

И. В. Бергер<sup>1\*</sup>, Ю. Ю. Ассесорова<sup>1</sup>, А. Д. Махмудова<sup>1</sup>

## АНАЛИЗ ВКЛАДА ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА В ГЕНЕТИЧЕСКУЮ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ ТРОМБОЗОВ У ПАЦИЕНТОВ С Rh-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКИСТАН

<sup>1</sup>Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии Республики Узбекистан (Республика Узбекистан, г. Ташкент, Чиланзарский район, ул. Арнасай, 16/1А; e-mail: rigiatm@exat.uz)

\***Инна Викторовна Бергер** – PhD, старший научный сотрудник, заместитель главного врача Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии; Республика Узбекистан, г. Ташкент, Чиланзарский район, ул. Арнасай, 16/1А; e-mail: innaberger@mail.ru

Тромботические осложнения нередко осложняют течение основного заболевания у больных хронической миелопролиферативной неоплазией. Однако тромбоэмболическое состояние отмечается не у всех больных. Целью исследования стала оценка частоты носительства полиморфных генов свертывающей системы крови и генов метаболизма фолатов и вклада генетических вариантов в развитие тромбозов у пациентов с хронической Rh-негативной миелопролиферативной неоплазией (ХМПН).

*Материалы и методы.* Молекулярно-генетическое тестирование на наличие генетических вариантов с оценкой частоты их встречаемости и аллельной нагрузки было проведено у 142 пациентах с ХМПН. Исследовались полиморфизмы генов фолатного цикла – A2756G (Asp919Gly) гена *MTR*, C677T (Ala22Val) гена *MTHFR*, A66G (Ile22Met) гена *MTRR* (rs1801394), а также мутаций генов факторов свертывания крови – G(455)A гена *FGB*, G20210A гена *F2*, G10976A (Arg353Gln) гена *F7*, G1691A (Arg506Gln) гена *F5*. Исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени; биологическим материалом для теста служила цельная кровь.

*Результаты и обсуждение.* Исследование показало, что лишь 6 из 50 (12%) пациентов с тромботическими осложнениями не имели изменений в изучаемых генах, тогда как у 88% пациентов был обнаружен тот или иной генотипический вариант, что может свидетельствовать о высокой вероятности вовлечения наследственного генетического фактора в развитие гиперкоагуляции и тромботических осложнений у больных ХМПН.

*Выводы.* Всестороннее исследование роли, взаимодействия и условий функционирования генов, контролирующих процессы свертывания крови у больных Rh-отрицательными ХМПН, позволит понять причины нарушений системы гемостаза и разработать эффективные меры по профилактике тромботических осложнений у данной категории больных.

*Ключевые слова:* тромбозы; генетические полиморфизмы; гены гемостаза; гены фолатного цикла; миелопролиферативные неоплазии

### ВВЕДЕНИЕ

По данным эпидемиологических исследований [1, 2, 3, 4] в мире наблюдается тенденция к увеличению онкогематологической заболеваемости. Частота заболеваемости хроническими лейкозами ежегодно возрастает на 6-10%, а в течение последних 20 лет только в США данные среднегодовой заболеваемости оцениваются 9-15 случаями на 100 000 населения [2, 3]. Хронические Rh-негативные миелопролиферативные неоплазии характеризуются повсеместным распространением, многообразием клинических

проявлений, в том числе – высокой частотой развития тяжелых тромботических и тромбогеморрагических осложнений [2, 5, 12, 20]. Недостаточная изученность патогенетических механизмов тромбофилий среди пациентов с хроническими миелопролиферативными неоплазиями (ХМПН), особенностей их клинического течения и осложнений, причин рецидивов, в том числе среди лиц молодого возраста, обуславливают необходимость совершенствования ранней диагностики данной патологии и разработки эффективных профилактических мер.

Поскольку до 68% случаев тромбофилии фиксируются только после первого или даже повторного эпизода тромботических осложнений (из-за высокой доли неспецифических симптомов), точная частота тромбозов может быть недооценена [3, 6, 10, 22]. ХМПН преимущественно обнаруживается у лиц зрелого возраста, но в то же время нередко встречается и у больных моложе 40 лет (трудоспособное население). Проявления гематогенной тромбофилии у пациентов с ХМПН связаны с повышенным риском образования тромбов в сосудах, что может привести к различным клиническим симптомам, обусловленных тромбозами глубоких вен, легочной эмболией и тромбозами артерий.

Известно, что риск развития тромбозов может быть повышен при носительстве мутаций генов системы гемостаза и полиморфных вариантов генов фолатного цикла [7, 8, 13, 21]. Так, при наследственной тромбофилии нарушение свертываемости крови вызывается, в частности, изменениями последовательности нуклеотидов в генах факторов свертывания крови II и V. При этом основную роль в развитии тромбофилии и ассоциированных с ней заболеваний играют мутации *F2 G20210A* и *F5 G1691A*, в частности, распространенность мутации фактора V (Лейденской мутации) у пациентов с наличием в анамнезе венозной тромбоэмболии достигает 43,7% [3, 5, 8, 11]. Частота встречаемости мутантного аллеля A (*G20210A*) гена *F2* при тромбофилических состояниях в европейской популяции по данным литературы составляет от 1,7 до 3% [1, 4, 15, 19]. Значимость в развитии тромбофилии полиморфных вариантов генов фолатного цикла в различных популяциях варьирует в зависимости от аллельной нагрузки, генетических комбинаций и наличия сочетанной патологии, патогенетические механизмы которой могут как потенцировать, так и подавлять склонность к гиперкоагуляции. Влияние генетических изменений на склонность к аномальному тромбообразованию и частоту тромбозов у больных ХМПН остается малоизученным.

