

МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

MYELOID TUMORS

Генетические маркеры наследственной тромбофилии и риск тромботических осложнений у больных с истинной полицитемией

Genetic Markers of Hereditary Thrombophilia and Risk of Thrombotic Complications in Patients with Polycythemia Vera

Д.И. Шихбабаева, Л.Б. Полушкина, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич, С.И. Капустин, Т.Б. Замотина, М.С. Фоминых, В.Ю. Удальева, И.И. Зотова, В.М. Шмелева, О.А. Смирнова, С.В. Волошин, С.С. Бессмельцев, А.В. Чечеткин, К.М. Абдулкадыров

DI Shikhbabaeva, LB Polushkina, VA Shuvaev, IS Martynkevich, SI Kapustin, TB Zamotina, MS Fominykh, VU Udal'eva, II Zotova, VM Shmeleva, OA Smirnova, SV Voloshin, SS Bessmel'tsev, AV Chechetkin, KM Abdulkadyrov

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА», 2-я Советская ул., д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Обоснование. Тромботические осложнения — одна из основных проблем в лечении истинной полицитемии (ИП). Они ухудшают качество жизни больных и могут стать причиной летального исхода. Тромботический эпизод часто служит первым событием, ведущим к постановке диагноза данного гематологического заболевания. Патогенез тромбозов при миелопролиферативных новообразованиях, в частности ИП, сложный. Назначение антиагрегантов в отсутствие тромбозов, а также антикоагулянтов после тромботических событий требует особого внимания и разработки соответствующих рекомендаций. Назначение антикоагулянтов невозможно без учета риска геморрагических осложнений, также характерных для миелопролиферативных новообразований.

Цель. Оценка влияния генетических маркеров наследственной тромбофилии на риск развития тромботических осложнений у больных ИП.

Методы. В настоящей работе анализу подвергнуты данные 116 больных ИП, обследованных на наличие ряда маркеров наследственной тромбофилии. Это варианты генов фактора V (G1691A, лейденская мутация), протромбина, метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), фибриногена (F), ингибитора активатора плазминогена (PAI-1), тромбоцитарного рецептора фибриногена (GPIIIA). Изучена частота указанных маркеров, а также их роль в развитии тромбозов у данной категории больных.

Результаты. В работе определена частота различных маркеров наследственной тромбофилии у больных ИП. В группах больных с тромбозами и без таковых выявлены статистически значимые различия частоты обнаружения различных генетических маркеров наследственной тромбофилии и уровня гомоцистеина.

Заключение. Наличие маркеров наследственной тромбофилии у больных ИП в дебюте заболевания может служить убедительным аргументом в пользу назначения адекватной антиагрегантной и антикоагулянтной терапии. Обоснована необходимость проведения дальнейших исследований по изучению роли маркеров наследственной тромбофилии в определении прогностических особенностей течения заболевания и в оценке риска тромботических осложнений при ИП.

Background. Thrombotic complications are one of the main problems of polycythemia vera (PV) treatment. They significantly impair the quality of life of these patients and may lead to the lethal outcome. A thrombotic event often precedes the diagnosis of this hematological disease. The pathogenesis of thrombosis in myeloproliferative neoplasms, PV, in particular, is a complex one. Prescription of antiaggregants in the absence of thrombosis and anticoagulants after a thrombotic event requires special attention and development of corresponding recommendations. The prescription of anticoagulants is impossible without taking into account the risks of hemorrhagic complications, which are also typical for myeloproliferative neoplasms.

Aim. Assessment of the impact of hereditary thrombophilia genetic markers on the risk of thrombotic complications in patients with PV.

Methods. The study examined 116 patients with PV, who were screened for markers of hereditary thrombophilia: factor V (G1691A, FV Leiden), prothrombin, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), fibrinogen (F), plasminogen activator inhibitor (PAI-1), and platelet fibrinogen receptor type IIIA (GPIIIA). The incidence of these markers and their role in thrombosis in such patients was investigated.

Results. The study provided data on the incidence of hereditary thrombophilia markers in patients with PV. Statistically significant differences in the incidence of these markers and homocysteine level were found between patients with thrombosis and without them.

Conclusion. The information about the hereditary thrombophilia markers presence may be useful for the prescription of adequate antiaggregant and anticoagulant therapy for PV patients. Further research in this field is justified and it will probably demonstrate the relevance of hereditary thrombophilia markers as prognostic factors for thrombotic complications risk assessment.

Ключевые слова: истинная полицитемия, наследственная тромбофилия, тромбозы.

Keywords: polycythemia vera, hereditary thrombophilia, thrombosis.

Получено: 11 декабря 2016 г.

Принято в печать: 21 декабря 2016 г.

Received: December 11, 2016

Accepted: December 21, 2016

Для переписки: Джарият Исмаиловна Шихбабаева, 2-я Советская ул., д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024; тел.: +7(931)201-71-28; e-mail: djeri.shih@mail.ru

Для цитирования: Шихбабаева Д.И., Полушкина Л.Б., Шуваев В.А. и др. Генетические маркеры наследственной тромбофилии и риск тромботических осложнений у больных с истинной полицитемией. Клиническая онкогематология. 2017;10(1):85–92.

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-85-92

For correspondence: Dzhariyat Ismailovna Shikhbabaeva, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024; Tel: +7(931)201-71-28; e-mail: djeri.shih@mail.ru

For citation: Shikhbabaeva DI, Polushkina LB, Shuvaev VA, et al. Genetic Markers of Hereditary Thrombophilia and Risk of Thrombotic Complications in Patients with Polycythemia Vera. Clinical oncohematology. 2017;10(1):85–92 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-85-92

ВВЕДЕНИЕ

Тромботические осложнения служат основной причиной инвалидизации и смертности больных с истинной полицитемией (ИП).

