут оказывать влияние на возникновение патологических процессов системы свертывания крови, что может быть использовано в акушерской практике.

Примечания:

1. Миронова Е.С., Чуйкова Т.С. Применение рисуночных методов в диагностике невынашиваемости беременности // Вестник Башкирского университета. 2010. № 3. С. 862–864.
2. Зависимость полиморфизма генов свертывания крови от групповой и резусной принадлежностей крови у женщин / П.О. Понамарева [и др.] // Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн. 2017. № 1 (31).
3. Группы крови: Биологическая вариабельность метаболизма в норме и патологии / Ф.Н. Гильмиярова [и др.] // Вятский медицинский вестник. 2007. № 4. С. 45–48.
4. Тарлыков П.В., Кожамкулов У.А., Раманкулов Е.М. Генетические основы формирования групп крови человека // Биотехнология. Теория и практика. 2014. № 2. С. 4–10.
5. Shifman E.M., Barinov S.V., Dolgikh V.T. Prevention of obstetric complications associated with thrombophilia gene polymorphisms // Transfuziologiya. 2015. No. 1. P. 24–29.
6. Гусякова О.А., Зубова И.А., Гильмиярова Ф.Н. Биологическая вариабельность основных гемостазиологических показателей, ассоциированная с групповой ABO-принадлежностью крови // Основы клинической гемостазиологии / И.Л. Давыдкин, В.А. Кондурцев, Т.Ю. Степанова, С.А. Бобылев. Самара, 2009. С. 96–124.
7. Ассоциация полиморфизма генов F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR с нарушениями репродуктивной функции у женщин / А.Н. Киселева [и др.] // Вятский медицинский вестник. 2017. № 2 (54). С. 24–29.

References:

1. Mironova E.S., Chuykova T.S. Application of pictural methods in diagnosis of miscarriage // Bulletin of the Bashkir University. 2010. No. 3. P. 862–864.
2. Dependence of the polymorphism of genes of coagulation on the group and rhesus belonging of blood of women / P.O. Ponamareva [et al.] // Universum: Chemistry and Biology: Electronic Scientific Journal. 2017. No. 1 (31).
3. Blood groups: The biological variability of metabolism is norm and pathology / F.N. Gilmiyarova [et al.] // Vyatka Medical Bulletin. 2007. No. 4. P. 45–48.
4. Tarlykov P.V., Kozhamkulov U.A., Ramankulov E.M. Genetic bases of formation of human blood groups // Biotechnology. Theory and Practice. 2014. No. 2. P. 4–10.
5. Shifman E.M., Barinov S.V., Dolgikh V.T. Prevention of obstetric complications associated with thrombophilia gene polymorphisms // Transfuziologiya. 2015. No. 1. P. 24–29.
6. Gusyakova O.A., Zubova I.A., Gilmiyarova F.N. The biological variability of the main the hemostasiological indexes of a hemostasis associated with blood types of system of ABO // Bases of a clinical hemostasiology / I.L. Davydkin, V.A. Kondurtsev, T.Yu. Stepanova, S.A. Bobylev. Samara, 2009. P. 96–124.
7. Association of a polymorphism of F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR genes with reproductive disorders in / A.N. Kiseleva [et al.] // Vyatka Medical Bulletin. 2017. No. 2 (54). P. 24–29.