



СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ TGF- β 1 И MTHFR С РАЗВИТИЕМ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ И ЕЁ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

¹Яриев А.А., ²Бобоев К.Т., ²Мохаммад Дин А.

¹Сырдаринский филиал Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи, Министерства здравоохранения республики Узбекистан,

²Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии, Ташкент, Министерства здравоохранения республики Узбекистан

✓ Резюме

В данной статье приводятся результаты изучения роли полиморфизмов гена TGF- β 1 и гена MTHFR в развитии варикозной болезни нижних конечностей и ее осложнений.

Целью исследования явилось выявление ассоциации TGF- β 1 и MTHFR генов с развитием ВБНК и её тромботических осложнений.

Материалы и методы. В исследовании были задействовано 316 человек, из которых 161 были включены в основную и 155 в контрольную группы.

Результаты. Гетерозиготный генотип G/C гена TGF- β 1 значимо чаще выявляли среди пациентов с венозным тромбозом, что почти четырёхкратно повышало риск развития заболевания в группе пациентов с венозным тромбозом ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=3.9; 95%CI:1.64-8.98). ($p < 0.05$). Доля мутантного гомозиготного генотипа T/T гена MTHFR также значимо преобладала в группе пациентов с венозным тромбозом ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=3.1; 95%CI:1.11-8.49).

Выводы. Наличие гетерозиготного генотипа G/C гена TGF- β 1 и гомозиготный генотип T/T гена MTHFR имеет диагностическую и прогностическую значимость и повышает риск развития ВБНК, осложнённой венозными тромбозами.

Ключевые слова: ген TGF- β 1, полиморфизм rs1800471, ген MTHFR, rs1801133, ВБНК, тромботические осложнения, венозный тромбоз.

ASSOCIATION OF TGF- β 1 AND MTHFR POLYMORPHISMS WITH VARICOSE VEIN DISEASE AND ITS THROMBOTIC COMPLICATIONS

A.A.Yariyev¹, K.T. Boboev², ²Mohammad Din A.

¹Republican Research Center of Emergency Medicine, Syrdarya Branch Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan

²Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Hematology Tashkent, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan

✓ Resume

This article presents the results of studying the role of TGF- β 1 gene polymorphism and MTHFR gene polymorphism in the development of lower extremity varicose veins and its complications.

The aim of the study was to identify the association of TGF- β 1 and MTHFR genes with the development of varicose veins and its thrombotic complications.

Materials and methods. The study involved 316 people, of which 161 were included in the main and 155 in the control group.

Results. The heterozygous G/C genotype of the TGF- β 1 gene was significantly more often detected among patients with venous thrombosis, which almost fourfold increased the risk of developing the disease in the group of patients with venous thrombosis ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=3.9; 95% CI: 1.64- 8.98). ($p < 0.05$). The proportion of the mutant homozygous T/T genotype of the MTHFR gene also significantly predominated in the group of patients with venous thrombosis ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=3.1; 95% CI: 1.11-8.49).



Conclusions. *The presence of the heterozygous G/C genotype of the TGF- β 1 gene and the homozygous T/T genotype of the MTHFR gene has diagnostic and prognostic significance and increases the risk of developing VLVD complicated by venous thrombosis.*

Keywords: *TGF- β 1 gene, rs1800471 polymorphism, MTHFR gene, rs1801133, LVH, thrombotic complications, venous thrombosis.*

TGF-A1 VA MTHFR GENI POLIMORFIZMINING VARİKOS KASALLIKI VA UNING TROMBOTIK ASORATLARINING RIVOJLANISHI BILAN ALOQASI

¹Yariev A.A., ²Boboev K.T., ²Muhammad Dekan A.

¹O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi Respublika shoshilinch tibbiy yordam ilmiy markazi Sirdarin filiali,

²Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi, Toshkent sh., O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi

✓ Rezyume

Ushbu maqolada TGF-b1 geni va MTHFR geni polimorfizmlarining pastki ekstremitalarning varikoz kengayishi va uning asoratlari rivojlanishidagi rolini o'rganish natijalari keltirilgan.

Tadqiqotning maqsadi TGF-b1 va MTHFR genlarining LVLV rivojlanishi va uning trombotik asoratlari bilan bog'liqligini aniqlash edi.