Выделяется множество факторов, влияющих на частоту развития тромбозов при этом заболевании. Преклонный возраст и наличие в анамнезе тромботического эпизода являются двумя наиболее важными факторами риска сердечно-сосудистых осложнений при ИП. Вместе с тем лейкоцитоз [1–4] и величина аллельной нагрузки мутантного гена *JAK2V617F* [5] рядом авторов также признаются независимыми факторами риска развития тромбозов при ИП и эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ). В некоторых исследованиях в качестве предикторов тромбозов рассматривается гиперхолестеринемия, артериальная гипертензия, курение, сахарный диабет [1, 6, 7].

Уровень гематокрита — один из важнейших факторов, свидетельствующих о повышенной вязкости крови. В результате исследования CUTO-PV было показано, что группа пациентов с гематокритом менее 45 % отличалась статистически значимым снижением частоты смерти от сердечно-сосудистых и тромботических событий по сравнению с группой с гематокритом в пределах 45–50 % [8]. Влияние эритроцитов на эндотелий также способствует тромбообразованию при ИП. Это явление при развитии ишемических событий было доказано при серповидноклеточной анемии и сахарном диабете [9–11].

Наряду с тромбоцитозом потенциальным фактором риска тромбозов рассматривается и лейкоцитоз. Лейкоциты, преимущественно нейтрофилы, влияют на процесс тромбообразования за счет взаимодействия с другими форменными элементами крови посредством активации молекул адгезии, расположенных на них. Активированные нейтрофилы вызывают функциональные изменения эндотелия путем влияния на протромботические факторы [12, 13]. В исследовании ECLAP показано, что у пациентов с ИП уровень лейкоцитов более $15 \times 10^9/\text{л}$ связан с более высоким риском тромботических осложнений, чем при числе лейкоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$ [3].

Маркеры активации тромбоцитов служат значимым фактором в прогнозировании риска тром-

бозов. Циркулирующие тромбоциты более склонны к активации у пациентов с мутацией *JAK2V617F* [14, 15]. С учетом положительного эффекта низких доз аспирина можно также говорить о значимой роли тромбоцитарного тромбосана в развитии тромбозов [16].

Для оценки влияния степени выраженности сети ретикулиновых волокон на частоту тромботических осложнений при ЭТ и ИП было проведено 2 ретроспективных исследования. В одном из них было показано, что снижение содержания ретикулина и низкая клеточность костного мозга связаны с артериальными тромбозами (АТ), но не с венозными (ВТ) [17]. В противоположность этому в ходе другого исследования было выявлено, что начальные признаки фиброза значимо коррелируют с низкой частотой массивных АТ и ВТ [18]. Не исключено, что такие различия обусловлены изменением цитокин/хемокинового профиля и генетическими особенностями клеток при миелопролиферативных заболеваниях (МПЗ) [19, 20].

На наш взгляд, наиболее удобной для использования в клинической практике является шкала прогноза риска развития тромбозов, разработанная R. Marchioli и соавт. (табл. 1) [21].

Частота тромбозов при ИП выше, чем у больных ЭТ и первичным миелофиброзом (ПМФ) [22–24]. У молодых пациентов частота тромботических осложнений ниже, чем у пожилых [24, 25]. По результатам различных клинических исследований, частота тромбозов ко времени постановки диагноза ИП составляет 19,2–38,6 %, при ЭТ — 7,14–26,3 %, а при ПМФ — 4–7 %. В то же время в процессе наблюдения частота тром-

Таблица 1. Шкала прогноза тромботических осложнений при истинной полицитемии

Показатель	Число баллов	
	Нет	Да
Признак		
Возраст старше 65 лет	0	1
Тромбозы в анамнезе	0	1
Группы риска в зависимости от суммарного числа баллов	Средняя частота развития тромбозов в год, %	
Низкий риск (0 баллов)	2,5	
Промежуточный риск (1 балл)	4,9–5,0	
Высокий риск (2 балла)	10,9	

бозов варьирует от 8 до 19 % при ИП, от 8 до 31 % при ЭТ и от 2 до 4 % при ПМФ [26–29]. При МПЗ АТ более распространены, чем ВТ. Отличительной особенностью ВТ является высокая частота их локализации в портальной, селезеночной и мезентериальных венах, что нередко приводит к летальному исходу. Распространенность таких тромбозов колеблется от 1 до 23 % [30–33]. Молодые женщины более подвержены риску ВТ [24, 31], возможно, в связи с такими специфическими факторами, как гормональный статус или использование противозачаточных средств [34].

Особого внимания требуют случаи рецидивирующих тромбозов при ИП. В настоящее время нет четких рекомендаций относительно длительности антикоагулянтной терапии. Это связано с высоким риском геморрагических осложнений, что, вероятнее всего, обусловлено приобретенным синдромом Виллебранда. Необходимы дополнительные факторы прогноза с целью обеспечить эффективную профилактику повторных тромботических событий при ИП.

В последнее десятилетие при изучении тромбозов все больше внимания уделяется наследственной тромбофилии. Согласно современным представлениям, тромбофилия — это не заболевание, а состояние, характеризующееся предрасположенностью к тромбозам вследствие врожденных или приобретенных нарушений в системе гемостаза. Учитывая особенности патогенеза ИП, можно с уверенностью сказать, что это заболевание само по себе приводит к развитию приобретенной тромбофилии. В то же время наличие наследственной тромбофилии у пациента с ИП, возможно, служит дополнительным неблагоприятным фоном [35].

До 1993 г. считалось, что наследственная тромбофилия может быть обусловлена только дефицитом естественных коагулянтов (дефицит антитромбина, белков С и S). В 1993 г. было впервые установлено, что повышенная склонность к тромбообразованию может быть связана с нарушением активности не только естественных антикоагулянтов, но и других компонентов системы гемостаза [36]. Наиболее важными генетическими маркерами наследственной тромбофилии, на наш взгляд, являются аллельные варианты следующих генов: *FV* (лейденская мутация, фактор V), *FII* (протромбин), *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктаза), *FI* (фибриноген), *PAI-1* (ингибитор активатора плазминогена), *GP1IIA* (тромбоцитарный рецептор фибриногена).

