

## **Роль генетического полиморфизма компонентов плазменного звена гемостаза в патогенезе венозного тромбоза (обзор литературы)**

Демьяненко А.В.<sup>1</sup>, Капустин С.И.<sup>2</sup>, Сорока В.В.<sup>1</sup>, Чечулов П.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

### **Контактное лицо:**

Демьяненко Анна Васильевна, e-mail: anna832004@list.ru, тел.: +7 (931) 318 17 75.

### **РЕЗЮМЕ:**

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоз легочной артерии (ТЭЛА) остаются серьезной проблемой здравоохранения с ежегодной частотой 1 на 1000 случаев. Венозный тромбоз (ВТЭ) - это типичное многофакторное заболевание, в основе которого лежит наследственная предрасположенность, или тромбофилия. На сегодняшний день к наследственным тромбофилиям относят дефицит естественных антикоагулянтов (ЕА) – антитромбина III, протеинов C и S, а также мутации в генах факторов V Leiden и протромбин G20210A. Однако анализ симптоматических семей и пациентов с идиопатическим ВТЭ не выявляет данные нарушения более чем в 50% случаях, что свидетельствует о причастности других наследственных факторов к патогенезу заболевания.

Цель настоящего обзора – синтезировать и представить накопленные в литературе данные о роли генетического полиморфизма компонентов плазменного звена гемостаза в патогенезе ВТЭ. В качестве материалов были использованы более 50 оригинальных и обзорных научных статей, мета-анализов, посвященных данной проблеме, отечественных и зарубежных авторов, цитируемых в базах данных Medline, PubMed.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** венозный тромбоз, фактор риска, наследственная тромбофилия

## **Genetic polymorphism of soluble haemostatic factors in the pathogenesis of venous thromboembolism**

Demyanenko A.V.<sup>1</sup>, Kapustin S.I.<sup>2</sup>, Soroka V.V.<sup>1</sup>, Chechulov P.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Emergency research institute named after I.I. Dzhanelidze, St. Petersburg

<sup>2</sup>Russian research institute of hematology and transfusiology, St. Petersburg

### **ABSTRACT:**

The frequency of occurrence of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE) is about 1 in 1000 annually. Venous thromboembolism (VTE) is a multifactor disease with the underlying genetic defects so called thrombophilia. Based on the recent research, genetic factors with increased risk of VTE development include deficiencies of natural anticoagulants (protein C, protein S, antithrombin III) and mutations in the factor V (FV Leiden) and prothrombin (FII G20210A) genes. Notably, the careful analysis of patients with VTE and their relatives couldn't find these mutations in more than 50% of family cases. This fact reflects the presence of other thrombophilic conditions underlying a large proportion of VTE episodes.

The main goal of this article is to analyze and represent the information from different literary sources about the role of genetic polymorphism of the soluble haemostatic factors in VTE pathogenesis. We provide a systematic review of more than 50 original articles and meta-analyses cited in Medline and PubMed that focus on this problem.

**Key words:** venous thrombosis, risk factor, inherited thrombophilia

### **Патогенез венозного тромбоза и понятие “тромбофилии”**

Несмотря на значительный прогресс в современной медицине, венозные тромбозы остаются актуальной проблемой здравоохранения и характеризуются высоким уровнем заболеваемости, смертности и материальных затрат на их лечение. Еще в 1846 г. Virchow R.K. предположил связь между тромбозом глубоких вен нижних конечностей (ТГВ) и тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) [1]. Но только в последние десятилетия эти два понятия стали рассматривать в концепции единого причинно-следственного процесса, объединив термином «венозный тромбоземболизм» (ВТЭ). Общая заболеваемость ВТЭ, по данным Heit J.A., остается высокой и составляет 1:1000 населения в год [2]. В Российской Федерации показатели заболеваемости ВТЭ, инвалидизации и смертности от тромботических эпизодов, к сожалению, остаются одними из самых высоких в Европе [3]. В поисках этиопатогенетических причин ВТЭ в литературе описано несколько теорий тромбогенеза, в том числе, теории воспаления и наследственной предрасположенности [4, 5]. На сегодняшний день, общепринятой является концепция многофакторного патогенеза ВТЭ, предполагающая как наличие внешних, или приобретенных, факторов риска заболевания (операция, травма, эстрогены, беременность, онкология, иммобилизация и проч.), так и влияние индивидуальных особенностей пациента (наследственные факторы риска) [4].

Еще в 1856 году Virchow R.K. описал три основных патологических процесса, лежащих в основе тромбогенеза: 1) повреждение эндотелия (эндотелиальная дисфункция); 2) снижение скорости кровотока (венозный стаз); 3) повышенная свертываемость крови (гиперсвертываемость, или тромбофилия) [6]. Другими словами, тромбообразование – это последовательно связанная цепь патологических реакций, которая начинается с повреждения эндотелия и активации коагуляционного каскада в областях со сниженной скоростью кровотока. Аутопсии и флебографии стали прямым доказательством того, что тромбоз чаще всего начинает формироваться на клапанах глубоких вен [7]. Прекращение при этом оттока активированных факторов свертывания и притока их ингибиторов провоцируют гипоксию и увеличение гематокрита, что способствует формированию потенциально гиперкоагуляционной микросреды. Однако венозный стаз сам по себе не является достаточным объяснением повышенной склонности к формированию тромбоза в синусах глубоких вен. Например, длительный стаз и резкое замедление кровотока во время сна в норме не приводит к тромбозу. Следовательно, существуют другие факторы,

которые в совокупности с замедлением кровотока могут спровоцировать развитие тромботического эпизода [8].

Предположения о возможной роли наследственного фактора в развитии венозного тромбоза возникли еще в середине XX-го века, когда были описаны случаи обнаружения семейной кластеризации данной патологии [9]. В связи с этим, в литературе появился термин “наследственная тромбофилия” (англ. – inherited thrombophilia), изначально использовавшийся в отношении только таких “семейных” случаев ВТЭ [9]. Однако вскоре рядом авторов было сделано предположение о наличии генетической составляющей в патогенезе значительно большей части эпизодов ВТЭ, и, более того, были приняты попытки разработать клинические критерии наличия наследственной тромбофилии (НТ) у пациента [10, 11]. Среди признаков, указывающих на возможное наличие НТ у пациента с ВТЭ, чаще всего упоминаются положительный семейный анамнез, ранний дебют заболевания, его идиопатический характер или/и рецидивирующее течение [12]. На определенный момент времени, когда методы лабораторного подтверждения наследственного характера заболевания отсутствовали, данные критерии имели большое значение. И сегодня ряд исследователей предлагают использовать такой перечень клинических ситуаций, косвенно указывающих на возможное наличие генетического фактора риска, для диагностики НТ (табл. 1) [12, 13]. Тем не менее, на современном этапе возможным и обязательным является установление молекулярной причины “тромбофилического статуса” индивида с помощью различных методов оценки состояния системы гемостаза, в том числе, генетических.

Таблица 1 . Клинические критерии наличия наследственной тромбофилии.

