

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

А.А. ЯРИЕВ¹, С.С. ХУДОЙБЕРДИЕВ¹, К.Т. БОБОЕВ², А. МОХАММАДДИН², Ш.М. МУМИНОВ, Б.И. ШУКУРОВ³

¹Сырдаринский филиал Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи,
Гулистан, Узбекистан

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

³Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, Ташкент, Узбекистан

RELATIONSHIP OF TGF- β 1 AND MTHFR GENE POLYMORPHISM WITH THE DEVELOPMENT OF VARICOSE DISEASE AND ITS THROMBOTIC COMPLICATIONS

A.A. YARIEV¹, S.S. KHUDOYBERDIEV¹, K.T. BOBOEV², A. MOHAMMAD DIN², SH.M. MUMINOV, B.I. SHUKUROV³

¹Syrdarya branch of the Republican Scientific Center for Emergency Medical Care, Gulistan, Uzbekistan

²Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Hematology, Tashkent, Uzbekistan

³Republican Scientific Center of Emergency Medical Care, Tashkent, Uzbekistan

Цель. Выявление ассоциации TGF- β 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- β 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- β 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- β 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- β 1, полиморфизм rs1800471, ген MTHFR, rs1801133, варикозная болезнь нижних конечностей, тромботические осложнения, венозный тромбоз.

Aim. Identification the association of TGF- β 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- β 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- β 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- β 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- β 1 gene, rs1800471 polymorphism, MTHFR gene, rs1801133, varicose disease, thrombotic complications, venous thrombosis.

00000000000000000000000000000000

Наиболее часто встречаемым осложнением хронической венозной недостаточности (ХВН) нижних конечностей является тромбоз глубоких вен, 40% которых локализируются на уровне дистальных вен, 16% – на уровне подколенных, 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-β1) [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-β1 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-β1 с развитием ВБНК и её тромботических осложнений.

Материалы 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-β1 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».

Результаты 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-β1 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.

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	χ^2	p-value
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	10,6	0,001
CC	–	–	–	–

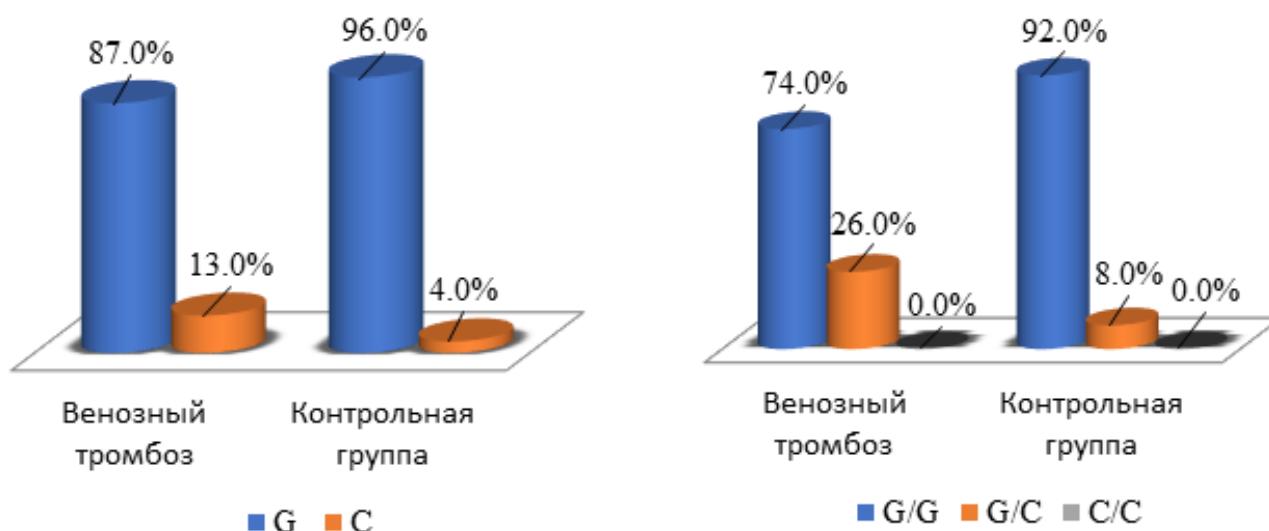


Рис. 1. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 в гене TGF-β1 в группе пациентов с ВБНК, осложнённой венозными тромбозами и в контрольной группе

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

Аллели и генотипы	OR	95% CI	χ^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

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).

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- β 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 составила 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

Результаты нашего исследования еще раз подтвердили ассоциацию полиморфизмов rs1800471 гена TGF- β 1 и rs1801133 гена MTHFR в развитии ВБНК и ее осложнений. Очевидно, что Наличие гетерозиготного генотипа G/C гена TGF- β 1 и гомозиготного генотипа T/T гена MTHFR имеет диагностическую и прогностическую значимость и многократно повышает риск развития ВБНК и флеботромбозов.