Лейденская мутация (*FV* Leiden, G1691A) — феномен, являющийся наиболее частой протромботической аномалией гемостаза, обнаруживается у 20–40 % больных с ВТ. При этом происходит замена гуанина на аденин в положении 1691 в гене фактора V, приводящая к замене аминокислоты аргинина на глутамин в положении 506 (Arg506Gln). В результате активная форма фактора V становится устойчивой к инактивации под действием активированного белка С и сохраняет свои прокоагулянтные свойства в течение более длительного времени по сравнению со своей нормальной изоформой. Данный вариант фактора V получил в литературе название «фактор V Leiden». Гетерозиготное носительство данной мутации наиболее распространено в общей популяции и

сопряжено с увеличением риска развития тромбоза в венозном русле в 3–8 раз. У гомозиготных носителей лейденской мутации *FV* риск тромбозов увеличивается в 50–100 раз [37, 38].

Мутация G20210A в гене протромбина или коагуляционного фактора II (20210G>A) характеризуется заменой нуклеотида гуанина на аденин в положении 20210. При наличии данной мутации обнаруживается повышенное количество протромбина. Уровень протромбина может быть в 1,5–2 раза выше нормальных значений. Протромбин под действием факторов X и Ха переходит в активную форму, которая активирует образование фибрина из фибриногена. По данным разных авторов, среди лиц с ВТ носительство аллеля *FII* 20210A встречается с частотой 3–18 %, а величина относительного риска развития ВТ увеличивается в 2–8 раз по сравнению с общей популяцией. Кроме того, мутация G20210A в гене протромбина связана с увеличением риска развития АТ в возрасте до 45 лет [37].

Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (*PAI-1*) влияет на снижение фибринолитического потенциала системы гемостаза. Полиморфизм 5G>4G гена *PAI-1* в положении 675 от стартовой точки промотора (–675 5G>4G) приводит к повышению уровня *PAI*, что, в свою очередь, ведет к недостаточной конвертации плазминогена в плазмин и, соответственно, к гипофибринолизу. При гомозиготном варианте полиморфизма (4G/4G) уровень экспрессии *PAI-1* на 25–30 % выше, чем при гетерозиготном (4G/5G). Кроме того, имеются данные, что сочетание генотипа 4G/4G и носительства лейденской мутации повышает риск повторных эпизодов тромбозов глубоких вен [39, 40].

Генетический полиморфизм тромбоцитарного рецептора фибриногена *GP1IIa* T1565C (P1A1/P1A2) оказывает значительное влияние на активность тромбоцитарного звена гемостаза. Комплекс *Gp1Ib/IIIA* экспрессируется тромбоцитами, основным лигандом его служит фибриноген. Он опосредует агрегацию активных форм тромбоцитов, что делает этот комплекс мишенью для назначения антиагрегантной терапии [36]. Замена тимина на цитозин в экзоне 2 гена *GP1IIa* в положении 1565 приводит к замене лейцина на пролин в аминокислотной последовательности гликопротеида *Gp1IIa* в положении 33, что сказывается на агрегационных свойствах тромбоцитов вследствие конформационного изменения N-терминальной дисульфидной петли *Gp1IIa*, участвующей в связывании фибриногена [41]. По некоторым данным, гомозиготный генотип *Gp1IIa* (1565CC) является самостоятельным фактором риска возникновения ВТ у женщин, в т. ч. в молодом возрасте [42].

Полиморфизм –455G>A в гене фибриногена (*FI*) представляет определенный интерес при изучении тромбозов. При этом происходит нуклеотидная замена гуанина на аденин в 5'-нетранслируемой области гена, кодирующего β-субъединицу фибриногена. Наиболее значимым является гомозиготный генотип –455AA, т. к. сопровождается увеличением как базального (на 10–30 %), так и индуцированного уровня фибриногена. Повышенный уровень фибриногена в крови служит значимым фактором риска для АТ и ВТ [36].

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) играет ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты. Фермент катализирует восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат. Последний является активной формой фолиевой кислоты, необходимой для образования метионина из гомоцистеина и, далее, S-аденозилметионина, играющего ключевую роль в процессе метилирования ДНК. Известно около двух десятков мутаций этого гена, нарушающих функцию фермента. Наиболее изученной мутацией является вариант, в котором нуклеотид цитозин (С) в положении 677 заменен тимидином (Т), что приводит к замене аминокислотного остатка аланина на остаток валина (положение 222) в сайте связывания фолата. Такой полиморфизм *MTHFR* обозначается как мутация 677С>Т. У лиц, гомозиготных по данной мутации (генотип Т/Т), отмечается термоллабильность *MTHFR* и снижение активности фермента примерно до 35 % от среднего значения. Снижение активности *MTHFR* приводит к развитию гипергомоцистеинемии (ГГЦ). Универсальным механизмом, опосредующим патологические эффекты ГГЦ, является развитие оксидативного стресса. Процессы тромбообразования при ГГЦ реализуются через развитие эндотелиальной дисфункции, активацию коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, снижение активности естественных антикоагулянтов и фибринолиза. Протромботические эффекты ГГЦ в большей степени проявляются при сочетании с другими наследственными и/или приобретенными факторами риска [43].

Проведено много клинических исследований по изучению наследственной тромбофилии как фактора риска тромбозов, однако результаты этих работ не дали однозначного ответа. Разнонаправленность этих результатов можно объяснить расхождениями в трактовке термина «наследственная тромбофилия», в частности представлений о роли гомо- и гетерозиготного носительства определенных генетических вариантов в увеличении риска тромботических осложнений.