Materiallar va uslublar. Tadqiqotda 316 kishi ishtirok etdi, ulardan 161 nafari asosiy va 155 nafari nazorat guruhiga kiritilgan.

Natijalar. TGF-b1 genining heterozigot G/C genotipi venoz trombozi bo'lgan bemorlarda sezilarli darajada tez-tez aniqlangan, bu venoz trombozli bemorlar guruhida kasallikning rivojlanish xavfini deyarli to'rt baravar oshirgan ($\chi^2 > 3,84$; $p < 0,05$; OR=3,9; 95% CI: 1,64-8,98). ($p < 0,05$). MTHFR genining mutant homozigot T/T genotipining nisbati venoz trombozi bo'lgan bemorlar guruhida ham sezilarli darajada ustunlik qildi ($\chi^2 > 3,84$; $p < 0,05$; OR=3,1; 95% CI: 1,11-8,49).

Xulosa. TGF-b1 genining heterozigotli G/C genotipi va MTHFR genining gomozigotali T/T genotipining mavjudligi diagnostik va prognostik ahamiyatga ega va venoz tromboz bilan asoratlangan VLVD rivojlanish xavfini oshiradi.

Kalit so'zlar: TGF-b1 geni, rs1800471 polimorfizmi, MTHFR geni, rs1801133, LVH, trombotik asoratlar, venoz tromboz.

Актуальность

Наиболее часто встречаемым осложнением хронической венозной болезни является варикозное расширение вен. Тромбоз глубоких вен - это венозное тромбоэмболическое расстройство, затрагивающее 40% участков дистальных вен, 16% поплитальных, 20% бедренных, 20% общих бедренных и 4% подвздошных вен [1]. К тромбозу глубоких вен приводят такие факторы риска как возраст, женский пол, беременность, ожирение. По данным некоторых исследований, у пациентов с ВБНК риск развития тромбоза глубоких вен повышается в 5 раз [2]. Кроме того, выясняется также связь варикозного расширения вен с периферическими заболеваниями артерии и дополнительными заболеваниями сосудов [3].

Ген MTHFR картирован на хромосоме 1 на конце короткого плеча (1p36.6). Мутация гена MTHFR, которая вызывает полиморфизм rs1801133, расположена в экзоне 4, что приводит к превращению валина в аланин в кодоне 222, что является обычным полиморфизмом, который снижает активность данного фермента [5]. В исследованиях некоторых авторов мутация MTHFR rs1801133 была связана с появлением тромбозом глубоких вен, а генотип T/T является генетическим фактором риска тромбоза глубоких вен [6].

Ген трансформирующего ростового фактора бета-1 TGF- β 1, расположенный на 19-й хромосоме и содержащий 7 экзонов и значительное количество интронов отвечает за продукцию трансформирующего фактора роста, представляющего собой это высокосложный полипептид с многофункциональными свойствами, играющий важную роль в регуляции клеточной функции, таких как апоптоз, пролиферация, дифференцировка и миграцию, а также в процессе эмбрионального развития, в физиологии органов взрослых и в патофизиологии основных заболеваний, включая рак и различные аутоиммунные, фибротические и сердечно-сосудистые заболевания [4]. Однако молекулярно-генетический аспект венозной патофизиологии относительно

плохо изучен. В связи с недостаточностью данных о влиянии полиморфизмов генов MTHFR и TGF- β 1 на клиническое течение и возникновение осложнений при ВБНК нижних конечностей, в нашем исследовании мы решили исследовать их значение в развитии ВБНК и её осложнение венозными тромбозами).

Цель исследования. Выявление ассоциации полиморфизмов генов MTHFR и TGF- β 1 с развитием ВБНК и её тромботических осложнений.

Материал и методы

В исследовании были включены. Всего в исследовании было задействовано 316 субъектов. Нами был обследован 161 пациент с ВБНК основной группы, которая была разделена следующие подгруппы:

1. 111 пациентов с ВБНК без тромботических осложнений,
2. 50 больных с ВБНК осложненной тромбозами.

В группу сравнения (контроля) были включены 155 условно-здоровых лиц.