Первый эпизод неспровоцированного ВТЭ в молодом возрасте (до 45 лет)
Рецидивирующий ВТЭ
ВТЭ в необычных венозных сегментах (церебральные синусы, брыжеечные, печеночные вены и т.д.)
ВТЭ во время беременности или в послеродовом периоде
ВТЭ, связанный с использованием эстрогенсодержащих пероральных контрацептивов или заместительной гормональной терапией (ЗГТ)
Варфарин-индуцированный некроз кожи

Еще в середине XX-го века первостепенная роль системы гемостаза в поддержании физиологического состояния циркулирующего кровяного потока предопределила повышенный интерес к ее изучению с целью поиска факторов риска тромбоза в венозном русле. С тех пор, как Egeberg O. в 1965 г. впервые описал дефицит антитромбина как причину семейной тромбофилии, количество дефектов факторов свертывания, причастных к риску развития венозного тромбоза, значительно увеличилось [9, 14]. Сегодня принято считать, что именно гиперкоагуляционный статус индивида, развивающийся вследствие дисбаланса про- и антитромботических факторов системы гемостаза, лежит в основе подавляющего большинства случаев ВТЭ [15, 16]. А таким классическим приобретенным факторам риска ВТЭ, как операция, травма, эстрогены, беременность, онкология, иммобилизация и т.д., сегодня, как правило, отводится роль лишь провоцирующего воздействия, способствующего реализации тромбофилического статуса индивида. Роли компонентов плазменного звена гемостаза в патогенезе ВТЭ традиционно уделяется особое внимание, поэтому изучение полиморфизма этих генов нам представляется весьма интересным и перспективным.

На сегодняшний день не существует единой классификации тромбофилических факторов, условно их принято разделять по этиологии на первичные (наследственные) и вторичные (приобретенные) [17, 18]. Большинство исследователей к числу наследственных тромбофилических состояний относят лишь дефицит естественных антикоагулянтов (антитромбина III, протеинов C и S), а также мутации в генах факторов V (G1691A, Лейденская мутация) и II (G20210A). Мнение же о причастности к развитию ВТЭ множества других качественных или количественных дефектов системы гемостаза остается спорным [19]. Роль полиморфизма некоторых генов компонентов плазменного звена гемостаза в тромбогенезе отражена в таблице 2.

Таблица 2. Роль генетического полиморфизма плазменных факторов гемостаза в тромбогенезе.

Фактор свертывания	Полиморфизм	Молекулярный механизм тромбообразования	Функциональная значимость полиморфизма
FI, $\alpha$ -субъединица	Thr312Ala	Формирование и стабилизация фибринового сгустка	Увеличение фактором XIII поперечных связей между нитями фибрина
FI, $\beta$ -субъединица	-455 G/A	Формирование фибринового	Увеличение

		сгустка	концентрации фибриногена/фибрина в плазме
FII (протромбин)	20210 G/A	Конверсия фибриноген в фибрин, активация факторов V, VII, VIII, XI, XIII, тромбоцитов	Увеличение уровня протромбина/тромбина в плазме
FV	1691 G/A	Неконтролируемый синтез тромбина вследствие резистентности фактора V к инактивации протеином C	Устойчивость фактора V к протеолизу под действием протеина C (АПС-резистентность)
FXII	46 C/T	Снижение активности фибринолиза вследствие недостаточной конверсии плазминогена в плазмин	Снижение уровня и активности плазменного FXII (фактора Хагемана)
FXIII, А-субъединица	Val34Leu	Стабилизация и формирование структуры фибринового сгустка	Увеличение активации FXIII тромбином, изменение кинетики сшивания мономеров фибрина
ЕРСR	6936 A/G (Ser219Gly)	Снижение антикоагулянтной активности протеина C	Повышение уровня sЕРСR в плазме
РАI-1	-675 4G/5G	Снижение активности фибринолиза вследствие инактивации tРА и урокиназы	Увеличение уровня РАI-1 в плазме
tРА	311 bp I/D	Снижение активности фибринолиза вследствие недостаточной конверсии плазминогена в плазмин	Снижение уровня и активности tРА

### Классические формы наследственной тромбофилии

Отличительной особенностью классических форм наследственной тромбофилии (НТ) является довольно высокая пенетрантность с эпизодами ВТЭ в популяции, обнаруженная при изучении семейных случаев заболевания. К таким формам относят, как

было сказано ранее, дефицит естественных антикоагулянтов (антитромбина III, протеинов C и S) и мутации в генах факторов V (G1691A, Лейденская мутация) и II (G20210A) [19].

### *Дефицит антитромбина III*

Антитромбин, естественный антикоагулянт, принадлежит к семейству ингибиторов сериновых протеаз, или серпинов (англ. – serpin, serine protease inhibitor). Его главной мишенью является тромбин, а также активированные формы факторов IX, X, XI и XII. Дефицит антитромбина (АТ) – первая из известных форм наследственной тромбофилии. В зависимости от уровня антигена АТ в плазме и его активности, различают три типа дефицита этого белка. К настоящему времени идентифицировано более 250 различных мутаций в гене АТ. Большинство из них являются миссенс-мутациями, т.е. приводят к замене в аминокислотной последовательности белка и дефициту этого ЕА [20]. До сих пор в литературе не было описано ни одного случая гомозиготного носительства дефицита антитромбина. Теоретически можно предположить, что полное его отсутствие несовместимо с жизнью. Данная гипотеза подтверждается фатальным фенотипом мышей, не имеющих в генотипе аналогичного гена [21]. Гетерозиготное носительство дефицита антитромбина также довольно редко встречается в общей популяции (~ 0,02%). Оно связано примерно с 10-кратным увеличением риска развития тромбозов и присутствует у 1-2% больных с ВТЭ [20].

### *Дефицит протеина С*

Протеин С (ПС) активируется на поверхности эндотелиальных клеток посредством взаимодействия с комплексом, состоящим из тромбина, тромбомодулина и рецептора ПС. Активированный протеин С (АПС), (англ. – activated protein C, APC), обладает антикоагулянтными свойствами благодаря его способности к специфическому протеолизу факторов Va и VIIIa, участвующих в генерации тромбина. Важным неэнзиматическим кофактором этих реакций служит протеин S. Выделяют 2 типа дефицита протеина С: при типе I наблюдается одновременное снижение уровня антигена ПС в плазме и его функциональной активности; при типе II происходит уменьшение лишь активности этого ЕА. Известно более 150 различных мутаций этого гена, приводящих к феномену дефицита ПС, большинство из них, как и в случае АТ, являются миссенс-мутациями [22]. Было показано, что гомозиготное носительство дефицита протеина С приводит к массивным

тромбозам микроциркуляторного русла, вызывающих фульминантные некрозы кожи у новорожденных. Таким образом, гомозиготные носители мутаций в гене ПС часто погибают в неонатальном периоде. Гетерозиготное носительство дефицита ПС наблюдается в популяции с частотой в среднем 0,2-0,5% и ассоциировано с 8-10-кратным риском развития ВТЭ [22].