Литература

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., Engesser 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- β 1 and inducible nitric oxide synthase signaling were involved in effects of prostaglandin E2 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 Th-

romb Hemost. 2019 Jan-Dec; 25:1076029618780344. doi: 10.1177/ 1076029618780344. Epub 2018 Jun 19. PMID: 29916259; PMCID: PMC6714945.

TGF-β1 ВА MTHFR ГЕНЛАРИ ПОЛИМОРФИЗМИНИНГ ВАРИКОЗ КАСАЛЛИГИ ВА ФЛЕБОТРОМБОЗЛАР РИВОЖЛАНИШИ БИЛАН БОҒЛИҚЛИГИ

А.А. ЯРИЕВ¹, С.С. ХУДОЙБЕРДИЕВ¹, К.Т. БОБОЕВ², А. МОХАММАДДИН², Ш.М. МУМИНОВ, Б.И. ШУКУРОВ³

¹Республика шошилинч тиббий ёрдам илмий марказининг Сирдарё филиали, Гулистон, Ўзбекистон

²Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази, Тошкент, Ўзбекистон

³Республика шошилинч тиббий ёрдам илмий маркази, Тошкент, Ўзбекистон

Мақсад: TGF-β1 ва MTHFR генларининг пастки муча варикоз касаллиги (ПМВК) ва унинг тромботик асоратлари ривожланиши билан боғлиқлигини аниқлаш.

Материал ва усуллар. ПМВК бўлган 161 нафар (асосий гуруҳ), шу жумладан 111 нафар тромботик асоратлари бўлмаган ва 50 нафар флеботромбозлари бўлган беморлар текширилган. Назорат гуруҳига 155 нафар шартли соғлом шахслар киритилди. TGF-β1 генининг rs180047 полиморфизмига тааллуқли G/G, G/C, C/C генотиплари ҳамда MTHFR генининг rs1801133 полиморфизмидаги C/C, C/T, T/T генотиплари мансублиги миқдори ўрганилган.

Натижалар. Веноз тромбозларга чалинган беморларда TGF-β1 генининг гетерозигот G/C генотиби ва MTHFR генининг гомозигот T/T генотиби соғлом инсонларга нисбатан деярли тўрт баробар кўпроқ учраши аниқланди (тегишлилигича $\chi^2 > 3,84$; $p < 0,05$; OR=3,9; 95%CI:1.64-8,98 ва $\chi^2 > 3,84$; $p < 0,05$; OR=3,1; 95%CI:1.11-8,49).

Хулоса. Инсонда TGF-β1 генининг гетерозигот G/C генотиби ва MTHFR генининг гомозигот T/T генотиби мавжудлиги диагностик ва прогностик аҳамиятга эга бўлиб, ПМВК ва флеботромбозлар ривожланиш хавфини бир неча баробар оширади.

Калит сўзлар: TGF-β1 гени, rs1800471 полиморфизми, MTHFR гени, rs1801133, пастки мучал варикоз касаллиги, тромботик асоратлар, веноз тромбози.

Сведения об авторах:

Яриев Алишер Алижонович – кандидат медицинских наук, заведующий отделения хирургии Сырдарьинской филиала Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи.

E-mail: doctor_alisher@mail.ru

Худойбердиев Санжар Собирович – директор Сырдарьинского филиала Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи.

E-mail: doctor_alisher@mail.ru

Бобоев Кодиржон Тухтабоевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории медицинской генетики Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии.

E-mail: abdukadir_babaev@mail.ru

Мохаммад Дин Асмо – заведующая лабораторией молекулярной генетики, цитогенетики и FISH

Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии.

E-mail: asmo.md@mail.ru

Муминов Шухрат Манапович – доктор медицинских наук, заведующий отделением сосудистой хирургии с микрохирургией Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи.

E-mail: msh22@mail.ru

Шукуров Бобир Ибрагимович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела экстренной хирургии Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи.

E-mail: shbobir@yahoo.com

Information about authors:

Yariyev Alisher Alizhonovich – Candidate of Medical Sciences, head of Surgery Department of Syrdarya branch of Republican Research Center of Emergency Medicine.

E-mail: doctor_alisher@mail.ru

Khudoiberdiev Sanzhar Sobirovich – Director of Syrdarya branch of Republican Research Center of Emergency Medicine.

E-mail: doctor_alisher@mail.ru

Boboev Kodirjon Tukhtaboevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Medical Genetics of Republican Specialized Scientific Practical Medical Center of Hematology.

E-mail: abdukadir_babaev@mail.ru

Mohammad Din Asmo – Head of the molecular genetics, cytogenetics and FISH laboratory of Republican Specialized Scientific Practical Medical Center of Hematology.

E-mail: asmo.md@mail.ru

Shukhrat Manapovich Muminov – Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Vascular Surgery with Microsurgery of the Republican Research Center of Emergency Medicine.

E-mail: msh22@mail.ru

Shukurov Bobir Ibragimovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Emergency Surgery Department of the Republican Research Center of Emergency Medicine.

E-mail: shbobir@yahoo.com

Поступила в редакцию:

Received: