

Генетические варианты GP IIIa и их взаимосвязь с количественными и качественными характеристиками рецептора тромбоцитов для фибриногена GP IIb-IIIa

Сироткина О.В.^{1,2,3}, Масленников А.Б.⁴, Цикаленко Е.А.⁴, Вавилова Т.В.¹, Пчелина С.Н.^{2,3}

- 1 — ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2
- 2 — ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» 188350, г. Гатчина, Ленинградская обл., микрорайон Орлова Роща, 1
- 3 — ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 6/8
- 4 — ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница №1» 630075, г. Новосибирск, ул. Залесского, д.6, корп.7

В работе представлены результаты исследования генетических вариантов ключевого тромбоцитарного рецептора для фибриногена GPIIb-IIIa, а также взаимосвязь генетических вариантов с количественными характеристиками рецептора и функциональной активностью тромбоцитов.

Ключевые слова: тромбоцитарный рецептор GPIIb-IIIa, *ITGB3*, Leu33Pro *GPIIIa*.

Для цитирования: Сироткина О.В., Масленников А.Б., Цикаленко Е.А., Вавилова Т.В., Пчелина С.Н. Генетические варианты GP IIIa и их взаимосвязь с количественными и качественными характеристиками рецептора тромбоцитов для фибриногена GP IIb-IIIa. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 74-75.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.74-75

Автор для корреспонденции: Сироткина О.В., e-mail: olga_sirotkina@mail.ru

Финансирование: государственное задание тема 23, грант РФФИ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020.

Genetic variants of the *ITGB3* gene encoding the GP IIIa subunit, and their relationship with quantitative and qualitative characteristics of the platelet receptor for fibrinogen GP IIb-IIIa

Sirotkina O.^{1,2,3}, Maslennikov A.⁴, Tsykalenko E.⁴, Vavilova T.¹, Pchelina S.^{2,3}

- 1 — Almazov National Medical Research Centre Akkuratova str., 2, St.Petersburg, 197341, Russia,
- 2 — Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» Orlova Rostcha, 1, St.Petersburg, Gatchina, 188350, Russia
- 3 — Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University L.Tolstogo str., 6/8, St.Petersburg, 197101, Russia
- 4 — «City Clinical Hospital №1» Zaleskogo str., 6/7, Novosibirsk, 630075, Russia,

The results of the study of genetic variants of the key platelet receptor for fibrinogen GPIIb-IIIa, as well as the relationship of genetic variants with quantitative characteristics of the receptor and the functional activity of platelets, were presented.

Key words: platelet receptor GPIIb-IIIa, *ITGB3*, Leu33Pro *GPIIIa*.

For citation: Sirotkina O., Maslennikov A., Tsykalenko E., Vavilova T., Pchelina S. Genetic variants of the *ITGB3* gene encoding the GP IIIa subunit, and their relationship with quantitative and qualitative characteristics of the platelet receptor for fibrinogen GP IIb-IIIa. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 74-75. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.74-75

Corresponding author: Sirotkina Olga, e-mail: olga_sirotkina@mail.ru

Funding. State assignment topic 23, RFBR grant

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.05.2020.

В основе патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) лежит атеротромбоз, в развитии которого ведущую роль играет активация и агрегация тромбоцитов в месте повреждения сосудистого эндотелия. Генетические варианты ключевых тромбоцитарных рецепторов, в первую очередь рецептора для фибриногена GP IIb-IIIa, модулируют функциональную активность тромбоцитов и могут выступать факторами риска развития ССЗ.

Целью данной работы было проанализировать генетические варианты субъединицы GP IIIa и оценить их взаимосвязь с уровнем экспрессии гена GP IIIa, количеством рецептора GP IIb-IIIa на поверхности клеток и функциональной активностью тромбоцитов.

Материалы и методы

Для оценки известных генетических вариантов *GPIIIa* проанализировано 359 и 1287 жителей обоего пола Санкт-Петербурга (СПб) и Новосибирска, соответственно, не связанных узлами родства, генетические варианты Leu33Pro и Leu40Arg *GPIIIa* определяли методом ПЦР с последующим ПДРФ анализом с рестриктазой MspI. Из вышеописанной группы у 59 человек было измерено количество рецепторов GP IIb-IIIa на мембране тромбоцитов методом проточной цитометрии с использованием mAB CD61-FITC и у 22 человек — экспрессия гена *GPIIIa* (уровень соответствующей мРНК) методом ПЦР в реальном времени. У лиц, включенных в исследование, была проанализирована функциональная активность тромбоцитов (АДФ-индуцированная агрегация, спонтанная агрегация). В отобранных образцах с высоким уровнем экспрессии *GPIIIa* и большим количеством рецепторов GP IIb-IIIa было проведено секвенирование участка промоторной области гена.

