



## СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ TGF- $\beta$ 1 И MTHFR С РАЗВИТИЕМ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ И ЕЁ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

А.А. Яриев<sup>1</sup>, С.С. Худойбердиев<sup>1</sup>, К.Т. Бобоев<sup>2</sup>, А. Мохаммад Дин<sup>2</sup>, Б.И. Шукуров<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Сырдаринский филиал Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи, Гулистан, Узбекистан

<sup>2</sup>Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии, Ташкент, Узбекистан

<sup>3</sup>Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, Ташкент, Узбекистан

### ✓ Резюме

**Цель.** Выявление ассоциации TGF- $\beta$ 1 и MTHFR генов с развитием варикозной болезни нижних конечностей (ВБНК) и её тромботических осложнений.

**Материал и методы.** Обследованы 161 пациент с ВБНК (основная группа): 111 пациентов – без тромботических осложнений, 50 – с флеботромбозами. В контрольную группу были включены 155 условно-здоровые лица. Изучали частоту носительства генотипов G/G, G/C, C/C полиморфизма rs1800471 в гене TGF- $\beta$ 1 и генотипов C/C, C/T, T/T полиморфизма rs1801133 в гене MTHFR.

**Результаты.** Среди пациентов с венозным тромбозом частота носительства гетерозиготного генотипа G/C гена TGF- $\beta$ 1 и мутантного гомозиготного генотипа T/T гена MTHFR почти четырёхкратно превышало аналогичный показатель здоровых лиц ( $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; OR=3.9; 95%CI:1.64-8.98 и  $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; OR=3.1; 95%CI:1.11-8.49, соответственно).

**Выводы.** Наличие гетерозиготного генотипа G/C гена TGF- $\beta$ 1 и гомозиготного генотипа T/T гена MTHFR имеет диагностическую и прогностическую значимость и многократно повышает риск развития ВБНК и флеботромбозов.

**Ключевые слова:** ген TGF- $\beta$ 1, полиморфизм rs1800471, ген MTHFR, rs1801133, варикозная болезнь нижних конечностей, тромботические осложнения, венозный тромбоз.

## RELATIONSHIP OF TGF- $\beta$ 1 AND MTHFR GENE POLYMORPHISM WITH THE DEVELOPMENT OF VARICOSE DISEASE AND ITS THROMBOTIC COMPLICATIONS

A.A. Yariiev<sup>1</sup>, S.S. Khudoyberdiev<sup>1</sup>, K.T. Boboev<sup>2</sup>, A. Mohammad Din<sup>2</sup>, B.I. Shukurov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Syrdarya branch of the Republican Scientific Center for Emergency Medical Care, Gulistan, Uzbekistan

<sup>2</sup>Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Hematology, Tashkent, Uzbekistan

<sup>3</sup>Republican Scientific Center of Emergency Medical Care, Tashkent, Uzbekistan

### ✓ Resume

**Aim.** Identification the association of TGF- $\beta$ 1 and MTHFR genes with the development of lower extremity varicose disease and its thrombotic complications.

**Material and methods.** 161 patients with varicose disease (main group) were examined: 111 patients without thrombotic complications, 50 with phlebothrombosis. The control group included 155 conditionally healthy individuals. We studied the frequency of carriage of the G/G, G/C, C/C genotypes of the rs1800471 polymorphism in the TGF- $\beta$ 1 gene and the C/C, C/T, T/T genotypes of the rs1801133 polymorphism in the MTHFR gene.

**Results.** Among patients with venous thrombosis, the frequency of carriage of the heterozygous G/C genotype TGF- $\beta$ 1 gene and the mutant homozygous T/T genotype MTHFR gene was almost 4

times higher than in control group ( $\chi^2>3.84$ ;  $p<0.05$ ;  $OR=3.9$ ; 95%  $CI:1.64-8.98$  and  $\chi^2>3.84$ ;  $p<0.05$ ;  $OR=3.1$ ; 95% $CI: 1.11-8.49$ , respectively).

**Conclusions.** The presence of the heterozygous G/C genotype of the TGF- $\beta$ 1 gene and the homozygous T/T genotype of the MTHFR gene has diagnostic and prognostic significance and greatly increases the risk of developing varicose disease and phlebothrombosis.

**Keywords:** TGF- $\beta$ 1 gene, rs1800471 polymorphism, MTHFR gene, rs1801133, varicose disease, thrombotic complications, venous thrombosis.

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

A.A. Yariyev<sup>1</sup>, S.S. Xudoyberdiyev<sup>1</sup>, K.T. Boboev<sup>2</sup>, A. Muhammad Din<sup>2</sup>, B.I. Shukurov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Respublika shoshilinch tibbiy yordam ilmiy markazi Sirdarin filiali, Guliston, O‘zbekiston

<sup>2</sup>Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi, Toshkent, O‘zbekiston

<sup>3</sup>Respublika shoshilinch tibbiy yordam ilmiy markazi, Toshkent, O‘zbekiston

### ✓ Rezyume

**Maqsad.** TGF- $\beta$ 1 va MTHFR genlarining pastki ekstremal varikoz kasalligi (LVLV) rivojlanishi va uning trombotik asoratlari bilan bog‘liqligini aniqlash.