**Целью** исследования явилась оценка частоты носительства аллельных вариантов генов свертывающей системы крови и генов метаболизма фолатов и связи генетических полиморфизмов с клиническими признаками тромбозов у пациентов с хронической Rh-негативной миелопролиферативной неоплазией.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Больным ХМПН, проходившим обследование и лечение в РСНПМЦГ МЗ РУз в период с 2018 по 2023 г. (табл. 1), было проведено молекулярно-генетическое тестирование на наличие мутаций

генов факторов свертываемости крови и генов фолатного цикла с оценкой частоты их встречаемости и аллельной нагрузки. В основную группу вошли больные с различными нозологическими формами ХМПН (истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ), миелофиброз (МФ) (n=142). Группа контроля (условно здоровые) по полу, возрасту и национальной принадлежности была сопоставима с основной группой. На основании наличия или отсутствия эпизодов тромбоза из основной группы были сформированы две подгруппы пациентов (соответственно, n=50 и n=92).

Исследовались полиморфизмы генов фолатного цикла – A2756G (Asp919Gly) гена *MTR*, C677T (Ala22Val) гена *MTHFR*, A66G (ILe22Met) гена *MTRR* (rs1801394), а также мутаций генов факторов свертывания крови – G(-455)A гена *FGB*, G20210A гена *F2*, G10976A (Arg353Gln) гена *F7*, G1691A (Arg506Gln) гена *F5*. Исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени; биологическим материалом для теста служила цельная кровь. Выделение ДНК из ядер лимфоцитов проводили в соответствии с методикой, приведенной в руководстве Ж. Сэмбрука и др. (Sambrook J. et al., 1989) с некоторыми модификациями. Концентрацию ДНК оценивали, используя спектрофотометр («Nanodrop», «Thermo Scientific», США) при оптической плотности 260 и 280 нм. Качество выделенной ДНК оценивали, как высокое, если отношение A260/A280 было >1,8. Образцы ДНК хранили в буфере TE при +4°C. Для статистической обработки данных использовалась программа Prizma 6,0 (2023). Для определения достоверности различий использовали статистические критерии: t-критерий Стьюдента,  $\chi^2$ -квадрат, доверительный интервал (CI), отношение шансов (OR), относительный риск (RR). Отличия считали достоверными при значении  $p < 0,05$ . Вывод о наличии статистической взаимосвязи между изучаемым фактором риска (полиморфным геном) и исходом (развитием тромбоза) делали при значении критерия  $\chi^2$  больше критического; критическим значением  $\chi^2$  при уровне значимости  $p < 0,05$  и степени свободы  $f=1$  считали 3,841.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические проявления гиперкоагуляционных нарушений у больных ХМПН с эпизодами тромботических осложнений были представлены острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) в 7 случаях (7,6%), тромбозом глубоких вен (ТГВ) – в 38 случаях (41,3%), артериальными тромбозами – в 20 случаях (21,7%), тромбозами вен сетчатки глаза – в 12 случаях (13,04%), дру-

## Клиническая медицина

гими видами тромбозов – в 15 случаях (16,3%). Сочетанные клинические проявления тромбозов наблюдались у 50 из 142 пациентов (35,2%). Доля больных с единичным эпизодом тромбоза составила 32%, повторные эпизоды наблюдались у 34 больных (68%).

Была проведена сравнительная оценка частоты носительства аллельных вариантов генов свертывающей системы крови и генов метаболизма фолатов у больных хроническими Rh-негативными миелопролиферативными неоплазиями (ХМПН) с клиническими признаками тромбозов в течении заболевания и без них. Выбор мутаций генов факторов свертывания крови – G(-455)A гена *FGB*, G20210A гена *F2*, G10976A (Arg353Gln) гена *F7*, G1691A (Arg506Gln) гена *F5*, а также полиморфизмы генов фолатного цикла – A2756G (Asp919Gly) гена *MTR*, C677T (Ala22Val) гена *MTHFR*, A66G (ILe22Met) гена *MTRR* был обоснован данными источников литературы, в которых отмечается высокая частота встречаемости данных генетических вариантов у пациентов с тромбофилиями и их доказанное участие в повышении риска развития тромбозов [11, 13, 17, 18].

Исследование показало, что лишь 6 из 50 (12%) пациентов с тромботическими осложнениями не имели изменений в изучаемых генах, тогда как у 88% пациентов был обнаружен тот или иной генотипический вариант, что могло свидетельствовать о высокой вероятности вовлечения наследственного генетического фактора в развитие гиперкоагуляции и тромботических осложнений у больных ХМПН.

Проанализирована частота встречаемости вариантных аллелей и генотипов изучаемых генов (табл. 2).

Результаты исследования показали, что мутантные генотипы генов, кодирующих факторы свертывания крови, считающиеся маркерами тромбофилии, в целом встречались у больных ХМПН с тромбозами реже (от 0 до 20%), чем полиморфные варианты генов фолатного цикла (52-54%) – за исключением гена *MTR* (8%). Из генов,

кодирующих факторы свертывания крови, наиболее высокой среди больных данной категории была частота мутаций генов *FGB* (18%) и *F7* (20%). Необходимо отметить, что Лейденская мутация не была выявлена нами ни у одного больного.