Так, например, в 2007 г. группа исследователей опубликовала статью, в которой было показано, что частота носительства лейденской мутации у больных ИП и ЭТ с венозными тромбоэмболическими осложнениями не отличается от таковой в общей популяции [44]. В 2007 г. было проведено другое исследование в группе 214 пациентов с ИП и ЭТ, по результатам которого Н. Gisslinger и соавт. опубликовали данные, согласно которым риск венозной тромбоэмболии, связанной с мутацией в гене протромбина (*FII*) G20210A, оказался выше, чем ожидалось [45]. V. De Stefano и соавт. по данным обследования 132 пациентов с ЭТ сделали выводы о том, что у молодых пациентов риск тромботических осложнений выше при наличии мутации *JAK2V617F* и он дополнительно увеличивается при наличии врожденной тромбофилии [46]. Не исключено, что существует определенное взаимодействие между механизмами, предрасполагающими к развитию тромбозов в случае мутации *JAK2V617F* и при наличии врожденной тромбофилии.

В настоящей работе мы изучали вопросы возможного влияния наследственной тромбофилии

на частоту развития тромботических осложнений у больных ИП. На наш взгляд, лучшее понимание факторов, приводящих к тромбозам, поможет преодолеть главное препятствие в улучшении качества и увеличении длительности жизни больных ИП — тромботические эпизоды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании была собрана и подвергнута анализу информация о частоте обнаружения генетических маркеров наследственной тромбофилии у 116 больных ИП (52 мужчины и 64 женщины). Медиана возраста пациентов ко времени установления диагноза ИП составила 59,5 года (диапазон 28–81 год). Медиана периода наблюдения составила 5 лет (диапазон 0,13–35 лет). У всех больных была обнаружена мутация *JAK2V617F*. Пациенты были обследованы методом полимеразной цепной реакции на наличие полиморфизма нуклеотидов в генах *FV* (G1691A, лейденская мутация), протромбина (G20210A), метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*, C677T), фибриногена (*FI*, -455G/A), ингибитора активатора плазминогена (*PAI-1*, -6754G/5G), тромбоцитарного гликопротеида IIIa (*GPIIIa*). Анализу подвергнута общая частота протромботических вариантов указанных генов и статистическая значимость различий их частоты в группах больных ИП с тромбозами в анамнезе и без таковых. Кроме того, было проведено сравнение с контрольной группой, в которую вошло 228 здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту исследуемой группе больных, не имевших в анамнезе тромботических эпизодов и проживающих в Северо-Западном регионе России. Группа больных ИП с тромбозами была также разделена на две подгруппы: с АТ и ВТ. Выполнено сравнение этих групп с контрольной группой. У 36 (31 %) из 116 больных был исследован уровень гомоцистеина.

Для анализа данных использовались методы описательной статистики. Значимость межгрупповых различий в распределении генотипов оценивалась с помощью точного критерия Фишера. Различия в возрасте, уровне гомоцистеина оценивали с помощью критерия Манна—Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Тромботические осложнения имели место у 41 (35,3 %) больного:

- АТ — у 31;
- ВТ — у 10;
- острый инфаркт миокарда (ОИМ) — у 13 (31,7 %), повторные ОИМ — у 2;
- острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) — у 17 (41,5 %), повторные эпизоды ОНМК — у 4;
- тромбоз пальцевых артерий кисти — у 1;
- тромбоз плантарной артерии (помимо ОИМ) — у 1.

В целом повторные тромбозы наблюдались у 11 пациентов.

Таблица 2. Характеристика больных с истинной полицитемией с наличием или отсутствием тромбозов в анамнезе

Показатель	Частота обнаружения генотипа, % (n)		p
	ИПТр+ (n = 41)	ИПТр- (n = 75)	
Средний (диапазон) возраста, лет	56,73 (28–75)	59,6 (31–81)	0,75
Мужчины	16	36	0,23
Женщины	25	39	
FV Leiden	GA	2,4 (1)	0,35
	GG	97,6 (40)	
Мутация G20210-A в гене протромбина	GA	4,9 (2)	0,12
	GG	95,1 (39)	
Мутация в гене MTHFR	TT+CT	68,3 (28)	0,13
	CC	31,7 (13)	
Мутация в гене FI	AA+GA	48,8 (20)	0,55
	GG	51,2 (21)	
Мутация в гене PAI-1	4G4G+4G5G	80,5 (33)	0,40
	5G5G	19,5 (8)	
Мутация в гене GPIIIa	A2A2+A1A2	19,5 (8)	0,31
	A1A1	80,5 (33)	

ИПТр+ — больные с истинной полицитемией с наличием тромбозов;
ИПТр- — больные с истинной полицитемией без тромбозов.

На основании анализа частоты обнаружения протромботических вариантов изученных генов в общей группе пациентов с ИП мы получили следующие результаты. Гетерозиготное (G/A) носительство мутации гена *FV* (лейденская мутация) было выявлено у 1 (0,86 %) больного, а гетерозиготное носительство мутации гена протромбина (20210G>A) — у 2 (1,7 %), что не превышает частоту обнаружения данных мутаций в общей популяции Северо-Западного региона Российской Федерации. Гомозиготное (T/T) носительство полиморфизма гена *MTHFR* присутствовало у 9 (7,7 %) больных, гетерозиготное (C/T) — у 61 (52,6 %). Гомозиготное (A/A) носительство полиморфизма гена фибриногена (*FI*) было обнаружено у 5 (4,3 %) пациентов, а

гетерозиготное — у 52 (44,8 %). У 37 (31,9 %) больных выявлено сочетание носительства полиморфизмов в генах *FI* и *MTHFR*. Гомозиготное (4G/4G) носительство полиморфизма гена *PAI-1* имело место у 39 (33,6 %) больных, гетерозиготное (4G/5G) носительство — у 57 (49,1 %). При исследовании полиморфизма гена *GPIIIa* гомозиготное носительство варианта A2 обнаружено у 3 (2,6 %) пациентов, гетерозиготное (A1/A2) — у 24 (20,7 %). У 2 больных маркеры наследственной тромбофилии не обнаруживались.