Основной метод исследования – количественный ПЦР анализ в реальном времени (Real-time PCR). Забор крови для исследования производили в пробирки типа Vacutainer с EDTA. ДНК для проведения ПЦР исследования выделяли из лимфоцитов периферической крови обследуемых с использованием набора «АмплиПрайм РИБО-преп» (ООО «Интерлабсервис», Россия). Амплификацию выделенного генома проводили при помощи Real-time термоциклера «Rotor Gene Q» (Quagen, Германия). Статистические расчеты проводили с использованием пакета прикладных программ «OpenEpi 2009, Version 9.3».

Результат и обсуждение

Проведенные исследования среди пациентов с ВБНК с тромботическими осложнениями показали, С-аллель преобладал среди больных с тромбозами, где частота его носительства составила – 13.0%, против 4.0%, среди условно-здоровых лиц в группе контроля ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; 95%CI:1.53-7.64, OR=3.4). Доли генотипов G/G, G/C, C/C полиморфизма rs1800471 в гене TGF- β 1 в группе пациентов с венозным тромбозом составили: 74.0%, 26.0% и 0.0% против 92.0%, 8.0% и 0.0% в контрольной группе.

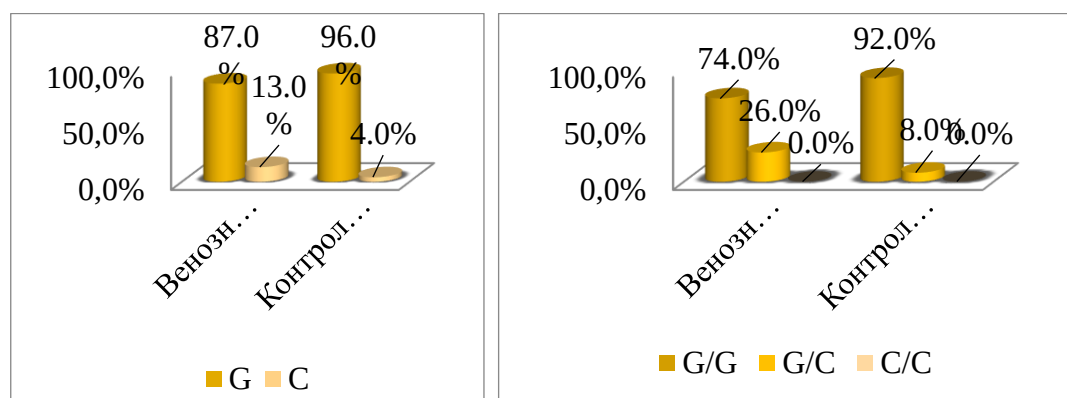


Рисунок 5. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 в гене TGF- β 1 в группе пациентов с ВБНК осложнённой венозными тромбозами и в контрольной группе

Таблица 3.

Ассоциативная связь между полиморфизмом rs1800471 в гене TGF- β 1 в группах пациентов с ВБНК осложнённой венозными тромбозами и в контрольной группе

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое значение			
		Odds ratio		χ^2	p-value
		OR	95% CI:		
Венозный тромбоз (n=50)	G	0.3	0.13–0.66	9.9	0.002*
	C	3.4	1.53–7.64		
	GG	0.3	0.11–0.61	10.6	0.001*
	GC	3.8	1.64–8.98		
	CC	-	-	-	-

Примечание: * - статистическая достоверность изменений по сравнению с группой контроля

Частота носительства дикого генотипа G/G составляла 74.0% в группе пациентов с венозным тромбозом, была статистически значимо меньше степени его обнаружения в контрольной группе, где его концентрация была равна 92.0% ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=0.3; 95%CI:0.11-0.61). Среди пациентов с ВБНК, осложнённой венозным тромбозом, гетерозиготный генотип G/C выявляли в 26.0% случаев, что указывало на его преобладание по отношению к контрольной группе, где его частота составила 8.0%, что значимо повышало риск развития заболевания в группе пациентов с тромботическими осложнениями ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=3.9; 95%CI:1.64-8.98). Мутантный генотип C/C не был выявлен как в группе пациентов с венозным тромбозом, так и в контрольной группе.