Среди нарушений конечного этапа свертывания крови клинически значимыми являются многочисленные структурные и функциональные аномалии фибриногена. Мутации гена *FGB* изменяют структуру фибриногена и, соответственно, его функциональность, что может влиять на тромбообразование. При сравнительной оценке частоты мутаций генов факторов свертываемости крови в группе больных ХМПН, включавшей пациентов с клиническими проявлениями тромбозов, и в группе пациентов без тромбозов была показана достоверная разница в отношении G(-455)A гена *FGB* ( $p < 0,001$ ) (табл. 3). Однако гетерозиготный генотип данного полиморфизма в 2,5 раза чаще встречался у больных, не имеющих клинические проявления тромботических осложнений ( $\chi^2 = 7,023$ ;  $p = 0,009$ ; OR=0,35; 95% CI: 0,123-0,756), тогда как у больных с тромботическими осложнениями чаще встречался мутантный гомозиготный генотип ( $\chi^2 = 1,329$ ;  $p = 0,249$ ; OR=0,35; 95% CI: 0,335-42,890). Повышенная тромбогенность при дисфибриногемии обусловлена нарушением взаимодействия антитромбина с плазменными прокоагулянтами [15, 16, 23]. Однако небольшая частота встречаемости гомозиготной мутации у больных ХМПН с тромбозами в нашем исследовании не позволяет убедительно доказать ее вклад в развитие тромботических осложнений у данной категории больных без проведения дополнительных исследований с увеличением объема выборки.

В контрольной группе вариантные гены *F2* и *F5* не были обнаружены, однако в общей группе пациентов с ХМПН ( $n = 142$ ) были выявлены случаи мутаций данных генов. При этом гетерозиготный генотип G20210A гена *F2* недостоверно чаще встречался среди больных без клинических признаков тромботических осложнений – в сравнении с группой больных ХМПН с тромбозами ( $\chi^2 = 2,997$ ;

Таблица 1 – Критерии выбора и распределение обследуемых по полу и возрасту

Показатель	Основная группа: больные ХМПН (n=142)			Группа контроля (n=41)
	ИП (n=81)	ЭТ (n=39)	МФ (n=22)	
Наличие тромбоза (нет/есть)	63/18	16/23	13/9	41/0
Пол (муж/жен)	43/38	21/18	11/9	23/18
Средний возраст (M±m)	48,5±1,33	37±2,29	40,5±1,34	36,5±2,15

Таблица 2 – Частота встречаемости аллельных и генотипических вариантов генов факторов свертывания крови и фолатного цикла у больных ХМПН с клиническими признаками тромбозов (n=50)

Генетический вариант	Аллели				Генотипы					
	Норма		Мутация		Нормальная гомозигота		Гетерозигота		Мутантная гомозигота	
C677T (Ala22Val) гена MTHFR	C		T		C/C		C/T		T/T	
	71	71%	29	29%	24	48%	23	46%	3	6%
A66G (Ile22Met) гена MTRR	A		G		A/A		A/G		G/G	
	64	64%	36	36%	23	46%	18	36%	9	18%
A2756G (Asp919Gly) гена MTR	A		G		A/A		A/G		G/G	
	93	93%	7	7%	46	92%	1	2%	3	6%
G(-455)A гена FGB	G		A		GG		GA		AA	
	89	89%	11	11%	41	82%	7	14%	2	4%
G20210A гена F2	G		A		GG		GA		AA	
	97	97%	3	3%	48	96%	1	2%	1	2%
G1691A (Arg506Gln) гена F5	G		A		GG		GA		AA	
	100	100	0	0	50	100%	0	0	0	0
G10976A (Arg353Gln) гена F7	G		A		GG		GA		AA	
	90	90%	10	10%	40	80%	10	20%	0	0

$p=0,084$ ;  $OR=0,188$ ; 95% CI: 0,023-1,5321). Однако гомозиготная мутация (2%) была выявлена только в группе больных с тромбозами. Низкая частота встречаемости и недостоверность различий не позволяют сделать вывод о том, что данный полиморфизм гена *F2* имеет ассоциацию с развитием тромбозов у больных ХМПН.

Полученные данные указывают на то, что *F2* G20210A и *F5* G1691A не имеют патогенетического значения для развития тромботических осложнений у больных ХМПН.

Анализ вариантного гена *F7* (G10976A) показал, что гетерозиготный генотип встречался в подгруппах больных ХМПН с тромбозами практически с той же частотой, что и у больных без клинических признаков тромбофилии ( $\chi^2=0,004$ ;  $p=0,951$ ;  $OR=1,028$ ; 95% CI: 0,433-2,437) (табл. 3). Единственный случай гомозиготной мутации была выявлен у больного ХМПН, в течении болезни которого не было зарегистрировано эпизодов тромботических осложнений. Полученные нами данные позволяют предположить, что наличие мутантного аллеля A может рассматриваться как протективный фактор, однако низкая частота встречаемости и недостоверность различий не позволяют сделать вывод о том, что данный поли-

морфизм гена *F7* имеет отношение к механизмам развития тромбозов у больных ХМПН.

Исследование полиморфных генов фолатного цикла показало, что носительство генотипов C/T и T/T гена *MTHFR* (C677T) у больных ХМПН с тромбозом встречалось выше (соответственно, 46,0 и 43,4%, 6,0 и 3,2%), чем у больных без наличия тромботических осложнений, однако, статистический анализ показал отсутствие значимости выявленного различия в обоих случаях (для генотипа C/T:  $\chi^2=0,083$ ;  $p=0,773$ ;  $OR=1,107$ ; 95% CI: 0,554-2,213; для генотипа T/T:  $\chi^2=0,601$ ; 95% CI: 0,368-9,751) (табл. 4).

