

Ш.Э. САДИКОВА, Х.Я. КАРИМОВ,  
Ш.М. МУМИНОВ, Р.П. ТУЛАКОВ, К.Т. БОБОЕВ  
Научно-исследовательский институт гематологии и переливания  
крови, МЗ Республики Узбекистан, Ташкент  
E-mail: abdukadir\_babaev@mail.ru

## ЧАСТОТА МУТАЦИЙ ГЕНОВ «ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ» В УЗБЕКИСТАНЕ



*У больных с тромбозом глубоких вен нижних конечностей (ТГВНК) и у здоровых доноров узбекской национальности исследована частота встречаемости мутации ряда генетических маркеров – гена фактора V (G1691A), гена фактора II свертывания крови (G20210A) и гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР) (С677Т). Установлено, что распространенность мутантных аллелей среди больных в Узбекистане составляет для FV Leiden – 12,9 %, протромбина – 4 %, МТГФР – 47,8 %. Самая высокая экспрессивность в возникновении ТГВНК у больных имеет мутантный аллель С677Т гена МТГФР (47,8 %). Отмечено, что у женщин с ТГВНК указанная мутация гена МТГФР встречается значительно чаще, чем у мужчин. В узбекской популяции мутация G20210A гена протромбина встречается реже. Изучены пенетрантности и оценена роль упомянутых мутаций в возникновении тромбоза глубоких вен нижних конечностей.*

© Ш.Э. САДИКОВА, Х.Я. КАРИМОВ, Ш.М. МУМИНОВ,  
Р.П. ТУЛАКОВ, К.Т. БОБОЕВ, 2008

**Введение.** Тромбоз глубоких вен нижних конечностей (ТГВНК) и связанная с ним тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) представляет серьезную проблему современного здравоохранения. По данным Dahlback [1] ежегодная частота возникновения ТГВ составляет 100 на 100 000 населения, тромбоэмболические осложнения занимают третье место среди сердечно-сосудистых заболеваний после ишемической болезни сердца и ишемического инсульта, а смертность от ТЭЛА бывает у 1 из 1000 живущих людей в год. Частота встречаемости венозных тромбозов различной локализации и тромбоэмболии в промышленно развитых странах (Западная Европа и США) более высокая по сравнению с развивающимися странами (1 : 1000 в год) и является основной причиной смерти и инвалидизации больных. В последние годы среди многочисленных факторов риска, предрасполагающих к развитию тромбозов, генетические факторы являются предметом интенсивного изучения. Проведенные исследования [2–4] показали, что наиболее часто встречающимися наследственными факторами тромбофилии в изученных популяциях мира являются мутация в гене фактора V свертывания крови (FV Leiden), определяющего резистентность к активированному протеину С, мутация в гене протромбина, кодирующего аномальную молекулу протромбина, мутация в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), обуславливающей развитие гипергомоцистеинемии.

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение частоты носительства мутантных аллелей G1691A, G20210A, C677T генов фактора V, протромбина и МТГФР соответственно в узбекской популяции и оценка степени проявления этих генетических признаков среди больных ТГВНК.

**Материалы и методы.** Исследовали 39 больных с тромбозом глубоких вен нижних конечностей и 47 здоровых доноров, постоянно проживающих в различных регионах республики. Образцы крови больных были предоставлены отделением сосудистой хирургии РНЦ экстренной медицинской помощи МЗ Республики Узбекистан.

ДНК выделяли из 0,2 мл периферической крови после селективного лизиса клеток крови по стандартной методике, включающей обработку додецилсульфатом натрия (0,5–1 %) в

присутствии протеиназы К (100–200 мкг/мл) и фенольную экстракцию.

Молекулярно-генетический анализ ДНК выполняли методом ПЦР в приборе фирмы «Applied Biosystems» (США).

Для тестирования лейденской мутации G1691A (замена G на A в положении 1691) в гене фактора V, G20210A (замена G на A в положении 20210) в гене протромбина и C677T (замена C на T в положении 677) в гене МТГФР были использованы известные протоколы ПЦР-анализа с соответствующими праймерами [5–7]. Рестрикцию амплифицированных фрагментов ДНК проводили соответствующими эндонуклеазами MnlI, TaqI и HinfI по прописям фирмы-изготовителя «Ферментас» (Литва).

Электрофоретическое разделение продуктов амплифицированных фрагментов ДНК осуществляли в 2–3%-ном агарозном геле и 7%-ном полиакриламидном геле.

**Результаты исследования.** Полученные результаты распределения частот встречаемости исследованных мутаций у больных с ТГВНК и здоровых доноров (контрольная группа) представлены в табл. 1 и 2.

В группе больных (табл. 1 и рисунок) установлено, что мутация FV Leiden является существенным фактором риска развития ТГВНК, которая обнаружена у 5 (4 – гетерозиготная и 1 – гомозиготная форма) из 39 обследованных пациентов. Частота встречаемости указанной мутации в Узбекистане составила 12,9 % (10,3 % – гетерозиготная и 2,6 % – гомозиготная форма) без четкого преобладания среди мужчин и женщин.

Более редким был вариант мутации G20210A в гене протромбина (табл. 1 и рисунок) и обнаружена она у 1 из 25 пациентов с ТГВНК – 4 % (гетерозиготная форма). Такая мутация обнаружена у женщины с диагнозом тромбоз глубоких вен нижних конечностей (в анамнезе отмечали перенесенный тромбофлебит), которая была оперирована по этому поводу.

Наиболее часто выявляемой оказалась мутация C677T гена МТГФР (табл. 1 и рисунок). Так, из обследованных 39 больных указанная мутация идентифицирована у 19 пациентов (16 – гетерозиготная и 3 – гомозиготная форма). Частота мутации для популяции составила

Таблица 1

Частоты генотипов ФV, протромбина и МТГФР у больных с ТГВНК

Генотип	n*	%
G1691(FV Leiden)		
+/-	4	10,3
+/+	1	2,6
-/-	34	87,1
Всего	39	100
G20210A (протомбин)		
+/-	1	4
+/+	–	–
-/-	24	96
Всего	25	10
C677T (МТГФР)		
+/-	16	41
+/+	3	7,7
-/-	20	51,3
Всего	39	100

\* Число обследованных больных.

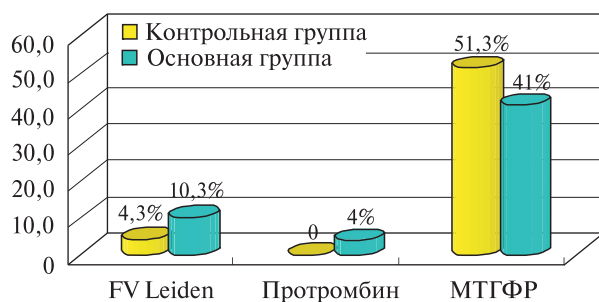
Таблица 2

Частоты генотипов ФV, протромбина, МТГФР в контрольной группе здоровых доноров

Генотип	n*	%
G1691(FV Leiden)		
+/-	2	4,3
+/+	–	–
-/-	45	95,7
Всего	47	100
G20210A (протомбин)		
+/-	–	–
+/+	–	–
-/-	33	100
Всего	33	100
C677T (МТГФР)		
+/-	20	51,3
+/+	2	5,1
-/-	17	43,6
Всего	39	100

\* Число обследованных здоровых доноров.

48,7 % (41 % – гетерозиготная и 7,7 % – гомозиготная форма). Отмечено, что у женщин, страдающих ТГВНК, распространенность исследуемой мутации C677T гена МТГФР была значительно чаще, чем у мужчин (64,3 и 36,4 % соответственно).



Частота генотипов (по вертикали, %) FV Leiden, протромбина и МТГФР у больных и в контрольной группе

Следует подчеркнуть, что у одного больного с диагнозом ТГВНК в генотипе были выявлены мутантные аллели двух генов («ассоциация дефектных генов») — гомозиготность по мутации FV Leiden и гетерозиготность по С677Т гена МТГФР, а еще у двух в генотипе идентифицирована гетерозиготная мутация по этим же генам. У этих носителей мутантных генов были отмечены частые осложнения в виде тромбозов поверхностных и глубоких вен и множественные венозные и артериальные тромбозы. Полученные результаты исследований доказывают, что гомозиготная мутация FV Leiden сопряжена с повышенным риском первичных и рецидивирующих венозных тромбозов, тромбозов вен и тромбоэмболии легочной артерии при наличии провоцирующих факторов [3].

При изучении частоты мутантных аллелей исследуемых ДНК-маркеров условно здоровых доноров (табл. 2 и рисунок) у двоих из 47 обследованных пациентов была обнаружена гетерозиготная мутация FV Leiden (4,3 %). Мутация G20210A гена протромбина среди 33 обследованных не было обнаружена ни у одного пациента.