Результаты

Частота генотипа Leu33Leu33 составила 74 и 68%, Leu33Pro — 23 и 29%, в Санкт-Петербурге и Новосибирске, соответственно, частота генотипа Pro33Pro33 — 3% в обеих выборках. Частота аллеля Pro33 была достоверно выше в выборке Новосибирска ($p=0,03$). Среди носителей аллеля Pro33 нами были выявлены лица с генетическим вариантом Leu40Arg, который находится в сцеплении с Leu33Pro: 2% лиц в Санкт-Петербурге (7 человек) и Новосибирске (24 человека) являлись носителями гаплотипа Leu33Pro33/Leu40Arg40 или Pro33Pro33/Leu40Arg40 гена *GPIIIa*. При этом генетический вариант 33Pro *GPIIIa* ассоциирован с высокой спонтанной агрегацией тромбоцитов ($1,26 \pm 0,06$ и $1,8 \pm 0,24$ для генотипов LeuLeu и LeuPro+ProPro, соответственно, $p=0,03$), а у компунд-гетерозигот Leu33Pro33/Leu40Arg40 и Pro33Pro33/Leu40Arg40 *GPIIIa* функциональные тесты показали высокую степень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, в том числе отсутствие дезагрегации на низких дозах индукто-

ра ($1,25$ мкМ и $2,5$ мкМ АДФ). Наблюдалась тенденция к ассоциации генетического варианта 33Pro *GPIIIa* с несколько большим количеством рецепторов GP IIb-IIIa на мембране (58896 ± 1419 и 60494 ± 2466 для генотипов LeuLeu и LeuPro+ProPro, соответственно, $p=0,08$). Аналогичной взаимосвязи данного генетического варианта с уровнем мРНК гена *GPIIIa* выявлено не было. Для исследования промоторной области гена *GPIIIa* с целью выявления генетических вариантов, отвечающих за изменение уровня экспрессии гена, секвенировали часть промоторной области размером 284 п.н. в 6 образцах с высоким уровнем экспрессии гена и/или большим содержанием рецептора GP IIb-IIIa на мембране тромбоцитов: проба 1 — экспрессия *GPIIIa* 0,52, количество GP IIb-IIIa 74900 ед/кл.; проба 2 — экспрессия *GPIIIa* 0,55, количество GP IIb-IIIa 62500 ед/кл.; проба 3 — экспрессия *GPIIIa* 12,2, количество GP IIb-IIIa 55606 ед/кл.; проба 4 — количество GP IIb-IIIa 82698 ед/кл.; проба 5 — экспрессия *GPIIIa* 9,65; проба 6 — экспрессия *GPIIIa* 10,65. В четырех образцах были найдены следующие генетические варианты промоторной области гена *GPIIIa*: проба 1 — A-425C; проба 2 — G-468A; проба 4 — A-425C; проба 5 — A-425C.

Обсуждение

Генетические варианты промоторной области гена *GPIIIa* были описаны ранее в зарубежных исследованиях, при этом A-425C в исследованных нами образцах оказался сцеплен с Leu33Pro, что согласуется с данными других исследований [1]. Однако мы не обнаружили варианта C-400A, сцепленного по данным O'Halloran A. et al с G-468A. В нашем случае вариант G-468A не был связан с другими проанализированными генетическими вариантами *GPIIIa*. Следует подчеркнуть, что A-425C *GPIIIa* был найден преимущественно в образцах с высокой плотностью рецептора GP IIb-IIIa на мембране тромбоцита, в то время как G-468A присутствовал в пробах с высоким уровнем экспрессии гена *GPIIIa*.

Заключение

Нами проанализированы генетические варианты субъединицы *GPIIIa* рецептора тромбоцитов для фибриногена, которые ассоциированы с количественными характеристиками рецептора и функциональной активностью тромбоцитов. Молекулярные механизмы взаимосвязи генетических вариантов A-425C и G-468A, локализованных в промоторной области гена *GPIIIa*, с количественными характеристиками субъединицы *GPIIIa* и рецептора GP IIb-IIIa требуют дальнейшего изучения.

Литература/References

1. O'Halloran A.M., Curtin R., O'Connor F., Dooley M., Fitzgerald A., O'Brien J.K., Fitzgerald D.J., Shields D.C. The impact of genetic variation in the region of the *GPIIIa* gene, on P1 expression bias and GPIIb/IIIa receptor density in platelets. *British Journal of Haematology* 2005; 132: 494–502.