Достоверное различие между подгруппами больных ХМПН с тромбозами и без тромбозов было выявлено в отношении полиморфизма гена *MTR* (A2756G) (табл. 4). В данном случае наличие вариантного аллеля определяло протекторные возможности гена, но только в составе гетерозиготного генотипа: частота генотипа A/G составляла 30,4% среди больных без тромбозов и лишь 2,0% у больных с тромботическими осложнениями ( $\chi^2=16,116$ ;  $p<0,001$ ;  $OR=0,047$ ; 95% CI: 0,006-0,355). И напротив, дикий генотип преобладал у больных с тромбозами (92,0% против 66,3%; ( $\chi^2=11,516$ ;  $p<0,001$ ;  $OR=5,844$ ; 95% CI:

## Клиническая медицина

Таблица 3 – Частота вариантных генотипов генов факторов свертываемости крови у больных ХМПЗ с тромбозом и без тромботических осложнений

Вариантный ген	Генотипы	Больные ХМПН				$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
		с тромбозом (n=50)		без тромбоза (n=92)						
		абс.	%	абс.	%					
FGB G(455)A	G/G	41	82,0	59	64,1	4,966	0,026 p<0,05	1,279	2,548	1,102-5,890
	G/A	7	14,0	32	34,7	7,023	0,009 p<0,001	0,403	0,305	0,123-0,756
	A/A	2	4,0	1	1,1	1,329	0,249 p>0,05	3,680	3,792	0,335-42,890
F2 G(20210)A	G/G	48	96,0	83	90,2	1,516	0,219 p>0,05	1,064	2,602	0,540- 12,545
	G/A	1	2,0	9	9,8	2,997	0,084 p>0,05	0,204	0,188	0,023- 1,531
	A/A	1	2,0	-	-	-	-	-	-	-
F5 G(1691)A	G/G	50	100,0	90	97,8	1,102	0,294 p>0,05	1,022	Infinity	-
	G/A	-	-	2	2,2	-	-	-	-	-
	A/A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F7 G(10976)A	G/G	40	80,0	73	79,4	0,008	0,927 p>0,05	1,008	1,041	0,442- 2,454
	G/A	10	20,0	18	19,5	0,004	0,951 p>0,05	1,022	1,028	0,433- 2,437
	A/A	-	-	1	1,1	-	-	-	-	-

1,927-17,723). При этом необходимо отметить, что частота мутантного гомозиготного генотипа также была выше в группе больных с тромботическими осложнениями, хотя статистический анализ не показал достоверности данного различия ( $\chi^2=0,601$ ;  $p>0,05$ ;  $OR=1,894$ ; 95% CI: 0,368-9,751).

Анализ частоты генотипов полиморфного гена *MTRR* (A66G) у пациентов ХМПН с тромбозом и без тромботических осложнений показал следующее: у пациентов, имеющих тромботические осложнения на фоне основного заболевания, гетерозиготный генотип мутационный гомозиготный генотипы встречались достоверно чаще, чем у больных без эпизодов тромбозов. Так, генотип A/G был обнаружен у 36,0% больных с тромбозами и у 16,3% больных без тромбозов ( $\chi^2=7,044$ ;  $p<0,05$ ;  $OR=2,887$ ; 95% CI: 1,298-6,424); генотип G/G выявлен, соответственно у 18% и 2,1% больных ( $\chi^2=11,353$ ;  $p<0,001$ ;  $OR=9,878$ ; 95% CI: 2,043-47,770). Таким образом, гетерозиготное носитель-

ство мутантного аллеля повышает риск развития тромбоза почти в 3 раза ( $OR=2,8$ ), а наличие гомозиготной мутации полиморфного гена *MTRR* (A66G) увеличивает риск тромботических осложнений почти в 10 раз ( $OR=9,8$ ) (табл. 4).

Ген *MTRR* (хромосомный локус 5p15.3-p.15.2) кодирует цитоплазматический фермент метионин-синтазу-редуктазу (MCP), участвующий в восстановлении активности *MTR* – фермента, непосредственно осуществляющего метилирование гомоцистеина [7, 9]. Одной из функций MCP является обратное превращение гомоцистеина в метионин. Изменения активности фермента могут быть причиной повышения сыровоточного уровня гомоцистеина в плазме, [9], что, в свою очередь, может привести к изменениям коагуляционного каскада путем прямого цитотоксического влияния гомоцистеина на эндотелий, атерогенез, активацию факторов свертывания крови V и XII, повышение уровня агрегации тромбина и тромбоцитов [14].