**Materiallar va usullar.** LVLE (asosiy guruh) bo‘lgan 161 bemor tekshirildi: trombotik asoratlarsiz 111 bemor, flebotromboz bilan 50 bemor. Nazorat guruhiga 155 shartli sog‘lom odam kiritilgan. Biz TGF- $\beta$ 1 genida rs1800471 polimorfizmining G/G, G/C, C/C genotiplarini va rs1801133 polimorfizmining C/C, C/T, T/T genotiplarini tashish chastotasini o‘rgandik. MTHFR geni.

**Natijalar.** Vena trombozi bilan og‘rigan bemorlarda TGF- $\beta$ 1 genining geterozigotli G / C genotipini va MTHFR genining mutant gomozigotli T / T genotipini tashish chastotasi sog‘lom odamlarga qaraganda deyarli to‘rt baravar yuqori ( $\chi^2>3,84$ ;  $p<0,05$ ;  $OR=3,9$ ; 95%  $CI:1,64-8,98$  va  $\chi^2>3,84$ ;  $p<0,05$ ;  $OR=3,1$ ; 95%  $CI: 1,11-8,49$ ).

**Xulosa.** TGF- $\beta$ 1 genining heterozigotli G/C genotipi va MTHFR genining homozigot T/T genotipining mavjudligi diagnostik va prognostik ahamiyatga ega va LVL va flebotromboz rivojlanish xavfini sezilarli darajada oshiradi.

**Kalit so‘zlar:** TGF- $\beta$ 1 geni, rs1800471 polimorfizmi, MTHFR geni, rs1801133, pastki ekstremitalarning varikoz kengayishi, trombotik asoratlar, venoz tromboz.

### Актуальность

Наиболее часто встречаемым осложнением хронической венозной недостаточности (ХВН) нижних конечностей является тромбоз глубоких вен, 40% которых локализируются на уровне дистальных вен, 16% – на уровне поплитеальных, 20% – в бедренных, 20% – на уровне общей бедренной и 4% – в подвздошных венах [1]. Наиболее известными и общепризнанными факторами риска развития флеботромбозов считаются пожилой возраст, женский пол, беременность, ожирение. Наличие у пациентов с ХВН варикозной болезни нижних конечностей (ВБНК) многократно повышает риск развития тромбоза глубоких вен [2]. Кроме того, выясняется также связь варикозного расширения вен с периферическими заболеваниями артерии и дополнительными заболеваниями сосудов [3].

Варикозная болезнь нижних конечностей характеризуется ремоделированием внеклеточного матрикса и снижением сосудистого тонуса, что способствует рефлюксу венозной крови и повышению давления в сосудистой стенке. Среди генов-кандидатов, участвующих в варикозной трансформации венозной стенки, особый интерес представляют ген трансформирующего ростового фактора бета-1 (TGF- $\beta$ 1) [4] и ген метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) [5,6].

Однако молекулярно-генетический аспект венозной патофизиологии относительно плохо изучен. В связи с недостаточностью данных о влиянии полиморфизмов генов MTHFR и TGF- $\beta$ 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.** Выявление ассоциации полиморфизмов генов MTHFR и TGF- $\beta$ 1 с развитием ВБНК и её тромботических осложнений.

### Материал и методы

Всего в исследовании было задействовано 316 человек, которые были разделены на основную и контрольную группы. В основную группу включены 161 больных с ВБНК, которые, в свою очередь, были разделены на две подгруппы: 1-я подгруппа – 111 пациентов с ВБНК без тромботических осложнений, 2-я подгруппа – 50 больных с флеботромбозами на фоне ВБНК. В контрольную группу были включены 155 условно-здоровых лиц.

Изучали частоту носительства генотипов G/G, G/C, C/C полиморфизма rs1800471 в гене TGF- $\beta$ 1 и генотипов C/C, C/T, T/T полиморфизма rs1801133 в гене MTHFR.

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

C-аллель преобладал среди больных с тромбозами, у которых частота носительства этого аллеля составила 13,0%, против 4,0% в группе контроля ( $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; 95% CI: 1.53-7.64, OR=3.4) (рис. 1). В группе пациентов с венозным тромбозом частота носительства дикого генотипа G/G составляла 74,0%, что статистически значимо меньше аналогичного показателя контрольной группы – 92,0% ( $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; OR=0.3; 95% CI: 0.11-0.61). У больных с флеботромбозами гетерозиготный генотип G/C выявляли в 26,0% случаев, тогда как в контрольной группе носительство этого генотипа составила 8,0%, что определенно указывает на его ассоциацию с этим осложнением ( $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; 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 (табл. 1).