В табл. 2–4 представлены характеристики и различия частоты выявления маркеров тромбофилии в разных группах больных.

Согласно полученным данным, между группой больных ИП и контрольной группой, а также группой больных ИП с тромбозами и контрольной группой статистически значимо различалась частота протромботических вариантов генов *MTHFR* и *GPIIIa* ($p < 0,05$). Статистические тенденции обнаруживались в частоте мутации гена *FV* ($p < 0,1$) при сравнении групп больных ИП и контрольной группы, а также в частоте мутаций в гене протромбина в группах больных ИП с тромбозами и без таковых ($p < 0,2$) и при сравнении группы больных ИП с тромбозами и контрольной группы ($p < 0,3$). На рис. 1 представлены данные по частоте обнаружения протромботических полиморфизмов в группах с AT и BT, группах больных ИП без тромбозов, а также контрольной группы.

При сравнении частоты обнаружения маркеров тромбофилии в группах больных ИП с AT и без них были получены статистические тенденции по генам протромбина и *MTHFR* ($p < 0,1$), группой больных ИП с BT и группой больных ИП без тромбозов по гену *FV* ($p < 0,2$). При сравнении группы больных ИП с AT с контрольной группой получены статистически значимые различия по гену *MTHFR* ($p < 0,05$).

Данные, полученные при исследовании уровня гомоцистеина у больных ИП, представлены на рис. 2.

Таким образом, группы больных ИП с тромбозами и без таковых статистически значимо различались по

Таблица 3. Сравнительная характеристика больных с истинной полицитемией и лиц контрольной группы

Показатель	Частота обнаружения генотипа, % (n)		p
	Группа больных ИП (n = 116)	Конт- рольная группа (n = 228)	
FV Leiden	GA	0,86 (1)	0,06
	GG	99,1 (115)	
Мутация G20210-A в гене протромбина	GA	1,7 (2)	0,56
	GG	98,3 (114)	
Мутация в гене MTHFR	TT+CT	60,3 (70)	0,03
	CC	39,7 (46)	
Мутация в гене FI	AA+GA	49,1 (57)	0,23
	GG	50,9 (59)	
Мутация в гене PAI-1	4G4G+4G5G	82,7 (96)	0,53
	5G5G	17,3 (20)	
Мутация в гене GPIIIa	A2A2+A1A2	23,3 (27)	0,04
	A1A1	76,7 (89)	

Таблица 4. Сравнительная характеристика больных с истинной полицитемией с тромбозами и лиц контрольной группы

Показатель	Частота обнаружения генотипа, % (n)		p
	Группа больных ИП с тромбозами (n = 41)	Конт- рольная группа (n = 228)	
FV Leiden	GA	2,4 (1)	0,47
	GG	97,6 (40)	
Мутация G20210-A в гене протромбина	GA	4,9 (2)	0,28
	GG	95,1 (39)	
Мутация в гене MTHFR	TT+CT	68,3 (28)	0,01
	CC	31,7 (13)	
Мутация в гене FI	AA+GA	48,8 (20)	0,35
	GG	51,2 (21)	
Мутация в гене PAI-1	4G4G+4G5G	80,5 (33)	0,45
	5G5G	19,5 (8)	
Мутация в гене GPIIIa	A2A2+A1A2	19,5 (8)	0,06
	A1A1	80,5 (33)	

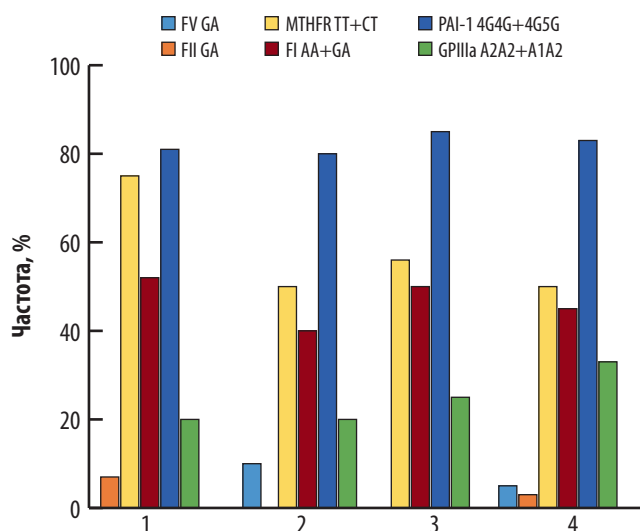


Рис. 1. Частота протромботических полиморфизмов у больных с истинной полицитемией:

1 — группа с артериальными тромбозами; 2 — группа с венозными тромбозами; 3 — группа без тромбозов; 4 — контрольная группа

Fig. 1. The incidence of prothrombotic polymorphisms in patients with polycythemia vera:

1 — group with arterial thrombosis; 2 — group with venous thrombosis; 3 — group without thrombosis; 4 — reference group

уровню гомоцистеина ($p = 0,0001$). При сравнении групп больных с наличием полиморфизма гена *MTHFR* и без него также были получены статистически значимые различия по уровню гомоцистеина ($p = 0,00007$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Частота тромботических событий, проанализированных в настоящем исследовании, соответствует данным ряда зарубежных авторов, согласно которым при ИП тромботические осложнения наблюдаются у 19,2–38,6 % больных [26, 27, 47], причем частота АТ выше, чем ВТ [48]. Полученные результаты подтверждают высокую частоту тромботических осложнений при ИП и свидетельствуют о том, что тромбозы, безусловно, являются ведущим осложнением при этом заболевании. Недостаточный ответ на терапию может сопровождаться возрастанием частоты данного вида осложнений, что приводит, в свою очередь, к увеличению риска инвалидизации и смерти больных ИП.

В связи с такой значимостью тромботических осложнений при ИП остается открытым вопрос о дополнительных факторах риска тромбозов при данном заболевании. Одним из таких потенциальных факторов является наследственная тромбофилия.