Таблица 4 – Частота полиморфных генотипов генов фолатного цикла у больных ХМПЗ с тромбозом и без тромботических осложнений

Полиморфный ген	Генотипы	Больные ХМПН				$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
		с тромбозом (n=50)		без тромбоза (n=92)						
		абс.	%	абс.	%					
C677T MTHFR	C/C	24	48,0	49	53,2	0,359	0,550	0,872	0,810	0,406-1,614
	C/T	23	46,0	40	43,4	0,083	0,773	1,068	1,107	0,554-2,213
	T/T	3	6,0	3	3,2	0,601	-	-	1,894	0,368-9,751
A2756G MTR	A/A	46	92,0	61	66,3	11,516	<0,001	1,388	5,844	1,927-17,723
	A/G	1	2,0	28	30,4	16,116	<0,001	0,066	0,047	0,006-0,355
	G/G	3	6,0	3	3,26	0,601	>0,05	1,840	1,894	0,368-9,751
A66G MTRR	A/A	23	46,0	75	81,5	19,114	<0,001	0,564	0,193	0,090-0,415
	A/G	18	36,0	15	16,3	7,044	<0,05	2,208	2,887	1,298-6,424
	G/G	9	18,0	2	2,1	11,353	<0,001	8,280	9,878	2,043-47,770

Несмотря на то, что ряд исследователей не обнаружили связи полиморфизма *MTRR*(A66G) с концентрацией гомоцистеина [13], другими работами показано, что данный вариант гена приводит к снижению скорости синтеза метионина и повышению уровня гомоцистеина в плазме [18]. Сравнительный анализ частоты распределения вариантных генотипов *MTRR*(A66G) в изучаемых нами подгруппах больных ХМПН с наличием и отсутствием клинических проявлений нарушений в системе гемостаза выявил ассоциацию функционально неблагоприятного аллеля G полиморфного гена *MTRR*(rs1801394) с развитием тромботических осложнений у больных данной формой гемобластозов. Полученные нами результаты позволяют рассматривать данный генетический маркер в качестве потенциального предиктора нарушения гемостаза и повышенного тромбообразования у больных с Rh-отрицательными хроническими миелопролиферативными неоплазиями.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Высокая частота выявления тех или иных вариантных генотипов может свидетельствовать о большой вероятности вовлечения в развитие гиперкоагуляции и тромботических осложнений у больных ХМПН наследственного генетического фактора. Однако из 7 генов, считающихся маркерами тромбофилии, проведенные исследования выявили достоверную ассоциацию развития тромбозов только с полиморфным геном фолатного цикла *MTRR*(A66G). При этом выполненное

исследование не исключает возможное влияние приобретенных мутаций или эпигенетических изменений, которые могут возникнуть в лейкозных клетках в результате нарастающей при неопластическом процессе генетической нестабильности. Всестороннее исследование роли, взаимодействия и условий функционирования генов, контролирующих процессы свертывания крови у больных Rh-отрицательными ХМПН, позволит понять причины нарушений системы гемостаза и разработать эффективные меры по профилактике тромботических осложнений у данной категории больных.

**Вклад авторов:**

И. В. Бергер – сбор и анализ материала, обработка статистических данных.

И. В. Бергер, Ю. Ю. Ассесорова – дизайн исследования, написание текста.

А. Д. Махмудова – редактирование.

Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

**Прозрачность исследования.** Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

**Конфликт интересов.** Конфликт интересов не заявлен.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1 Андреев Е. Ю. Прогностическая значимость носительства аллельных вариантов генов, контролирующих систему гемостаза, и их сочетания с традиционными факторами риска в раннем развитии ишемической болезни сердца / Е. Ю. Андреев, Л. М. Самоходская, А. В. Балацкий // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2011. – Т. 10, №8. – С. 32-39.
- 2 Блинова Е. А. Этиология и патогенез тромбофилии / Е. А. Блинова, И. В. Гребенникова // Международный студенческий научный вестник. – 2016. – №4-2. – С. 143-144.
- 3 Васильев С. А. Тромбозы и тромбофилии: классификация, диагностика, лечение, профилактика / С. А. Васильев, В. Л. Виноградов, А. Н. Смирнов // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2013. – Т. 21, №17. – С. 896.
- 4 Воробьев А. И. Гиперкоагуляционный синдром: классификация, патогенез, диагностика, терапия / А. И. Воробьев, С. А. Васильев, В. М. Городецкий // Гематология и трансфузиология. – 2016. – №3. – С. 116-122.
- 5 Меликян А. Л. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Rh-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) / А. Л. Меликян, А. Г. Туркина, К. М. Абдулкадыров // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т. 59, №4. – С. 31-56.
- 6 Самойленко В. В. Тромбофилия: диагностика и лечение. Место и роль лабораторной диагностики // Матер. науч.-практ. конф. «Тромбозы и тромбофилии в практике врача-флеболога». – М., 2018. – С. 24-26.
- 7 Фетисова И. Н. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И. Н. Фетисова, А. С. Добролюбов, М. А. Липин // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. X, №1. – С. 71-74.
- 8 Филатова Е. А. Наследственная гематогенная тромбофилия, манифестирующая тромбозом легочной артерии / Е. А. Филатова, Т. В. Есенина, К. М. Мишкурова // Амурский мед. журнал. – 2018. – №1-2 (20-21). – С. 25-29.
- 9 Barbosa P. R. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women / P. R. Barbosa, S. P. Stabler, A. L. Machado // Eur. J. Clin. Nutr. – 2008. – V. 62 (8). – P. 1010-1021.
- 10 Butt C. Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A Leu34 alleles as a strong risk factor for myocardial infarction: evidence of a gene-gene interaction / C. Butt, H. Zheng, E. Randell // Blood. – 2021. – V. 102, №4. – P. 1558-1559.
- 11 Cai B. Genetic variant in MTRR, but not MTR, is associated with risk of congenital heart disease: an integrated meta-analysis / B. Cai, T. Zhang, R. Zhong // PLoS One. – 2014. – V. 9 (3). – e89609.
- 12 Duangnapasatit D. Clinical Manifestations and Risk Factors for Complications of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasms / D. Duangnapasatit, E. Rattarittamrong, T. Rattanathammethee // Asian Pac. J. Cancer. Prev. – 2015. – V. 16 (12). – P. 5013-5018.
- 13 Feix A. Methionine synthase reductase MTRR 66A>G has no effect on total homocysteine, folate, and Vitamin B12 concentrations in renal transplant patients / A. Feix, W. C. Winkelmayer, C. Eberle // Atherosclerosis. – 2004. – V. 174. – P. 43-48.
- 14 Kurzawińska G. Genetic conditioned changes in activity of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and recurrent miscarriages / G. Kurzawińska, A. Seremak-Mrozikiewicz, K. Drews // Ginekol. Pol. – 2009. – V. 80 (10). – P. 762-767.
- 15 Mahmoodi B. K. Venous thromboembolism and predictive value of screening asymptomatic relatives of patients with hereditary deficiencies of protein S, protein C or antithrombin / B. K. Mahmoodi, J.-L. P. Brouwer, M. K. Ten Kate // J. Thromb. Haemost. – 2018. – V. 8 (6). – P. 1193-1200.
- 16 Martiskainen M. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke / M. Martiskainen, T. Pohjasvaara, J. Mikkelsen // Stroke. – 2020. – V. 34, №4. – P. 886-891.
- 17 Noori N. Are polymorphisms in MTRR A66G and MTHFR C677T genes associated with congenital heart diseases in Iranian population? / N. Noori, E. Miri-Moghaddam, A. Dejkam // Caspian J. Intern. Med. – 2017. – V. 8 (2). – P. 83-90.
- 18 Pishva S. R. Analysis of MTHFR and MTRR Gene Polymorphisms in Iranian Ventricular Septal Defect Subjects / S. R. Pishva, R. Vasudevan, A. Etemad // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14 (2). – P. 2739-2752.
- 19 Ramzi M. Coagulation factor VII gene polymorphisms and cardiovascular diseases in Iranian population / M. Ramzi, N. Cohan, M. Yavarian // J. Indian College of Cardiology. – 2013. – V. 3, №1. – P. 6-8.
- 20 Rosendaal F. R. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women / F. R. Rosendaal, D. S. Siscovick, S. M. Schwartz // Blood. – 2017. – V. 90, №5. – P. 1747-1750.
- 21 Semmler A. Homocysteine plasma levels in patients treated with antiepileptic drugs depend on folate and vitamin B12 serum levels, but not on genetic variants of homocysteine metabolism / A. Semmler, S. Moskau-Hartmann, B. Stoffel-

Wagner //Clin. Chem. Lab. Med. – 2013. – V. 51(3). – P. 665-669.

22 Szotowski B. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines /B. Szotowski, S. Antoniak, W. Poller //Cir. Res. – 2019. – V. 12. – P. 1233-1239.

23 Yu D. Association between methionine synthase reductase A66G polymorphism and the risk of congenital heart defects: evidence from eight case-control studies /D. Yu, L. Yang, S. Shen //Pediatr. Cardiol. – 2014. – V. 35 (7). – P. 1091-1098.

## ТРАНСЛИТЕРАЦИЯ

1 Andreenko E. Ju. Prognosticheskaja znachimost' nositel'stva allel'nyh variantov genov, kontrolirujushih sistemu gemostaza, i ih sochetanija s tradicionnymi faktorami riska v rannem razvitii ishemičeskoj bolezni serdca /E. Ju. Andreenko, L. M. Samohodskaja, A. V. Balackij //Kardio-vaskuljarnaja terapija i profilaktika. – 2011. – T. 10, №8. – S. 32-39.

2 Blinova E. A. Jetiologija i patogenez trombofilii /E. A. Blinova, I. V. Grebennikova //Mezhdunarodnyj studenčeskij nauchnyj vestnik. – 2016. – №4-2. – S.143-144.

3 Vasil'ev S. A. Trombozy i trombofilii: klassifikacija, diagnostika, lečenje, profilaktika / S. A. Vasil'ev, V. L. Vinogradov, A. N. Smirnov //RMZh. Medicinskoe obozrenie. – 2013. – T. 21, №17. – S. 896.

4 Vorob'ev A. I. Giperkoaguljacionnyj sindrom: klassifikacija, patogenez, diagnostika, terapija /A. I. Vorob'ev, S. A. Vasil'ev, V. M. Gorodeckij // Gematologija i transfuziologija. – 2016. – №3. – S.116-122.

5 Melikjan A. L. Kliničeskie rekomendacii po diagnostike i terapii Ph-negativnyh mieloproliferativnyh zabolevanij (istinnaja policitemija, jessencial'naja trombocitemija, pervičnyj mielofibrozy) /A. L. Melikjan, A. G. Turkina, K. M. Abdulkadyrov //Gematologija i transfuziologija. – 2014. – T. 59, №4. – S. 31-56.

6 Samojlenko V. V. Trombofilija: diagnostika i lečenje. Mesto i rol' laboratornoj diagnostiki //Mater. nauch.-prakt. konf. «Trombozy i trombofilii v praktike vracha-flebologa». – M., 2018. – C. 24-26.

7 Fetisova I. N. Polimorfizm genov folatnogo obmena i bolezni čeloveka /I. N. Fetisova, A. S. Dobroljubov, M. A. Lipin //Vestnik novyh medicinskih tehnologij. – 2007. – T. H, №1. – S. 71-74.