### *Дефицит протеина S*

Как и ПС, протеин S относится к числу витамин K-зависимых белков. Помимо участия в качестве неферментативного кофактора в процессе АПС-опосредованной протеолитической деградации активных форм факторов V и VIII, протеин S обладает самостоятельной антикоагулянтной функцией за счет его прямого взаимодействия с факторами Va и Xa. В нормальных физиологических условиях около 60% от всего количества протеина S в плазме находится в связанной форме, однако антикоагулянтными свойствами обладает лишь несвязанная форма протеина S (“свободный протеин S”). Различают три типа дефицита протеина S: тип I характеризуется низким уровнем как свободного, так и общего протеина S; при типе II отмечается снижение функциональной активности протеина S на фоне нормальных уровней общего и свободного белка (качественный дефект); тип III характеризуется низким уровнем свободного, но нормальным содержанием общего протеина S. Идентифицировано более 150 различных мутаций гена протеина S (PROS1), подавляющее большинство из которых приводят к дефициту типа I или III. Миссенс-мутации составляют примерно 60% от общего числа известных аномалий гена PROS1 [23]. Фенотипически дефицит протеина S обычно проявляется венозными тромбозами различной локализации, чаще всего – глубоких вен нижних конечностей и/или тромбоэмболией легочной артерии, реже – в других венозных бассейнах, с увеличением риска заболевания приблизительно в 5-10 раз [23]. Кроме того, у лиц с дефицитом протеина S повышен риск возникновения артериальных тромбозов (острого инфаркта миокарда, ишемического инсульта), особенно, в молодом возрасте [24].

### *Полиморфизм фактора V G1691A (Лейденская мутация)*

Фактор V (FV), или лабильный фактор, является гликопротеином плазмы крови. В отличие от большинства факторов свертывания крови, FV не имеет ферментативной активности. Активированная форма фактора V (FVa) выступает в качестве кофактора для преобразования протромбина в тромбин активированным фактором X. Активация FV



осуществляется тромбином в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , а его инактивация происходит под действием активированного протеина С (АПС) [25]. Ген фактора V находится на 1-й хромосоме, в локусе 1q-21-25, охватывает более 80 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.) и содержит 25 экзонов [25]. Лейденская мутация в гене фактора V (FV Leiden) заключается в замене гуанина на аденин в позиции 1691 (G1691A), что приводит к замене аргинина на глутамин в позиции 506 (Arg506Gln) аминокислотной последовательности белка (Рис. 2). В результате этой мутации образуется вариант фактора V (FV Leiden), устойчивый к расщеплению под действием АПС и сохраняющий, таким образом, свою активность. Данный феномен, являющийся наиболее частой причиной гиперкоагуляционного статуса индивида, получил название “АПС-резистентности” [10]. В исследовании Svensson P.J. et al. было установлено, что частота АПС-резистентности достаточно высока, как у пациентов с ВТЭ (20% - 60%), так и в группе здорового населения (5% - 10%) [26].

В ряде исследований было показано, что мутация FV Leiden не является фактором риска артериальных тромбозов [27]. Высокая распространенность этой мутации в большинстве популяционных групп европеоидной расы позволила некоторым авторам сделать предположение о том, что ее наличие предоставляло на ранних этапах развития человечества определенное преимущество в выживании. Было показано, что у носителей FV Leiden снижен риск развития массивного кровотечения после родов, что обеспечивает эволюционное преимущество [28]. С другой стороны, повышенный риск ВТЭ связанный с этой мутацией, вероятно, не влияет на выживаемость популяции в целом, поскольку тромбоз обычно развивается у лиц старшего и пожилого возраста и, таким образом, не отражается на фертильности. Гетерозиготы по варианту FV Leiden имеют пожизненное состояние гиперкоагуляции, связанное примерно с 5-кратным увеличением риска венозного тромбоза. Еще более высоким риском развития ВТЭ (по разным данным, 20-80-кратным) характеризуются гомозиготные носители данной мутации [19].

Большинство клинических исследований свидетельствуют о парадоксальном явлении: ТЭЛА среди симптоматических носителей FV Leiden встречается в два раза реже, чем у больных с нормальным генотипом фактора V [29]. Одним из возможных объяснений этому может быть формирование более плотного тромба у лиц с Лейденской мутацией, что обуславливает снижение вероятности его отрыва и флотации. Сторонники другой гипотезы предполагают, что данная мутация влияет на локализацию тромба и способствует более дистальному его расположению, что было подтверждено в нескольких исследованиях [30]. Напротив, тромбоэмболические осложнения, как было показано

многими авторами, характерны, в основном, для проксимальных тромбозов [31]. Однако, van Stralen K.J. et al., вопреки преобладающему мнению, сообщили о повышенном риске проксимального, нежели чем дистального, ТГВ при гетерозиготном носительстве FV Leiden [29]. Вопрос об увеличении риска рецидива ВТЭ у больных с Лейденской мутацией также остается спорным. Многие исследователи указывают на наличие такого риска, хотя и считают его незначительным [32].

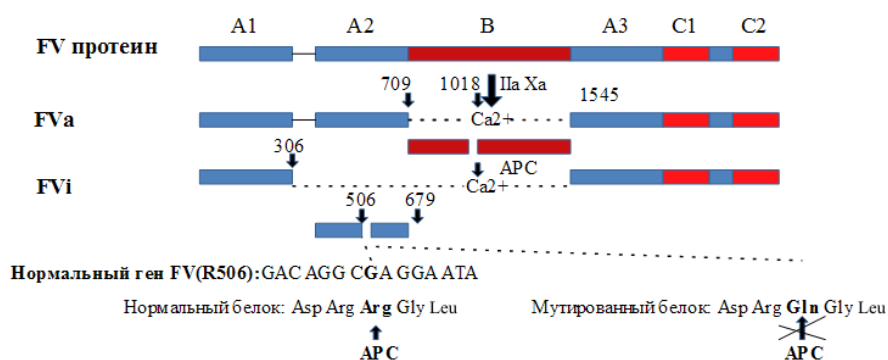


Рис. 2. Механизмы активации и деградации фактора V FV Leiden.

### Полиморфизм фактора II (протромбин G20210A).

Протромбин является витамин К-зависимым гликопротеином и синтезируется в печени в виде неактивного зимогена. Переход протромбина в тромбин осуществляется на фосфолипидных мембранах под воздействием активированных факторов Ха и Va в присутствии ионов кальция. Активированный фермент тромбин играет важную роль в механизмах гемостаза и тромбоза: он преобразует фибриноген в фибрин с дальнейшим образованием кровяного сгустка, стимулирует агрегацию тромбоцитов и активирует факторы свертывания V, VII, VIII, XI и XIII. Тромбин также ингибирует коагуляцию путем активации протеина С [33]. Ген протромбина полностью секвенирован, он находится на 11 хромосоме вблизи центromеры, 11p11-q12. Ген состоит из 26929 нуклеотидных пар и кодирует 14 экзонов, разделенных 13 интронами [34]. Мутация гена протромбина G20210A находится в 3'-нетранслируемой области гена протромбина, характеризуется заменой нуклеотида гуанин (G) на аденин (A) в позиции 20210 и, таким образом, не изменяет структуру молекулы протромбина (Рис.3). Однако мутация связана с увеличением уровня протромбина в плазме, который может быть в 1,5–2,0 раза выше, чем в норме. Это приводит к пожизненному состоянию гиперкоагуляции, что связано примерно с 3-4-кратным увеличением риска развития венозного тромбоза [35].