Таким образом, изучение частот распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 в гене TGF- β 1 в группе пациентов с ВБНК, осложнённой венозным тромбозом в сравнении с контрольной группой показало, что выявление гетерозиготного генотипа G/C практически значимо повышает риск развития заболевания.

В результате исследования частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1801133 в гене MTHFR на наличие различий в их распределении аллель T преобладала в группе пациентов с ВБНК и венозным тромбозом, его частота составила 36.3% против 22.3%, соответственно ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=2; 95%CI:1.40-2.83). Носительство гомозиготного мутантного генотипа T/T повышает риск развития ВБНК почти в 4 раза ($\chi^2 > 3.84$; $p < 0.05$; OR=3.8; 95%CI:1.83-8.08).

Таблица 1.

Ассоциативная связь между полиморфизмом rs1801133 в гене MTHFR в основной группе пациентов с ВБНК и в группе контроля

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие			
		Odds ratio		χ^2	p-value
		O	95% CI: R		
Основная группа (n=161)	C	0.5	0.35–0.71	15.1	0.0001*
	T	2.0	1.40–2.83		
	C/C	0.6	0.36–0.88	6.4	0.01*
	C/T	1.3	0.79–2.14	1.0	0.31
	T/T	3.8	1.83–8.08	13.7	0.0002*

*Примечание: * - статистически значимо (достоверно)*

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что частота полиморфизма rs1801133 в гене MTHFR среди пациентов с ВБНК и венозным тромбозом достаточно высока.

Обсуждение. В нашей работе мы исследовали молекулярно-генетические аспекты полиморфизмов генов TGF- β 1 и MTHFR среди пациентов с ВБНК и венозным тромбозом, чтобы определить частоту мутации данного гена в Узбекистане, так как по некоторым данным [7] распространенность этих генов зависит от географического распределения и этнической принадлежности во всем мире. В ряде исследований изучена и подтверждена связь гена TGF- β 1 в развитии ВБНК и ее осложнений. Т. Яacob и соавт. показали, что повышенная экспрессия TGF-бета 1 и наличие макрофагов, коррелирующих с перепроизводством iNOS были связаны с развитием ВБНК [9]. S. Lee и соавт., показали связь спектра генов путем применения микрочипов кДНК с ВБНК, при этом в данный спектр был включен и ген TGF- β 1 [10]. Повышенная экспрессия обнаружена также для гена его рецептора TGF- β RII (TGFB2), что поддерживает ее роль в патогенезе заболевания [11]. В турецкой и иранской популяциях распространенность данного гена составили 49,6% и 67,0%, соответственно [8, 12]. По результатам Li A. Et all. (2020) полиморфизм rs1801133 гена MTHFR был выражен у пациентов с атеросклерозом сонной артерии [13]. По данным авторов, генетические полиморфизмы rs1801133 и A1298C гена MTHFR были связаны с тромбозом венозного синуса головного мозга [14]. Кроме этого, эти локусы были связаны с повышенной восприимчивостью к развитию венозной тромбоэмболической болезни, которая включает тромбоз глубоких вен и легочную эмболию [15].

Заключение

Таким образом, результаты нашего исследования также подтвердили ассоциацию полиморфизмов rs1800471 гена TGF- β 1 и rs1801133 гена MTHFR в развитии ВБНК и ее осложнений и принимают активное участие в процессе ремоделирования стенок сосудов при ВБНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Stubbs MJ, Mouyis M, Thomas M. Deep vein thrombosis. // *BMJ*. 2018 Feb 22;360:k351. doi: 10.1136/bmj.k351. Erratum in: *BMJ*. 2018 Mar 21;360:k1335. PMID: 29472180.
2. Müller-Bühl U, Leutgeb R, Engeser P, Achankeng EN, Szecsenyi J, Laux G. Varicose veins are a risk factor for deep venous thrombosis in general practice patients. // *Vasa*. 2012 Sep;41(5):360-5. doi: 10.1024/0301-1526/a000222. PMID: 22915533
3. Chang SL, Huang YL, Lee MC, Hu S, Hsiao YC, Chang SW, Chang CJ, Chen PC. Association of Varicose Veins With Incident Venous Thromboembolism and Peripheral Artery Disease. // *JAMA*. 2018 Feb 27;319(8):807-817. doi: 10.1001/jama.2018.0246. PMID: 29486040; PMCID: PMC5838574
4. Weiss A., Attisano L. The TGFbeta superfamily signaling pathway. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2013 Jan-Feb;2(1):47-63. doi: 10.1002/wdev.86. Epub 2012 Oct 5. PMID: 23799630
5. Liew S.C., Gupta E.D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. // *Eur J Med Genet*. 2015 Jan;58(1):1-10. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.10.004. Epub 2014 Nov 4. PMID: 25449138.
6. Xu J., Li K., Zhou W. Relationship between genetic polymorphism of MTHFR C677T and lower extremities deep venous thrombosis. // *Hematology*. 2019 Dec;24(1):108-111. doi: 10.1080/10245332.2018.1526440. Epub 2018 Oct 10. PMID: 30303041.
7. Saeed A., Sumreen M., Kashif M.A. (2015) To determine the frequency of Factor V Leiden in cases of Deep Vein Thrombosis and Healthy controls. // *Pak J Med Sci* 31(5):1219
8. Dölek B., Eraslan S., Eroğlu S., Kesim B.E., Ulutin T., Yalçın A., Laleli Y.R., Gözükmızı N. (2007) Molecular analysis of factor V Leiden, factor V Hong Kong, factor II G20210A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T, and A1298C mutations related to Turkish thrombosis patients. // *Clin Appl Thromb/Hemost* 13(4):435–438
9. Jacob T., Hingorani A., Ascher E. Overexpression of transforming growth factor-beta1 correlates with increased synthesis of nitric oxide synthase in varicose veins. // *J Vasc Surg*. 2005 Mar;41(3):523-30. doi: 10.1016/j.jvs.2004.12.044. PMID: 15838489
10. Lee S, Lee W, Choe Y, Kim D, Na G, Im S, Kim J, Kim M, Kim J, Cho J. Gene expression profiles in varicose veins using complementary DNA microarray. // *Dermatol Surg*. 2005 Apr;31(4):391-5. doi: 10.1111/j.1524-4725.2005.31103. PMID: 15871312.
11. Kowalewski R., Malkowski A., Sobolewski K., Gacko M. Evaluation of transforming growth factor-beta signaling pathway in the wall of normal and varicose veins. // *Pathobiology*. 2010;77(1):1-6. doi: 10.1159/000272948. Epub 2010 Feb 25. PMID: 20185961
12. Ehsani M., Imani A., Moravveji A. Prevalence of factor V leiden, MTHFR C677T and MTHFR A1298C polymorphisms in patients with deep vein thrombosis in Central Iran. *Mol Biol Rep*. 2018 Aug;45(4):621-624. doi: 10.1007/s11033-018-4201-0. // Epub 2018 May 31. PMID: 29855758.
13. Li A., Huang W., Yang Q., Peng L., Liu Q. Expression of the C677T Polymorphism of the 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene in Patients with Carotid Artery Atherosclerosis. *Med Sci Monit*. 2020 Jul 17;26:e920320. doi: 10.12659/MSM.920320. PMID: 32675800; // PMCID: PMC7387044.
14. Gogu A.E., Jianu D.C., Dumitrascu V., Ples H., Stroe A.Z., Docu Axelerad D., Docu Axelerad A. MTHFR Gene Polymorphisms and Cardiovascular Risk Factors, Clinical-Imagistic Features and Outcome in Cerebral Venous Sinus Thrombosis. // *Brain Sci*. 2020 Dec 27;11(1):23. doi: 10.3390/brainsci11010023. PMID: 33375456; PMCID: PMC7824001.
15. Lupi-Herrera E., Soto-López M.E., Lugo-Dimas A.J., Núñez-Martínez M.E., Gamboa R., Huesca-Gómez C., Sierra-Galán L.M., Guarner-Lans V. Polymorphisms C677T and A1298C of MTHFR Gene: Homocysteine Levels and Prothrombotic Biomarkers in Coronary and Pulmonary Thromboembolic Disease. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2019 Jan-Dec;25:1076029618780344. doi: 10.1177/1076029618780344. // Epub 2018 Jun 19. PMID: 29916259; PMCID: PMC6714945.

Поступила 09.09.20202