8 Filatova E. A. Nasledstvennaja gematogennaja trombofilija, manifestirujushaja tromboemboliej legočnoj arterii /E. A. Filatova, T. V. Esenina, K. M. Mishkurova //Amurskij med. žurnal. – 2018. – №1-2 (20-21). – S. 25-29.

9 Barbosa P. R. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene

polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women / P. R. Barbosa, S. P. Stabler, A. L. Machado //Eur. J. Clin. Nutr. – 2008. – V. 62 (8). – P. 1010-1021.

10 Butt C. Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A Leu34 alleles as a strong risk factor for myocardial infarction: evidence of a gene-gene interaction /C. Butt, H. Zheng, E. Randell //Blood. – 2021. – V. 102, №4. – P. 1558-1559.

11 Cai B. Genetic variant in MTRR, but not MTR, is associated with risk of congenital heart disease: an integrated meta-analysis /B. Cai, T. Zhang, R. Zhong //PLoS One. – 2014. – V. 9 (3). – e89609.

12 Duangnapasatit D. Clinical Manifestations and Risk Factors for Complications of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasms /D. Duangnapasatit, E. Rattarittamrong, T. Rattanathammethee //Asian Pac. J. Cancer. Prev. – 2015. – V.16 (12). – P. 5013-5018.

13 Feix A. Methionine synthase reductase MTRR 66A>G has no effect on total homocysteine, folate, and Vitamin B12 concentrations in renal transplant patients /A. Feix, W. C. Winkelmayer, C. Eberle // Atherosclerosis. – 2004. – V. 174. – P. 43-48.

14 Kurzawińska G. Genetic conditioned changes in activity of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and recurrent miscarriages /G. Kurzawińska, A. Seremak-Mrozikiewicz, K. Drews // Ginekol. Pol. – 2009. – V. 80 (10). – P. 762-767.

15 Mahmoodi B. K. Venous thromboembolism and predictive value of screening asymptomatic relatives of patients with hereditary deficiencies of protein S, protein C or antithrombin /B. K. Mahmoodi, J-L. P. Brouwer, M. K. Ten Kate //J. Thromb. Haemost. – 2018. – V. 8 (6). – P. 1193-1200.

16 Martiskainen M. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke /M. Martiskainen, T. Pohjasvaara, J. Mikkelsen // Stroke. – 2020. – V. 34, №4. – P. 886-891.

17 Noori N. Are polymorphisms in MTRR A66G and MTHFR C677T genes associated with congenital heart diseases in Iranian population? /N. Noori, E. Miri-Moghaddam, A. Dejkam //Caspian J. Intern. Med. – 2017. – V. 8 (2). – P. 83-90.

18 Pishva S. R. Analysis of MTHFR and MTRR Gene Polymorphisms in Iranian Ventricular Septal Defect Subjects /S. R. Pishva, R. Vasudevan, A. Etemad //Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14 (2). – P. 2739-2752.

19 Ramzi M. Coagulation factor VII gene polymorphisms and cardiovascular diseases in Iranian population /M. Ramzi, N. Cohan, M. Yavarian //J. Indian College of Cardiology. – 2013. – V. 3, №1. – P. 6-8.

20 Rosendaal F. R. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial

infarction in young women /F. R. Rosendaal, D. S. Siscovick, S. M. Schwartz //Blood. – 2017. – V. 90, №5. – P. 1747-1750.

21 Semmler A. Homocysteine plasma levels in patients treated with antiepileptic drugs depend on folate and vitamin B12 serum levels, but not on genetic variants of homocysteine metabolism /A. Semmler, S. Moskau-Hartmann, B. Stoffel-Wagner //Clin. Chem. Lab. Med. – 2013. – V. 51(3). – P. 665-669.

22 Szotowski B. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response

to inflammatory cytokines /B. Szotowski, S. Antoniak, W. Poller //Cir. Res. – 2019. – V. 12. – P. 1233-1239.

23 Yu D. Association between methionine synthase reductase A66G polymorphism and the risk of congenital heart defects: evidence from eight case-control studies /D. Yu, L. Yang, S. Shen //Pediatr. Cardiol. – 2014. – V. 35 (7). – P. 1091-1098.

Поступила 19.04.2024.

Направлена на доработку 06.05.2024

Принята 06.06.2024.

Опубликована online 30.06.2024

I. V. Berger<sup>1</sup>, Yu. Yu. Assesorova<sup>1</sup>, A. D. Makhmudova<sup>1</sup>

### **ANALYSIS OF THE CONTRIBUTION OF POLYMORPHISMS OF HEMOSTASIS SYSTEM GENES AND FOLATE CYCLE GENES TO THE GENETIC PREDISPOSITION TO THE DEVELOPMENT OF THROMBOSIS IN PATIENTS WITH Ph-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIA IN THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN**

<sup>1</sup>Republican specialized scientific and practical medical center of hematology of the Republic of Uzbekistan (Republic of Uzbekistan, Tashkent city, Chilanzar district, Arnasai str., 16/1A; e-mail: rigiatm@exat.uz)

---

**\*Inna Viktorovna Berger** – Doctor of Philosophy, Deputy Chief Physician, Hematologist; Republican specialized scientific and practical medical center of hematology; Uzbekistan, Tashkent, Chilanzar district, Arnasai Street, 16/1A; e-mail: innaberger@mail.ru

---

Thrombotic complications often complicate the course of the underlying disease in patients with chronic myeloproliferative neoplasia. However, a thromboembolic condition is not observed in all patients. The aim of the study was to assess the carriage frequency of polymorphic genes of the blood coagulation system and folate metabolism genes and the contribution of genetic variants to the development of thrombosis in patients with chronic Ph-negative myeloproliferative neoplasia (CMPN).