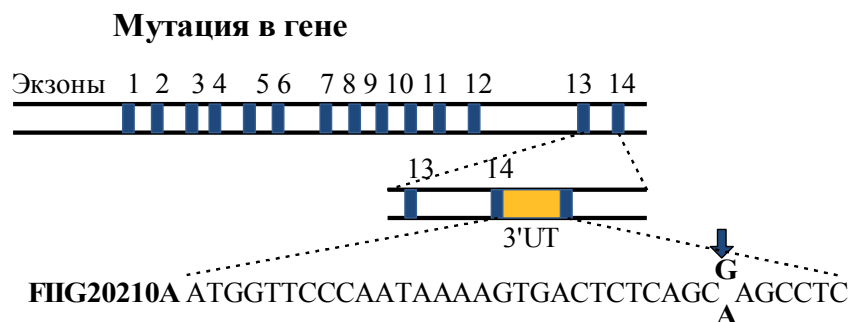


Рис. 3. Локализация мутации G20210A в гене протромбина (фактора II).

Мутация G20210A в гене протромбина выявляется у 2-4% здоровых людей и у 6-8% больных с венозным тромбозом [36]. Гомозиготное носительство встречается редко и, как представляется, не связано с более высоким риском развития ВТЭ. По данным Martinelli I. et al., среди пациентов с ТГВ гетерозиготные носители FII G20210A имеют значительно большую вероятность развития ТЭЛА (32%), чем носители мутации FV Leiden (19%) или же пациенты без тромбофилии (17%). Авторы показали, что гетерозиготное носительство варианта FII G20210A приводит к увеличению риска развития “изолированной” ТЭЛА, т.е. при отсутствии клинико-инструментальных признаков ТГВ [37].

Для лиц с мутацией в гене протромбина характерно рецидивирующее течение ВТЭ. Исследование Miles J.S. et al. обнаружило 2-5-кратное увеличение риска повторных тромботических эпизодов в последующие 7-10 лет у больных ВТЭ с генотипом FII G20210A [38]. По данным Prandoni P. et al., несмотря на антикоагулянтную терапию, риск возникновения рецидива тромбоза у пациентов с мутацией в гене фактора II сохраняется и увеличивается в 2 раза после окончания лечения [39]. Однако в крупнейшем исследовании LITE не было обнаружено существенного увеличения риска повторных эпизодов ВТЭ у лиц с вариантом FII G20210A [40]. Кроме того, по данным мета-анализа, проведенного Segal J.V. et al., сочетанное наследование мутаций в генах факторов II и V имеет синергичный эффект в манифестации ВТЭ и приводит почти к пятикратному увеличению риска рецидива заболевания [32].

### “Мультигенная” форма наследственной тромбофилии

Помимо классических детерминант наследственной тромбофилии, существует большое количество протромбогенных вариантов генов компонентов плазменного звена гемостаза, отдельное носительство которых несет слабый самостоятельный риск ВТЭ. Однако их полигенное наследование способствует синергичному эффекту, а при воздействии дополнительных приобретенных факторов риска может приводить к манифестации заболевания. В связи с тем, что на сегодняшний день известны далеко не все причины генетической предрасположенности к ВТЭ, объективно оценить частоту встречаемости “мультигенной” формы тромбофилии пока не представляется возможным.

### *Полиморфизм фактора I (F1, фибриноген)*

Фибриноген играет исключительную роль в механизме свертывания крови, представляя собой единственный субстрат, из которого под действием протеолитического фермента тромбина возникает волокнистая сеть фибрина - материальная основа тромба. Фибриноген является одним из наиболее крупных гликопротеинов плазмы крови с молекулярной массой около 34 кДа, имеет форму гексамера и состоит из трех пар неодинаковых полипептидных цепей (Аа, Вв и s), соединенных пептидными и дисульфидными связями. А-субъединица содержит 610 аминокислотных остатков, В-субъединица - 461, а s- субъединица - 411. Три вида полипептидных цепей кодируются тремя отдельными генами, которые расположены на одной и той же хромосоме (локус 4q23-q32) в последовательности s→Аа→Вв. Альфа- и бета-субъединицы фибриногена кодируются генами FGA и FGB соответственно [41].

Полиморфизм Thr312Ala  $\alpha$ -цепи фибриногена характеризуется заменой аминокислоты треонин (Thr) на аланин (Ala) в позиции 312, что способствует усиленному образованию поперечных связей между нитями фибрина под действием фактора XIII. Это приводит к формированию более толстых волокон фибрина и, таким образом, влияет на структуру тромба и его свойства [42]. Данный вариант гена не связан с увеличением концентрации  $\alpha$ -фибриногена плазмы, а приводит к изменению его функций [43]. Участие полиморфизма Thr312Ala фактора I в патогенезе ВТЭ подтверждается в многочисленных исследованиях. Так, Gohil R. et al. в своем мета-анализе продемонстрировали достоверную связь ВТЭ с носительством данной мутации у лиц европеоидной расы (OR=1,37; 95% CI: 1,14 – 1,64, p=0,0008). К подобным выводам приходят и другие авторы [44, 45]. Группа ученых из Великобритании продемонстрировала в своем исследовании, что изменение

функций  $\alpha$ -фибриногена у носителей варианта FI Thr312Ala провоцирует формирование тромбоземболических осложнений [46].

Полиморфизм  $-455G/A$   $\beta$ -цепи фибриногена находится в 5'-промоторной области гена  $\beta$ -цепи фибриногена (FGB), связана с повышением экспрессии гена и увеличением уровня фибриногена в плазме крови, по разным источникам до 30 % [47, 48]. Повышенный уровень фибриногена считается значимым предиктором артериальных тромбозов, приводящим к таким сосудистым катастрофам, как острый коронарный синдром и нарушение мозгового кровообращения [49]. Таким образом, основная часть исследований посвящена изучению роли этого полиморфизма в предрасположенности к развитию артериального тромбоза, а участие мутации FI  $-455G/A$  в риске венозного тромбообразования изучено в меньшей степени. Некоторые исследования показали, что увеличение концентрации фибриногена в плазме под влиянием мутации FI  $-455G/A$  не приводит к увеличению риска ВТЭ, а, напротив, данный вариант предупреждает развитие заболевания. Так в исследовании Tiedje V. et al. не было выявлено достоверной связи между риском ВТЭ и наличием данного полиморфизма (HR=0,77, 95%CI: 0,49–1,19; p=0,24) [50], тогда как другие авторы, указывают на протективные свойства аллеля  $-455A$  [44].

#### *Полиморфизм 46 C/T фактора XII (фактор Хагемана)*

Фактор XII свертывания крови (FXII) относится к классу сериновых протеаз (или серин-эндопептидаз). Активированный FXIIa участвует в инициации внутреннего пути свертывания крови, фибринолиза и калликреин-кининовой системы, активирует VII и XI факторы свертывания. Зрелая молекула FXII представлена одной полипептидной цепью из 596 аминокислотных остатков с массой около 8 кДа. Фактор Хагемана кодируется одним геном, который картирован в локусе 5q33-qter, состоит из 14 экзонов и 13 интронов [41].

Полиморфизм 46 C/T в гене фактора FXII характеризуется заменой цитозина (C) на тимин (T) в позиции 46 в 1-ом экзоне. Этот нуклеотидный полиморфизм, локализованный в 5'-нетранслируемой области, ассоциирован со снижением уровня и активности плазменного FXII. Дефицит FXII приводит к нарушению фибринолиза и, как следствие, к риску развития тромбоза [51]. Однако мнения о значимости полиморфизма FXII 46 C/T в механизме венозного тромбообразования остаются спорными. Одни авторы указывают на значительный риск ВТЭ при гомозиготном носительстве аллеля 46T (OR=6,0; 95%CI: 2,1-

17,3,  $p=0,001$ ) [52], в то время как другие такой достоверной связи не обнаруживают ( $OR=2,0$ ; 95% CI: 0,9-4,4,  $p=0,11$ ) [53].

#### *Полиморфизм Val34Leu А-субъединицы фактора XIII (Мутация G163T)*

Фактор XIII, или фибрин-стабилизирующий фактор, принадлежит к семейству трансглутаминаз. Он циркулирует в плазме в виде профермента и состоит из двух А-цепей (каталитических) и двух В-цепей (транспортных), соединенных нековалентными связями в тетрамер. Фактор XIII активируется последним в коагуляционном каскаде посредством тромбина в присутствии ионов  $Ca^{2+}$ , участвует в формировании поперечных сшивок, которые стабилизируют фибрин, и способствует ограничению роста тромба путем регуляции адгезии тромбоцитов к фибрину [54]. Цепи А и В фактора XIII кодируются разными генами: ген субъединицы А картирован на хромосоме 6p24-p25, ген цепи В - на 1-ой хромосоме (1q31-q32.1) [55]. Результаты исследования Agilns R.A. et al. показали, что полиморфизм FXIII Val34Leu приводит к изменению аминокислотной последовательности рядом с сайтом расщепления А-субъединицы фактора XIII тромбином [56]. Предполагают, что такая близость к активному сайту может изменять скорость активации FXIII и, как следствие, модифицировать кинетику сшивания фибриновых нитей, влияя на стабилизацию фибринового сгустка [56]. При этом количество фибринстабилизирующего фактора соответствует показателям нормы, но его активность повышена в 2-3 раза. С помощью электронной микроскопии было показано, что для варианта фактора XIII, содержащего 34Leu, характерно образование более тонких фибриновых волокон и менее пористая структура сгустка, чем в случае “нормального” варианта Val/Val [56].

В связи с разноречивостью мнений, огромный интерес вызывают исследования, посвященные изучению связи полиморфизма FXIII Val34Leu с риском ВТЭ. Парадокс заключается в том, что патофизиологический механизм данной мутации противоречит выводам большинства авторов, сообщающих о протективных свойствах данного варианта по отношению к венозному тромбозу. Так в своем исследовании de la Red G. Et al. показали, что аллель 34Leu снижает риск ВТЭ ( $OR=0,20$ , 95% CI: 0.07 – 0.60,  $p=0.048$ ) [57]. Другие авторы также исключают какое-либо участие варианта Val34Leu в формировании венозного тромбоза [58, 59].

*Полиморфизм гена PAI-1 (-675 4G/5G)*

Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1) принадлежит к суперсемейству серпинов - ингибиторов сериновых протеаз, и является одним из основных компонентов тромболитической плазминоген-плазминовой системы, ингибируя тканевой и урокиназный активаторы плазминогена. Гликопротеин PAI-1 кодируется геном SERPINE1, который картируется на хромосоме 7 в диапазоне q21.3-22 и состоит из 9 экзонов и 8 интронов [41].

Формирование полиморфизма PAI-1 -675 4G/5G осуществляется за счет делеции/инсерции гуанина (G), в результате чего образуется повтор из 4 или 5 таких нуклеотидов и, соответственно, возможны 3 варианта генотипа по PAI-1 - 5G/5G, 4G/5G и 4G/4G. Вариант 4G приводит к повышенной экспрессии гена и, следовательно, к увеличению уровня PAI-1 в крови и торможению фибринолитической системы с повышением вероятности тромбообразования. В основном, данный полиморфизм ассоциируют с риском артериальных тромбозов и, в первую очередь, с острым инфарктом миокарда [60]. Однако некоторые авторы продемонстрировали достоверную связь носительства аллеля 4G с риском тромбоза в венозном русле. Так в исследовании Gohil R. et al. отношение шансов (OR) развития ТГВ у лиц с генотипом 4G/4G составило 1,6 (95% CI: 1,2-2,2, p=0,0008) [44]. Интересно, что в исследовании Balta G. et al. вариант 4G/4G приводил к увеличению риска тромбоза портальной вены и вен внутренних органов, а корреляции с риском ТГВ обнаружено не было [61].

*Полиморфизм гена tPA (Ins/Del 311 п.н.)*

Тканевой активатор плазминогена (PLAT, tPA) - фосфолипопротеин, который является секретлируемой протеазой и катализирует превращение плазминогена в плазмин, играя ключевую роль в фибринолизе. Существует гипотеза, что именно локальная скорость высвобождения tPA эндотелиальными клетками, а не общая его плазменная концентрация определяет тромболитический потенциал [62]. Ген, кодирующий tPA, расположен в локусе 8p12. Наиболее изученным полиморфизмом tPA является инсерция/делеция 311 п.н. в интроне 8. Делеционный вариант гена tPA ассоциирован со снижением продукции этого фермента, что должно приводить к увеличению риска тромбообразования. Однако, некоторые исследования, напротив, продемонстрировали повышенный риск артериальных катастроф (ОНМК, ОИМ) на фоне увеличения, а не

снижения плазменного уровня tPA [63,64]. Участие данного полиморфизма в предрасположенности к венозным тромбозам остается пока малоизученным и противоречивым. Так, Hooper W.C. et al. выявили 8-кратное увеличение риска ВТЭ при гомозиготном носительстве инсерционного аллеля гена tPA у беременных женщин европеоидной расы [66]. В то же время, аналогичное исследование в турецкой популяции таковой связи не обнаружило [65].

#### *Полиморфизм Ser219Gly эндотелиального рецептора протеина С (EPCR)*

Эндотелиальный рецептор протеина С (EPCR) участвует в активации протеина С – естественного антикоагулянта, играющего решающую роль в регуляции свертывающей системы крови. Данный процесс происходит на поверхности эндотелиальных клеток при непосредственном участии тромбин-тромбомодулинового комплекса. Активированный протеин С (АПС) регулирует образование тромбина, инактивируя факторы FVa и FVIIIa. Эндотелиальный рецептор протеина С (EPCR), связываясь с протеином С, в 20 раз усиливает и приумножает его работу [67]. Эти рецепторы располагаются, в основном, на эндотелиальных клетках крупных кровеносных сосудов. Эндотелиальный рецептор протеина С также циркулирует в виде растворенной формы (sEPCR) с аналогичным сродством к протеину С, препятствует его активации и ингибирует антикоагулянтную функцию АПС [68]. Эндотелиальный рецептор протеина С (EPCR) кодируется геном PROCR. Наиболее изученным из известных вариантов гена является гаплотип А3, который определяется одиночным нуклеотидным полиморфизмом 6936 A/G. При этом в синтезируемом белке происходит замена серина (Ser) на глицин (Gly) в позиции 219, что влияет на конформацию рецептора и приводит к повышению его уровня в плазме [69]. Опытным путем Qu D. et al. показали, что гаплотип А3 (Gly219) способствует 5-7-кратному увеличению образования sEPCR [70]. Некоторыми авторами была выдвинута гипотеза, что более высокий уровень sEPCR повышает риск венозного тромбоза. Так, Saposnik B. et al. в своем исследовании показали достоверную связь гаплотипа А3 с высоким уровнем sEPCR и риском тромбоза (OR=1,8, 95% CI:1,2–2,6, p=0,004) [71]. Последние исследования, посвященные этому полиморфизму, также подтвердили вышеуказанные выводы [72,73]. Напротив, Medina P. et al. не выявили повышенного риска ВТЭ у носителей гаплотипа А3, хотя подтвердили связь последнего с повышением плазменного уровня sEPCR [74].