Наиболее значимыми всегда считались мутации в гене *FV* и гене протромбина.

По результатам исследования М. Tevet и соавт., в которое включались пациенты с ИП, ЭТ и ПМФ, частота гетерозиготного носительства мутации гена *FV* составила 8,06 %, а гетерозиготное носительство мутации гена протромбина — 2,3 % [44]. В нашем исследовании эти показатели составили 0,86 и 1,72 % соответственно. Мы не обнаружили значимых раз-

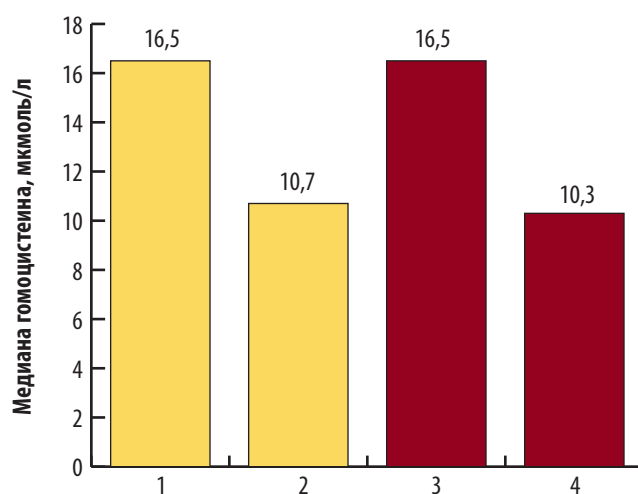


Рис. 2. Уровень гомоцистеина у больных с истинной полицитемией:

1 — группа с тромбозами; 2 — группа без тромбозов; 3 — группа с полиморфизмом *MTHFR* (ТТ+СТ); 4 — группа без полиморфизма *MTHFR* (ТТ+СТ)

Fig. 2. Homocysteine levels in patients with polycythemia vera:

1 — group with thrombosis; 2 — group without thrombosis; 3 — group with *MTHFR* (TT+CT) polymorphism; 4 — group without *MTHFR* (TT+CT) polymorphism

личий в частоте выявления данных полиморфизмов по сравнению с контрольной группой. Были получены статистические тенденции ($p < 0,3$) в частоте мутаций в гене протромбина и *FV* при сравнении групп больных ИП с тромбозами и без таковых, а также с контрольной группой. Это свидетельствует о том, что нельзя недооценивать значимость данных мутаций в развитии тромботических осложнений при ИП, в особенности ВТ.

В группе больных ИП частота мутаций в гене *FV* и гене протромбина не превышала таковую в группе контроля. В отдельных европейских исследованиях было также показано, что частота выявления этих классических маркеров наследственной тромбофилии у пациентов с ИП не превышает таковую в общей популяции, но при этом увеличивается риск тромботических событий [49].

Доля гомо- и гетерозигот по генам *MTHFR* (60,3 %) и *FI* (49,1 %) в исследуемой нами группе пациентов с ИП превысила таковую в контрольной. Сочетание мутаций генов *MTHFR* и *FI* может увеличивать риск тромботических осложнений. В нашем исследовании такое сочетание было выявлено у 32 % больных ИП.

Статистически значимые различия в частоте обнаружения полиморфизма в гене *MTHFR* при сравнении общей группы больных ИП, группы больных ИП с тромбозами (преимущественно АТ) с контрольной группой свидетельствуют о необходимости исследования данного полиморфизма у больных ИП. Обращает на себя внимание, что у 3 из 4 больных с сочетанием гомозиготного состояния полиморфизма гена *MTHFR* и гетерозиготного состояния полиморфизма гена *FI* имели место АТ.

Носительство полиморфизма гена *PAI-1* в исследуемой группе составило 82,8 %, что не отличалось от контрольной группы.

Частота полиморфизмов в гене *GPIIIA* в группе больных ИП составила 23,2 %, что оказалось значительно ниже чем в контрольной. Данные изменения, вероятно, требуют дальнейшего исследования для оценки их клинической значимости. Возможно, для полноценной интерпретации данных изменений потребуются исследование показателей системы гемостаза.

Несмотря на то что различия в частоте обнаружения в сравнении с контрольной группой получены не по всем исследованным полиморфизмам, любое носительство мутаций, связанных с тромбофилическим статусом, у больных ИП требует пристального внимания, т. к. при данном заболевании риск тромбоцических осложнений складывается из множества факторов (особенности патогенеза ИП, индивидуальные характеристики пациента, сопутствующая сердечно-сосудистая патология).

Отличительной особенностью зарубежных исследований служит то, что при обследовании больных МПЗ на наличие наследственной тромбофилии основными исследуемыми маркерами являются лейденская мутация, мутация в гене протромбина, дефицит антитромбина, белков C и S [47–48]. Мы в своем исследовании проанализировали и другие маркеры, часть из которых оказалась значимой в развитии тромбозов у больных ИП.

Выявление хотя бы одного протромботического варианта практически у всех обследованных больных подтверждает необходимость исследования маркеров наследственной тромбофилии при первичном обследовании больного ИП, т. к. в дальнейшем эти особенности состояния системы гемостаза могут быть учтены при проведении как первичной профилактики тромбоцических осложнений, так и профилактики повторных тромбозов.

Выявленные различия в группах больных свидетельствуют о том, что такие протромботические варианты, как полиморфизм в гене *MTHFR*, не менее значимы, чем мутации в генах *FII* и *FV*, в развитии тромбоцических осложнений при ИП. Следовательно, больные ИП нуждаются в исследовании уровня гомоцистеина, т. к. ГГЦ может выступать дополнительным фактором риска развития тромбозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тромботические осложнения служат одной из главных причин ухудшения качества жизни, инвалидизации, а иногда и смерти больных ИП. Своевременное и адекватное назначение профилактической антиагрегантной и антикоагулянтной терапии позволит улучшить качество и продолжительность жизни больных ИП.

В настоящее время обследование больных на наличие маркеров наследственной тромбофилии является вспомогательным при первичной диагностике ИП. На наш взгляд, это исследование должно быть обязательным у молодых больных ИП (до 50 лет) без сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний и с тромбозами в дебюте ИП, а также у пациентов с повторными тромбозами. В зависимости от выявленных маркеров наследственной тромбофилии необходимо исследование системы гемостаза (коагулограмма,

агрегация тромбоцитов, уровень гомоцистеина). Особого внимания также заслуживают женщины с ИП, получающие гормональные препараты (противозачаточные средства).

После проведения дополнительных исследований некоторые маркеры наследственной тромбофилии можно будет рассматривать как факторы риска развития тромбозов у больных ИП.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках НИР ХМПН-15.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Д.И. Шихбабаева, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич, С.И. Капустин.

Сбор и обработка данных: Д.И. Шихбабаева, В.А. Шуваев, С.И. Капустин, Т.Б. Замотина.

Предоставление материалов исследования: Д.И. Шихбабаева, В.А. Шуваев, С.И. Капустин, Т.Б. Замотина.

Анализ и интерпретация данных: Д.И. Шихбабаева, В.А. Шуваев, С.И. Капустин.

Подготовка рукописи: Д.И. Шихбабаева, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич, С.И. Капустин, С.В. Волошин.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

Административная поддержка: А.В. Четкин, С.С. Бессмельцев, С.В. Волошин.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, et al. Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(2):159–66. doi: 10.4065/81.2.159.
2. Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors and Jak2 mutation status. *Blood.* 2007;109(6):2310–3. doi: 10.1182/blood-2006-09-046342.
3. Гусева С.А., Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М., Гончаров Я.П. Истинная полицитемия. Киев, СПб.: Логос, 2009. 405 с. [Guseva SA, Bessmel'tsev SS, Abdulkadyrov KM, Goncharov YaP. Istin'naya politsitemiya. (Polycythemia vera.) Kiev, Saint Petersburg: Logos Publ.; 2009. 405 p. (In Russ)]
4. Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V, et al. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica.* 2007;92(1):135–6. doi: 10.3324/haematol.10634.
5. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2 V617F allele burden. *Leukemia.* 2007;21(9):1952–9. doi: 10.1038/sj.leu.2404854.
6. Besses C, Cervantes F, Pereira A, et al. Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia.* 1999;13(2):150–4. doi: 10.1038/sj.leu.2401270.
7. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med.* 2004;117(10):755–61. doi: 10.1016/j.amjmed.2004.06.032.
8. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med.* 2013;368(1):22–33. doi: 10.1155/2011/794240.
9. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, et al. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *N Engl J Med.* 1980;302(18):992–5. doi: 10.1056/nejm198005013021803.