**Materials and methods.** Molecular genetic testing for the presence of genetic variants with an assessment of their frequency of occurrence and allelic load was carried out in 142 patients with CMPN. We studied polymorphisms of the folate cycle genes – A2756G (Asp919Gly) of the MTR gene, C677T (Ala22Val) of the MTHFR gene, A66G (Ile22Met) of the MTRR gene (rs1801394), as well as mutations of the genes of blood coagulation factors – G(455)A of the FGB gene, G20210A of the F2 gene, G10976A (Arg353Gln) of the F7 gene, G1691A (Arg506Gln) of the F5 gene. The study was carried out using real-time polymerase chain reaction (PCR); The biological material for the test was whole blood.

**Results and discussion.** The study showed that only 6 out of 50 (12%) patients with thrombotic complications had no changes in the genes studied, while 88% of patients had one or another genotypic variant, which may indicate a high probability of involvement of a hereditary genetic factor in the development of hypercoagulability and thrombotic complications in patients with chronic MPN.

**Conclusions.** A comprehensive study of the role, interaction and operating conditions of genes that control blood coagulation processes in patients with Ph-negative chronic MPN will make it possible to understand the causes of hemostatic system disorders and develop effective measures to prevent thrombotic complications in this category of patients.

**Key words:** thrombosis; genetic polymorphisms; hemostasis genes; folate cycle genes; myeloproliferative neoplasia

И. В. Бергер<sup>1\*</sup>, Ю. Ю. Ассесорова<sup>1</sup>, А. Д. Махмудова<sup>1</sup>

### ЎЗБЕКСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА РН-ТЕРИС МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВТИ НЕОПЛАЗИЯСЫ БАР ЕМДЕЛУШІЛЕРДЕ ТРОМБОЗДЫҢ ДАМУЫНА ГЕНЕТИКАЛЫҚ БЕЙІМДІЛІККЕ ГЕМОСТАЗ ЖҮЙЕСІ ГЕНДЕРІНІҢ ЖӘНЕ ФОЛИЙ ЦИКЛІ ГЕНДЕРІНІҢ ПОЛИМОРФИЗМДЕРІНІҢ ҮЛЕСІН ТАЛДАУ

<sup>1</sup>Ўзбекистон Республикасының Республикалық мамандандырылған ғылыми-практикалық гематология медициналық орталығы (Ўзбекистон Республикасы, Ташкент қ., Чиланзар ауданы, Арнасай көшесі, 16/1А; e-mail: rigiatm@exat.uz)

**\*Инна Викторовна Бергер** – Р hD, аға ғылыми қызметкер, республикалық мамандандырылған ғылыми-практикалық медициналық гематология орталығының бас дәрігерінің орынбасары; Ўзбекистон Республикасы, Ташкент қаласы, Чиланзар ауданы, Арнасай көшесі, 16/1А; e-mail: innaberger@mail.ru

Тромбоздық асқынулар көбінесе созылмалы миелопролиферативті неоплазиясы бар науқастарда негізгі аурудың ағымын қиындатады. Алайда, тромбоэмболиялық жағдай барлық науқастарда байқалмайды. Зерттеудің мақсаты қан ұю жүйесінің полиморфты гендерінің тасымалдау жиілігін және фолий алмасуының гендерін және созылмалы РН теріс миелопролиферативті неоплазиясы (СМРН) бар науқастарда тромбоздың дамуына генетикалық нұсқалардың үлесін бағалау болды.

*Материалдар мен әдістер.* СМРН бар 142 пациентте олардың пайда болу жиілігін және аллельдік жүктемені бағалай отырып, генетикалық нұсқаларға молекулалық-генетикалық тестілеу жүргізілді. МТR генінің – А2756g (Asp919Gly), МТНFR генінің С677Т (Ala22Val), МТRR генінің (Rs1801394) А66G (Ile22Met) гендерінің полиморфизмдері, сондай – ақ FGB генінің – G(455)A генінің коагуляция факторларының гендік мутациялары, F2 генінің G20210A, F7 генінің g10976a (arg353gln), G1691A (Arg506gln) F5 гені. Зерттеу нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакция (ПТР) әдісімен жүргізілді; сынақтың биологиялық материалы тұтас қан болды.

*Нәтижелер және талқылау.* Зерттеу тромбоздық асқынулары бар 50 пациенттің тек 6-сында (12%) зерттелетін гендерде өзгерістер болмағанын көрсетті, ал пациенттердің 88% - бір немесе басқа генотиптік нұсқа табылды, бұл СМРН науқастарында гиперкоагуляция мен тромбоздық асқынулардың дамуына тұқым қуалайтын генетикалық фактордың қатысуының жоғары ықтималдығын көрсетуі мүмкін.

*Қорытындылар.* РН-теріс ХМРН бар науқастарда қанның ұю процестерін бақылайтын гендердің рөлін, өзара әрекеттесуін және жұмыс істеу жағдайларын жан-жақты зерттеу гемостаз жүйесінің бұзылуының себептерін түсінуге және пациенттердің осы санатындағы тромбоздық асқынулардың алдын алу бойынша тиімді шараларды әзірлеуге мүмкіндік береді.

*Кілт сөздер:* тромбоздар; генетикалық полиморфизмдер; гемостаз гендері; фолий циклінің гендері; миелопролиферативті неоплазиялар