Распространенность исследуемой мутации С677Т гена МТГФР среди групп здоровых пациентов сильно варьирует в сравнении с мутациями в генах факторов FV и протромбина. Частота гетерозиготных и гомозиготных (суммарно) случаев указанных мутаций в контрольной группе составляла 56,4 %.

**Обсуждение полученных данных.** В исследованной европейской популяции у лиц с частыми тромбозами различного происхождения мутация FV Leiden встречается в 52 % случаев,

у больных с первичным тромбозом глубоких вен — в 20 %, а среди здорового населения — в 3–7 %. Распространенность в США составляет 4–6 % [3].

В изученной нами узбекской популяции частота мутации среди больных с ТГВНК оказалась ниже (12,9 %), чем в европейской и американской популяциях, а среди здорового населения полученные данные практически совпадают (4,3 %). В нашем исследовании у лиц с ТГВНК также достоверно ассоциируется с мутацией FV Leiden. Наличие такой корреляции между генотипом, характерным для тромбофилии, и фенотипическими проявлениями болезни можно считать доказательством важной роли наследственной тромбофилии в патогенезе ТГВНК.

По данным авторов [11, 12], скрининговое обследование для выявления лейденской мутации фактора V может оказаться клинически важным при наличии тромбофилии в семейном или индивидуальном анамнезе. В этой группе особенно важно иметь информацию о гомозиготном носительстве мутации гена FV Leiden.

При биохимическом обследовании некоторых родственников больных с ТГВНК, имеющих в генотипе мутацию FV Leiden, также были выявлены нарушения в системе гемостаза типа предрасполагающих к гиперкоагуляции. Эти данные совпадают с литературными.

Мутация с заменой G20210A гена протромбина у больных с тромбозами встречалась с очень низкой частотой (4 %), а в контрольной группе совсем отсутствовала, что свидетельствует о необходимости продолжения исследований в этом направлении. Кроме того, поиск новых мажорных мутаций в указанном гене также остается актуальным.

Повышенный уровень гомоцистеина в плазме вследствие мутации гена МТГФР в большинстве случаев может быть причиной риска развития болезни сердечно-сосудистой системы, акушерской патологии, а также причиной рождения детей с врожденными аномалиями [1, 2]. Интересно отметить, что в наших исследованиях тоже в большинстве случаев ассоциируемым генетическим маркером ТГВНК оказалась мутация гена МТГФР. Однако необходимо подчеркнуть (рисунок), что у больных

частота мутации С677Т гена МТГФР была не больше, а даже несколько меньше, чем у лиц, не имевших этой патологии (соответственно 48,7 и 56,4 %).

По-видимому, роль носительства полиморфизма С677Т в гене МТГФР как независимого фактора риска тромбообразования представляется спорной. Эти противоречия диктуют необходимость дальнейшего изучения данной проблемы, так как в настоящее время такие исследования очень малочисленны. Но следует также подчеркнуть, что при сборе анамнеза в этой группе у большинства обследованных пациентов и некоторых членов их семей установлено варикозное расширение вен нижних конечностей, тромбофлебиты, эпизоды инфаркта миокарда и ишемического инсульта, а женщины чаще имели выкидыши либо осложненную гестозом беременность.

Таким образом, выявленные нами генетические изменения среди большинства обследованных больных с ТГВНК свидетельствуют о необходимости продолжения исследований в этом направлении, так как получение доказательств роли наследственной тромбофилии будет способствовать разработке научно обоснованного алгоритма диагностики и стратегии комплексного лечения тромбозов с учетом генетических и провоцирующих факторов риска.

**Выводы.** Распространенность мутантных аллелей среди больных ТГВНК в Узбекистане составляет: для FV Leiden – 12,9 %, протромбина – 4 % без четкого преобладания среди мужчин и женщин, МТГФР – 47,8 %. Отмечено, что мутация гена МТГФР у женщин (64,3 %) встречается значительно чаще, чем у мужчин (36,4 %).

Выявленная в настоящей работе ассоциация мутации МТГФР и FV Leiden с первичным ТГВНК в узбекской популяции является показанием для расширения идентификации тромбофилических маркеров при различных видах тромбозов. Наличие двух признаков врожденной тромбофилии, т.е. сочетание двух дефектных генов у одного больного – так называемая «ассоциация дефектных генов» у больных с ТГВНК, свидетельствует о тяжести дефекта в системе гемостаза и требует постоянного наблюдения и дезагрегантной терапии.