10. Wautier JL, Paton RC, Wautier MP, et al. Increased adhesion of erythrocytes to endothelial cells in diabetes mellitus and its relation to vascular complications. *N Engl J Med*. 1981;305(5):237–42. doi: 10.1056/nejm198107303050501.
11. Wautier MP, El Nemer W, Gane P, et al. Increased adhesion to endothelial cells of erythrocytes from patients with polycythemia vera is mediated by laminin alpha5 chain and Lu/BCAM. *Blood*. 2007;110(3):894–901. doi: 10.1182/blood-2006-10-048298.
12. Falanga A, Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012(1):571–81.
13. Goette NP, Lev PR, Heller PG, et al. Monocyte IL-2Ralpha expression is associated with thrombosis and the JAK2V617F mutation in myeloproliferative neoplasms. *Cytokine*. 2010;51(1):67–72. doi: 10.1016/j.cyto.2010.04.011.
14. Jensen MK, De NullyBrown P, Lund BV, et al. Increased platelet activation and abnormal membrane glycoprotein content and redistribution in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 2000;110(1):116–24. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.02030.x.
15. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, et al. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica*. 2006;91(2):169–75.
16. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *ACC Curr J Rev*. 2004;13(4):4–10. doi: 10.1016/j.accreview.2004.03.074.
17. Abdulkarim K, Ridell B, Johansson P, et al. The impact of peripheral blood values and bone marrow findings on prognosis for patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur J Haematol*. 2011;86(2):148–55. doi: 10.1111/j.1600-0609.2010.01548.x.
18. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Initial bone marrow reticulin fibrosis in polycythemia vera exerts an impact on clinical outcome. *Blood*. 2012;119(10):2239–41. doi: 10.1182/blood-2011-11-393819.
19. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. *J Clin Oncol*. 2011;29(23):3179–84. doi: 10.1200/jco.2010.34.5298.
20. Vaidya R, Gangat N, Jimma T, et al. Plasma cytokines in polycythemia vera: phenotypic correlates, prognostic relevance, and comparison with myelofibrosis. *Am J Hematol*. 2012;87(11):1003–5. doi: 10.1002/ajh.23295.
21. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al. Vascular and Neoplastic Risk in a Large Cohort of Patients With Polycythemia Vera. *J Clin Oncol*. 2005;23(10):2224–32. doi: 10.1200/jco.2005.07.062.
22. Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. *Ann Intern Med*. 1995;123(9):656–64. doi: 10.7326/0003-4819-123-9-199511010-00003.
23. Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood*. 2011;117(22):5857–9. doi: 10.1182/blood-2011-02-339002.
24. Stein BL, Saraf S, Sobol U, et al. Age-related differences in disease characteristics and clinical outcomes in polycythemia vera. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(9):1989–95. doi: 10.3109/10428194.2012.759656.
25. Giona F, Teofili L, Moleti ML, et al. Thrombocythemia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood*. 2012;119(10):2219–27. doi: 10.1182/blood-2011-08-371328.
26. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood*. 2007;110(3):840–6. doi: 10.1182/blood-2006-12-064287.
27. Alvarez-Larran A, Cervantes F, Bellosillo B, et al. Essential thrombocythemia in young individuals: frequency and risk factors for vascular events and evolution to myelofibrosis in 126 patients. *Leukemia*. 2007;21(6):1218–23. doi: 10.1038/sj.leu.2404693.
28. Wolansky AP, Schwager SM, McClure RF, et al. Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(2):159–66. doi: 10.4065/81.2.159.
29. Cervantes F, Alvarez-Larran A, Arellano-Rodrigo E, et al. Frequency and risk factors for thrombosis in idiopathic myelofibrosis: analysis in a series of 155 patients from a single institution. *Leukemia*. 2006;20(1):55–60. doi: 10.1038/sj.leu.2404048.
30. Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, et al. Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood*. 2010;115(4):778–82. doi: 10.1182/blood-2009-08-238956.
31. Gangat N, Wolansky AP, Tefferi A. Abdominal vein thrombosis in essential thrombocythemia: prevalence, clinical correlates, and prognostic implications. *Eur J Haematol*. 2006;77(4):327–33. doi: 10.1111/j.1600-0609.2006.00715.x.
32. De Stefano V, Fiorini A, Rossi E, et al. Incidence of the JAK2 V617F mutation among patients with splanchic or cerebral venous thrombosis and without overt chronic myeloproliferative disorders. *J Thromb Haemost*. 2007;5(4):708–14. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02424.x.
33. Landolfi R, Di Gennaro L, Nicolazzi MA, et al. Polycythemia vera: gender-related phenotypic differences. *Int Emerg Med*. 2011;7(6):509–15. doi: 10.1007/s11739-011-0634-3.
34. Grandone E, Colaizzo D, Tiscia GL, et al. Venous thrombosis in oral contraceptive users and the presence of the JAK2 V617F mutation. *Thromb Haemost*. 2008;99(3):640–2. doi: 10.1160/th07-09-0570.
35. Капустин С.И., Кармацкая И.И., Дрижун Ю.С. и др. Опыт диагностики наследственных факторов риска тромбоза у больных истинной полицитемией. *Вестник гематологии*. 2011;4:25–6.
- [Капустин СИ, Кармацкая ИИ, Дрижун ЮС, et al. Experience in diagnosing of hereditary thrombosis risk factors in patients with polycythemia vera. *Vestnik gematologii*. 2011;4:25–6. (In Russ)]
36. Капустин С.И., Шмелева В.М., Сидорова Ж.Ю. и др. Молекулярные детерминанты наследственной тромбофилии: современное состояние и перспективы генодиагностики (обзор литературы). *Вестник гематологии*. 2011;VII(4):84–90.
- [Капустин СИ, Шмелева ВМ, Сидорова ЖЮ, et al. Molecular determinants of hereditary thrombophilia: present state and perspectives of genetic diagnostics (literature review). *Vestnik gematologii*. 2011;VII(4):84–90. (In Russ)]
37. Bick R., Kaplan H. Syndromes of thrombosis and hypercoagulability: congenital and acquired thrombophilias. *Clin Appl Thromb Hemost*. 1998;4(1):25–50. doi: 10.1177/107602969800400106.
38. O'Shaughnessy D, Markis M, Lillicap D, eds. *Practical hemostasis and thrombosis*. Oxford: Blackwell Publishing; 2005. pp. 224. doi: 10.1002/9780470988633.
39. Khan S, Dickerman JD. Hereditary thrombophilia. *Thromb J*. 2006;4(1):15. doi: 10.1186/1477-9560-4-15.
40. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood*. 2000;95(5):1517–32.
41. Honda S, Honda Y, Baer B, et al. The impact of three-dimensional structure on the expression of P1A alloantigens on human integrin beta 3. *Blood*. 1995;86(1):234–42.
42. Капустин С.И., Салтыкова Н.Б., Каргин В.Д. и др. Генетические факторы риска тромбоза легочной артерии у больных с тромбозом глубоких вен. *Клинико-лабораторный консилуим*. 2007;16:56–60.
- [Капустин СИ, Салтыкова НБ, Каргин ВД, et al. Genetic factors of risk of pulmonary embolism in patients with deep vein thrombosis. *Kliniko-laboratornyi konsilium*. 2007;16:56–60. (In Russ)]
43. Undas A, Brozek J, Szczeklik A. Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence. *Thromb Haemost*. 2005;94(5):907–15. doi: 10.1160/th05-05-0313.
44. Tevet M, Ionescu R, Dragan C, et al. Influence of the JAK2 V617F Mutation and Inherited Thrombophilia on the Thrombotic Risk among Patients with Myeloproliferative Disorders. *J Clin Med*. 2015;10(1):27–32.
45. Gisslinger H, Mullner M, Pabinger I, et al. Mutation of the prothrombin gene and thrombotic events in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia: a cohort study. *Haematologica*. 2005;90(3):408–10.
46. De Stefano V, Za T, Rossi E, et al. Influence of the JAK2 V617F mutation and inherited thrombophilia on the thrombotic risk among patients with essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2009;94(5):733–7. doi: 10.3324/haematol.13869.
47. Kreher S, Ochseneither S, Trappe RU, et al. Prophylaxis and management of venous thromboembolism in patients with myeloproliferative neoplasms: consensus statement of the Haemostasis Working Party of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), the Austrian Society of Hematology and Oncology (OGHO) and Society of Thrombosis and Haemostasis Research (GTH e.V.). *Ann Hematol*. 2014;93(12):1953–63. doi: 10.1007/s00277-014-2224-8.
48. Casini A, Fontana P, Lecompte TP. Thrombotic complications of myeloproliferative neoplasms: risk assessment and risk-guided management. *J Thromb Haemost*. 2013;11(7):1215–27. doi: 10.1111/jth.12265.
49. Stefano V, Za T, Rossi E, et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica*. 2008;93(3):372–80. doi: 10.3324/haematol.12053.