### Обсуждение

Данный обзор посвящен генетическому полиморфизму важнейших компонентов плазменного звена гемостаза, которым, как нам кажется, несмотря на их значимость в тромбогенезе, в литературе, особенно отечественной, уделено недостаточно внимания. При повышенном интересе и сохраняющейся актуальности темы в многочисленных работах, посвященных изучению механизма венозного тромбоза, сохраняются вопросы, которые пока остаются без ответов. Практически отсутствуют работы, посвященные генетическим взаимодействиям и взаимодействию генотипа с внешней средой, или, что немаловажно, отношениям генотип-фенотип. Наибольший интерес, по нашему мнению, представляет выявление генотипов, соответствующих фенотипическим вариантам ВТЭ (ТГВ или ТЭЛА), и анализ их влияния на течение и исход заболевания (рецидив, тяжелый посттромбофлебитический синдром).

Неоднозначным остается мнение и о хорошо изученных, доказанных факторах риска ВТЭ – мутациях FV Leiden и протромбин G20210A. Данные о риске рецидива при их наследовании в различных исследованиях противоречивы. Интересным также остается механизм парадоксального явления у симптоматических носителей FV Leiden, для которых характерен, в основном, изолированный ТГВ. Недостаточно изучена роль мутаций в генах, кодирующих различные цепи фибриногена, в развитии тромбоэмболических осложнений. Носительство аллеля –455A гена в-фибриногена ассоциировано с увеличением концентрации фибриногена в плазме и, как полагают некоторые авторы, значимым защитным эффектом от риска ВТЭ [44]. Напротив, вариант б-фибриногена 312Ala, не влияя на уровень фибриногена, способствует образованию более плотных волокон фибрина, что приводит к увеличению риска тромбоза. Нет единого мнения относительно роли полиморфизма FXIII Val34Leu, результатом которого, возможно, является утончение волокон фибрина и защита от тромбообразования.

Недавно стало известно, что эндотелий клапанов венозных синусов обладает более выраженным антикоагулянтным (увеличение количества EPCR, тромбомодулина) и менее выраженным прокоагулянтным (снижение уровня фактора Виллебранда) эффектом, нежели внутрисосудистый эндотелий [8]. Эндотелиальный рецептор протеина С обеспечивает тромборезистентные свойства эндотелия и, в большей степени, клапанов венозных синусов. Нормальная генерация и функция АПС зависит от точной сборки на поверхности эндотелиальных клеток комплекса тромбин, тромбомодулин, протеин С и EPCR. Таким образом, любое изменение в эффективности подобной сборки может

приводить к снижению/увеличению уровня и активности АПС и формированию тромбоза [67]. Полиморфизм EPCR 6936 A/G способствует увеличению плазменного уровня sEPCR, который препятствует активации протеина С, блокирует функцию АПС и, соответственно, снижает тромборезистентные свойства эндотелия клапанов венозных синусов. Что касается нарушений компонентов тромболитической системы, связанных с полиморфизмом генов tPA, PAI-1, FXII, данные о них также малочисленны и спорны, чтобы делать однозначные выводы об их значимости в развитии ВТЭ.

Безусловно, много вопросов по этиологии и патогенезу венозного тромбоза еще не выяснены до конца. Исследователи часто сталкиваются с противоречиями и скептицизмом клиницистов в отношении наследственных тромбофилических факторов и их связи с риском ВТЭ. Однако неоднократно было показано, что в основе идиопатических венозных тромбозов лежит наследственная предрасположенность, или тромбофилия. Знание этого факта может предостеречь пациентов от возможного рецидива. Соблюдение необходимой терапии, предотвращение потенциально опасных в отношении ВТЭ факторов риска (эстрогены, длительные поездки, плановые операции и т.д.) могут способствовать снижению вероятности развития тяжелого ПТФС и жизнеугрожающей ТЭЛА. Определение роли неблагоприятных генетических вариантов, их взаимодействия между собой и факторами окружающей среды в формировании ВТЭ является базисом для индивидуального подхода к пациенту, и, возможно, в будущем позволит определить новую тактику лечения этого тяжелого заболевания. Несмотря на знание различных наследственных и приобретенных факторов риска, примерно в половине случаев не находят причины возникновения ВТЭ. Поэтому поиск новых генетических маркеров ВТЭ, несомненно, представляется актуальной задачей.

#### **Список литературы:**

1. Virchow R LK. Translation in Matzdorff AC, Bell WR, trans, editor. Thrombosis and embolie (1846–1856) // Canton, MA: Science History Publications. – 1998. / Originally published in German as “Thrombose und Embolie. Gefäßsentzündung und septische Infektion,” *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin*. Frankfurt am Main: Von Meidinger & Sohn. – 1856. – P. 219–732.
2. Heit JA. Venous thromboembolism epidemiology: implications for prevention and management // *Semin Thromb Hemost*. – 2002. – 28 (Suppl 2). – P. 3–13.

3. Кириенко А.И., Мишнев О.Л., Цициашвили М.Ш., В.Ф. Агафонов В.Ф. Проблема послеоперационных венозных тромбоэмболических осложнений в хирургической практике // *Ангиология и сосудистая хирургия*, 2003. т.№ 1.-С.61-65
4. Dahlbдck B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders // *Blood*. – 2008. – Vol. 112 (1). – P. 19–27
5. Wakefield TW, Myers DD, Henke PK. Mechanisms of Venous Thrombosis and Resolution // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2008. – Vol. 28. – P. 387.
6. Virchow RLK. Phlogose und thrombose im GefдЯsystem // *Gesammelte Abhandlung zur Wissenschaftlichen Medizin*. Franksfurt, Germany: Staatsdruckerei. – 1856.
7. Lund FL, Diener L, Ericsson JLE. Postmortem intraosseous phlebography as an aid in studies of venous thromboembolism: with application on a geriatric clientele // *Angiology*. – 1969. – Vol. 20. – P. 155-176.
8. Brooks EG, Trotman W, Wadsworth MP, et al. Valves of the deep venous system: an overlooked risk factor // *Blood*. – 2009. – Vol. 114. – P. 1276–1279.
9. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia // *Thromb Diath Haemorrh*. – 1965. – Vol. 13. – P. 516–530.
10. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1993. – Vol. 90. – P. 1004-8.
11. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // *Blood*. – 1996. – Vol. 88. – P. 3698-703.
12. Baglin T, Gray E, Greaves M, Hunt BJ, Keeling D et al British Committee for Standards in Haematology. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia // *Br J Haematol*. – 2010. – Vol. 149. – P. 209-20.

13. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: routine testing for Factor V Leiden (R506Q) and prothrombin (20210G>A) mutations in adults with a history of idiopathic VTE and their adult family members // *Genet Med.* – 2011. – Vol. 13. – P. 67-76.
14. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. М: Russo 2001; 219—285.
15. De Stefano V., Rossi E. Testing for inherited thrombophilia and consequences for antithrombotic prophylaxis in patients with venous thromboembolism and their relatives. A review of the Guidelines from Scientific Societies and Working Groups // *Thromb Haemost.* – 2013. – Vol. 110(4). – P. 697-705.
16. Баркаган З.С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // *Проблемы гематологии.* - 1996. - N 3. - С. 5-15.
17. Florell S.R., Rodgers G.M. Inherited thrombotic disorders: an update // *American J. of Hematology.* – 1997. – V.54. – P. 53-60.
18. Heit J.A. Thrombophilia: common questions on laboratory assessment and management // *Hematology Am Soc Hematol Educ.* – 2007. – Vol. 1. – P. 127–35.
19. Rosendaal FR, Reitsma P H Genetics of venous thrombosis // *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* – 2009. – Vol. 7 (Suppl. 1). – P. 301–304.
20. Cooper PC, Coath F, Daly ME, Makris M. The phenotypic and genetic assessment of antithrombin deficiency // *Int J Lab Hematol.* – 2011. – Vol. 33(3). – P. 227-37.
21. Ishiguro K, Kojima T, Kadomatsu K, et al. Complete antithrombin deficiency in mice results in embryonic lethality // *J Clin Invest.* – 2000. – Vol. 106. – P. 873–878.
22. Goldenberg N.A, Manco - Johnson M.J. Protein C deficiency // *Haemophilia.* – 2008. – Vol. 14. – P. 1214–1221.
23. Rezende SM, Simmonds RE, Lane DA. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex // *Blood.* – 2004. – Vol. 103. – P. 1192–201.

24. Wagh S., Anadure R., Dutta V., Sandhu M.S., Trehan R., Isolated protein S deficiency presenting as catastrophic systemic arterial and subsequently venous thrombosis // *AMJ*. – 2012. – Vol. 5 (8). – P. 424-428.
25. Cripe, L. D., Moore, K. D., Kane, W. H. Structure of the gene for human coagulation factor V // *Biochemistry*. – 1992. – Vol. 31. – P. 3777-3785.
26. Svensson PJ, Dahlback B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis // *N Engl J Med*. – 1994. – Vol. 330. – P. 517–522.
27. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men // *N Engl J Med*. – 1995. – Vol. 332. – P. 912–917.
28. Lindqvist PG, Svensson PJ, Marsaal K, Grennert L, Luterkort M, Dahlback B. Activated protein C resistance (FV:Q506) and pregnancy // *Thromb Haemost*. – 1999. – Vol. 81. – P. 532–537.
29. van Stralen KJ, Doggen CJ, Bezemer ID, Pomp ER, Lisman T, Rosendaal FR. Mechanisms of the factor V Leiden paradox // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2008. – Vol. 28. – P. 1872.
30. Huisman MV, Klok FA, Karami Djurabi R, Tormene D, Simioni P, Prandoni P. Factor V Leiden is associated with more distal location of deep vein thrombosis of the leg // *J Thromb Haemost*. – 2008. – Vol. 6. – P. 544–5.
31. Boyden EA. Segmental Anatomy of the Lungs: Study of the Patterns of the Segmental Bronchi and Related Pulmonary Vessels // New York, NY:McGraw-Hill. – 1955. – P. 23-32.
32. Segal JB, Brotman DJ, Necochea AJ, Emadi A, Samal L, Wilson LM, Crim MT, Bass EB. Predictive value of factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults with venous thromboembolism and in family members of those with a mutation: a systematic review // *JAMA*. – 2009. – Vol. 301:2472–85.
33. Lancellotti, S., De Cristofaro, R. Congenital prothrombin deficiency // *Semin. Thromb. Hemost*. – 2009. – Vol. 35. – P. 367-381.

34. Degen, S. J. F., Schaefer, L. A., Jamison, C. S., Grant, S. G., Fitzgibbon, J. J., Pai, J.-A., Chapman, V. M., Elliott, R. W. Characterization of the cDNA coding for mouse prothrombin and localization of the gene on mouse chromosome 2 // *DNA Cell Biol.* – 1990. – Vol. 9. – P. 487-498.
35. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant // *Thromb Haemost.* – 1998. – Vol. 79. – P. 706–708.
36. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism - pooled analysis of 8 casecontrol studies including 2310 cases and 3204 controls. Study group for pooled-analysis in venous thromboembolism // *Thromb Haemost.* – 2001. – Vol. 86. – P. 809-16.
37. Martinelli I, Battaglioli T, Tosetto A, Legnani C, Sottile L, Ghiotto R, Mannucci PM. Prothrombin A19911G polymorphism and the risk of venous thromboembolism // *J Thromb Haemost.* – 2006. – Vol. 4. – P. 2582–6.
38. Miles JS, Miletich JP, Goldhaber SZ, Hennekens CH, Ridker PM. G20210A mutation in the prothrombin gene and the risk of recurrent venous thromboembolism// *J Am Coll Cardiol.* – 2001. – Vol. 37. – P. 215–8.
39. Prandoni P, Noventa F, Ghirarduzzi A, Pengo V, Bernardi E, Pesavento R, Iotti M, Tormene D, Simioni P, Pagnan A. The risk of recurrent venous thromboembolism after discontinuing anticoagulation in patients with acute proximal deep vein thrombosis or pulmonary embolism. A prospective cohort study in 1,626 patients // *Haematologica.* – 2007. – Vol. 92. – P. 199–205.
40. Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, Vandembroucke JP, Rosendaal FR. Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events // *JAMA.* – 2005. – Vol. 293. – P. 2352–61.
41. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: "Фен", 2000. – 364 с.
42. Standeven KF, Grant PJ, Carter AM, Scheiner T, Weisel JW, Ariens RA. Functional analysis of the fibrinogen Aalpha Thr312Ala polymorphism: effects on fibrin structure and function // *Circulation.* – 2003. – Vol. 107. – P. 2326–30.

43. Kain K, Blaxill JM, Catto AJ, Grant PJ, Carter AM. Increased fibrinogen levels among South Asians versus Whites in the United Kingdom are not explained by common polymorphisms // *Am J Epidemiol.* – 2002. – Vol. 156. – P. 174–9.
44. Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls // *Thromb Haemost.* – 2009. – Vol. 102(2). – P. 360-70.
45. Rasmussen-Torvik LJ, Cushman M, Tsai MY, Zhang Y, Heckbert SR, Rosamond WD, Folsom AR. The association of alpha-fibrinogen Thr312Ala polymorphism and venous thromboembolism in the LITE study // *Thromb Res.* – 2007. – Vol. 121(1). – P. 1-7.
46. Carter AM, Catto AJ, Kohler HP, Ariens RA, Stickland MH, Grant PJ. alpha-fibrinogen Thr312Ala polymorphism and venous thromboembolism // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 1177–9.
47. van 't Hooft FM, von Bahr SJ, Silveira A, Iliadou A, Eriksson P, Hamsten A Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1999. – Vol. 19(12). – P. 3063-70.
48. Humphries SE, Luong LA, Montgomery HE, Day IN, Mohamed-Ali V, Yudkin JS. Gene-environment interaction in the determination of levels of plasma fibrinogen // *Thromb Haemost.* – 1999. – Vol. 82(2). – P. 818-25.
49. Chen XC, Xu MT, Zhou W, Han CL, Chen WQ. A meta-analysis of beta-fibrinogen gene-455G/A polymorphism and plasma fibrinogen level in Chinese cerebral infarction patients // *Biomed Environ Sci.* – 2007. – Vol. 20(5). – P. 366-72.
50. Tiedje V, Dunkler D, Ay C, Horvath B, Quehenberger P, Pabinger M, Zielinski C, Pabinger I, Mannhalter C. The role of fibrinogen plasma levels, the -455G>A fibrinogen and the factor XIII A subunit (FXIII-A) Val34Leu polymorphism in cancer-associated venous thrombosis // *Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 106(5). – P. 908-13
51. Kanaji T, Okamura T, Osaki K, Kuroiwa M, Shimoda K, Hamasaki N, Niho Y. A common genetic polymorphism (46 C to T substitution) in the 5'-untranslated region of the coagulation factor XII gene is associated with low translation efficiency and decrease in plasma factor XII level // *Blood.* – 1998. – Vol. 15; 91(6). – P. 2010-4.