Таким образом, сравнительный анализ частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 в гене TGF- $\beta$ 1 в группе пациентов с ВБНК, осложнённой венозным тромбозом и у здоровых лиц показал, что носительство гетерозиготного генотипа G/C статистически значимо повышает риск развития флеботромбозов.

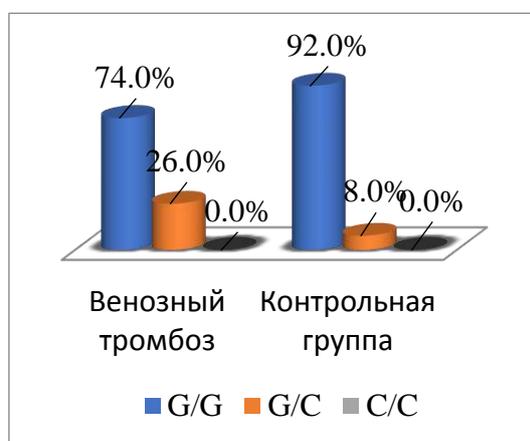
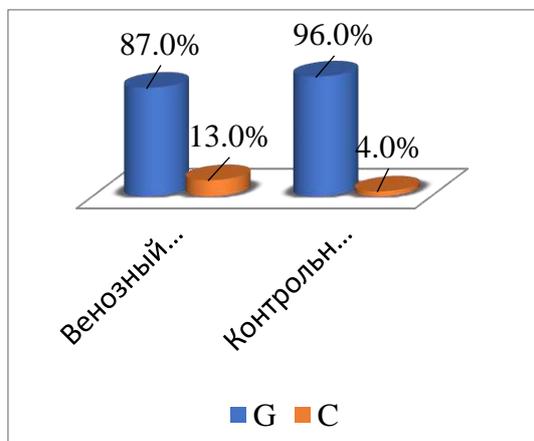


Рис. 5. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 в гене TGF-β1 в группе пациентов с ВБНК, осложнённой венозными тромбозами и в контрольной группе.

**Таблица 1. Ассоциативная связь полиморфизма rs1800471 в гене TGF-β1 с риском развития ВБНК, осложнённой венозными тромбозами, n=50**

Аллели и генотипы	OR	95% CI	$\chi^2$	p-value
G	0.3	0.13–0.66	<b>9.9</b>	<b>0.002</b>
C	3.4	1.53–7.64		
GG	0.3	0.11–0.61	<b>10.6</b>	<b>0.001</b>
GC	3.8	1.64–8.98	<b>10.6</b>	<b>0.001</b>
CC	-	-	-	-

Исследование частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1801133 в гене MTHFR показало, что частота встречаемости аллеля Т преобладала в основной группе – у больных с ВБНК и венозным тромбозом, составив 36,3% против 22,3% в контрольной группе ( $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; OR=2; 95% CI: 1.40-2.83). У больных с ВБНК носительство гомозиготного мутантного генотипа Т/Т диагностировано почти в 4 раза чаще по сравнению с группой здоровых лиц ( $\chi^2 > 3.84$ ;  $p < 0.05$ ; OR=3.8; 95% CI: 1.83-8.08) (табл. 2).

**Таблица 2. Ассоциативная связь полиморфизма rs1801133 в гене MTHFR с риском развития ВБНК, n=161**

Аллели и генотипы	OR	95% CI	$\chi^2$	p-value
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

В нашей работе мы исследовали молекулярно-генетические аспекты полиморфизмов генов TGF-β1 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-β1 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-β1 [10]. Повышенная экспрессия обнаружена также для гена его рецептора TGF-β RII (TGFBR2), 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 тромбоземболической болезни, которая включает тромбоз глубоких вен и легочную эмболию [15].

### Заключение

Результаты нашего исследования еще раз подтвердили ассоциацию полиморфизмов rs1800471 гена TGF-β1 и rs1801133 гена MTHFR в развитии ВБНК и ее осложнений. Очевидно, что Наличие гетерозиготного генотипа G/C гена TGF-β1 и гомозиготного генотипа T/T гена MTHFR имеет диагностическую и прогностическую значимость и многократно повышает риск развития ВБНК и флеботромбозов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Stubbs M.J., 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 E.N., 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 S.L., Huang Y.L., Lee M.C., Hu S., Hsiao Y.C., Chang S.W., Chang C.J., Chen P.C. 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. Wang J.C., Gu J., Li Y., Ma Q., Feng J., Lu S. Transforming growth factor- $\beta$ 1 and inducible nitric oxide synthase signaling were involved in effects of prostaglandin E<sub>2</sub> on progression of lower limb varicose veins. // *Journal of Vascular surgery. Venous and Lymphatic Disorders*. 2021;9(6):1535-1544. DOI: 10.1016/j.jvsv.2020.12.083
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 09.09.2022