*Sh.E. Sadikova, Kh.Ya. Karimov,  
Sh.M. Muminov, R.P. Tulakov, K.T. Boboev*

MUTATION FREQUENCIES OF THE  
«THROMBOPHILIC STATE» GENES  
IN UZBEKISTAN

The prevalence of mutations of the genes of the coagulation factor V (G1691A), the coagulation factor II (G20210A), and of MTHFR (C677T) was investigated in patients with deep vein thrombosis of lower extremities (DVT) and healthy people of Uzbek nationality. The following prevalence of the mutant alleles among patients in Uzbekistan was revealed: for factor V Leiden – 12,9 %, prothrombin – 4 %, MTHFR – 47,8 %. The mutant allele of C677T gene (47,8 %) was highly expressed in patients with DVT. It was revealed that the mutation of MTHFR gene was more common among female patients with DVT than in male patients with DVT. In Uzbek population the mutation G20210A of the prothrombin gene was detected rarely than the mutations of MTHFR and factor Leiden. The penetrance and the role of these mutations in the development of the thrombosis of deep veins were studied.

*Ш.Е. Садикова, Х.Я. Каримов, Ш.М. Муминов,  
Р.П. Туликов, К.Т. Бобоев*

ЧАСТОТА МУТАЦИЙ ГЕНІВ  
«ТРОМБОФІЛІЧНИХ СТАНІВ»  
В УЗБЕКІСТАНІ

У хворих тромбозом глибоких вен нижніх кінцівок (ТГВНК) та у здорових донорів узбецької національності досліджено частоту зустрічальності мутації ряду генетичних маркерів – гена фактора V (G1691A), гена фактора II згортання крові (G20210A) та гена метилентетрагідрофолатредуктази (МТГФР) (С677Т). Встановлено, що розповсюдженість мутантних алелів серед хворих в Узбекистані складає: для FV Leiden – 12,9 %, протромбіна – 4 %, МТГФР – 47,8 %. Найвища експресивність в виникненні ТГВНК у хворих має мутантний алель – С677Т гена МТГФР (47,8 %). Зазначено, що в жінок з ТГВНК вказана мутація гена МТГФР зустрічається значно частіше, ніж у чоловіків. В узбецькій популяції мутація G20210A гена протромбіна зустрічається рідше. Вивчено пенетрантність і оцінено роль вказаних мутацій у виникненні тромбоза глибоких вен нижніх кінцівок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Dahlback B.* Factor V gene mutation causing inherited resistance to activated protein C as a basis for venous thromboerabolism // *J. Int. Med.* – 1995. – 237. – P. 221–227.
2. *Баймурадова С.М.* Патогенез: принципи діагностики, профілактики і терапії синдрому втрати плода, обумовленого придобаними і генетичес-

- кими дефектами гемостаза : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2007.
3. Куликов В.П., Черникова И.В., Костюченко Г.И. Особенности атеросклеротического поражения сонных артерий в зависимости от концентрации в крови гомоцистеина и С-реактивного белка // Бюл. — СО РАМН. — 2006. — № 2 (120). — С. 93–99.
  4. Прайс Д.Т., Ридкер П.М. Лейденская мутация у фактора свертывания крови и риск тромбозной болезни: клинические аспекты // Ann. Intern. Med. — 1997. — **127**. — P. 895–903.
  5. Bertina R.M., Koeleman B.P., Koster T. et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C // Nature. — 1994. — **369**. — P. 64–67.
  6. Feero W.G. Genetic thrombophilia // Primary Care. — 2004. — **31**. — P. 685–709.
  7. Frosst P., Blom H.J., Milos R. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // Nat. Genet. — 1995. — **10**. — P. 111–113.
  8. Jebeleanu G.H. et al. G20210A prothrombin gene mutation identified in patients with venous leg ulcers // J. Cell. Mol. Med. — 2001. — **5**, № 4. — P. 397–440.
  9. Kowa H., Yasui K., Takeshima T. et al. The homozygous C 677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine // Amer. J. Med. Genet. — 2000. — № 96 (6). — P. 762–764.
  10. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H., Bertina R.M. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // Blood. — 1996. — **88**, № 10. — P. 3698–3703.
  11. Price D.T., Ridker P.M. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective // Ann. Intern. Med. — 1997. — **127**. — P. 895–903.
  12. Rosendaal F.R. Venous thrombosis, a multicausal disease // Lancet. — 1999. — **353**. — P. 1167–1173.
  13. Khan S., Dickerman J.D. Hereditary thrombophilia // Thromb. J. — 2006. — **4**, № 15. — P. 1–17.

Поступила 05.09.07