52. Cochery-Nouvellon E, Mercier E, Lissalde-Lavigne G, Daurius JP, Qуйгй I, Dauzat M, Maris P, Gris JC Homozygosity for the C46T polymorphism of the F12 gene is a risk factor for venous thrombosis during the first pregnancy // *J Thromb Haemost.* – 2007. – Vol. 5(4). – P. 700-7.
53. Rasighaemi P, Kazemi A, Ala F, Jazebi M, Razmkhah F Association of FXII 5'UTR 46C>T polymorphism with FXII activity and risk of thrombotic disease // *Turkish Journal of Hematology.* – 2010. – Vol. 27. – P. 15-19.
54. Bagoly Z, Koncz Z, Hórsfalvi J, Muszbek L. Factor XIII, clot structure, thrombosis // *Thromb Res.* – 2012. – Vol. 129(3). – P. 382-7.
55. Lee IH, Chung SI, Lee SY. Effects of Val34Leu and Val35Leu polymorphism on the enzyme activity of the coagulation factor XIII-A // *Exp Mol Med.* – 2002. – Vol. 34(5). – P. 385-90.
56. Arıms RA, Philippou H, Nagaswami C, Weisel JW, Lane DA, Grant PJ. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. // *Blood.* – 2000 – Vol. 96(3). – P. 988-95.
57. Red G, Tassies D, Espinosa G, Monteagudo J, Bovй A, Plaza J, Cervera R, Reverter JC. Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism is associated with the risk of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies and high fibrinogen levels // *Thromb Haemost.* – 2009. – Vol. 101(2). – P. 312-6.
58. Cushman M, Cornell A, Folsom AR, Wang L, Tsai MY, Polak J, Tang Z. Associations of the beta-fibrinogen Hae III and factor XIII Val34Leu gene variants with venous thrombosis // *Thromb Res.* – 2007. – Vol. 121(3). – P. 339-45.
59. Balogh I, Szfke G, Karpati L, et al. Val34Leu polymorphism of plasma factor XIII: biochemistry and epidemiology in familial thrombophilia // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 2479–86.
60. Pastinen T, Perola M, Niini P, Terwilliger J, Salomaa V, Vartiainen E, Peltonen L, Syvdnen A. Array-based multiplex analysis of candidate genes reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population // *Hum Mol Genet.* – 1998. – Vol. 7(9):1453-62.



61. Balta G, Altay C, Gurgey A. PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs // *Am J Hematol.* – 2002. – Vol. 71(2):89-93.
62. Emeis JJ. The control of tPA and PAI-1 secretion from the vessel wall // *Vasc Med Rev.* – 1995. – Vol. 6:153–166.
63. Ladenvall P, Johansson L, Jansson JH, Jern S, Nilsson TK, Tjarnlund A, Jern C, Boman K. Tissue-type plasminogen activator -7,351C/T enhancer polymorphism is associated with a first myocardial infarction // *Thromb Haemost.* – 2002. – Vol. 87(1). – P. 105-9.
64. Tjarnlund-Wolf A, Hultman K, Curtis MA, Faull RL, Medcalf RL, Jern C. Allelic imbalance of tissue-type plasminogen activator (t-PA) gene expression in human brain tissue // *Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 105 (6). – P. 945-53.
65. Oguzulgen IK, Ekim N, Erkekol FO, Altinok B, Akar N. Is tissue-plasminogen activator gene polymorphism a risk factor for venous thromboembolism in every population // *Thromb Thrombolysis.* – 2005. – Vol. 19(1). – P. 61-3.
66. Hooper WC, El-Jamil M, Dilley A, Philipp C, Ellingsen D, Phillips D, Evatt BL. The relationship between the tissue plasminogen activator Alu I/D polymorphism and venous thromboembolism during pregnancy // *Thromb Res.* – 2001. – Vol. 102(1). – P. 33-7.
67. Medina P, Navarro S, Estellés A, Espaca F. Polymorphisms in the endothelial protein C receptor gene and thrombophilia // *Thromb Haemost.* – 2007. – Vol. 98(3). – P. 564-9.
68. Van de Wouwer M, Collen D, Conway EM. Thrombomodulin-protein C-EPCR system: integrated to regulate coagulation and inflammation // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2004. – Vol. 24:1374–1383.
69. Villoutreix BO, Blom AM, Dahlback B. Structural prediction and analysis of endothelial cell protein C/activated protein C receptor // *Protein Eng.* – 1999. – Vol. 12. – P. 833-840.
70. Qu D, Wang Y, Song Y, Esmon NL, Esmon CT. The Ser219→Gly dimorphism of the endothelial protein C receptor contributes to the higher soluble protein levels observed in individuals with the A3 haplotype // *Thromb Haemost.* – 2006. – Vol. 4. – P. 229-235.

71. Saposnik B, Reny JL, Gaussem P, Emmerich J, Aiach M, Gandrille S. A haplotype of the EPCR gene is associated with increased plasma levels of sEPCR and is a candidate risk factor for thrombosis // *Blood*. – 2004. – Vol. 103(4). – P. 1311-8.
72. Chen XD, Tian L, Li M, Jin W, Zhang HK, Zheng CF. Relationship between endothelial cell protein C receptor gene 6936A/G polymorphisms and deep venous thrombosis // *Chin Med J (Engl)*. – 2011. – Vol. 124(1). – P. 72-5.
73. Dennis J, Johnson CY, Adediran AS, de Andrade M, Heit JA, Morange PE, Triggourt DA, Gagnon F. The endothelial protein C receptor (PROCR) Ser219Gly variant and risk of common thrombotic disorders: a HuGE review and meta-analysis of evidence from observational studies // *Blood*. – 2012. – Vol. 119(10). – P. 2392-400.
74. Medina P, Navarro S, Estellés A, Vayó A, Woodhams B, Mira Y, Villa P, Migaud-Fressart M, Ferrando F, Aznar J, Bertina RM, Espaca F. Research Contribution of polymorphisms in the endothelial protein C receptor gene to soluble endothelial protein C receptor and circulating activated protein C levels, and thrombotic risk // *Thromb Haemost*. – 2004. – Vol. 91(5). – P. 905-11.