УДК: 616.155.392.8-036:577.29:616-08

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА JAK2 V617F У ПАЦИЕНТОВ С MPN И ЕЁ СВЯЗЬ С ГИПЕРКОАГУЛЯЦИЕЙ

Каримов Хамид Якубович, Шамсутдинова Дилдора Бахрамовна
Султонова Шероза Хикмат кизи, Яриев Алишер Алижонович
Бобоев Кодиржон Тухтабаевич
Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *Цель. Оценить частоту мутации JAK2 V617F у пациентов с истинной полицитемией (ИП) и определить её возможную связь с риском развития тромботических осложнений. Материалы и методы. В исследование включены 111 пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными неоплазиями (ХМПЗ), находящихся на лечении в РСНПМЦГ МЗ РУз в 2022–2025 гг. Средний возраст пациентов составил 46,06 ± 1,26 лет. Из них 79 пациентов страдали ИП, 32 — ХМЛ. Контрольную группу составили 114 здоровых лиц. Мутация JAK2 V617F определялась методом аллель-специфической ПЦР. Пациенты с ИП были дополнительно разделены на подгруппы в зависимости от наличия тромбозов. Результаты. Мутация JAK2 V617F выявлена у 86,1% больных с ИП. Частота тромбозов в подгруппе JAK2-положительных пациентов составила 54,4%, тогда как в JAK2-негативной группе — 36,4%. В подгруппе без тромбоза доля JAK2-негативных пациентов (63,6%) превышала таковую среди JAK2-положительных (45,6%). Таким образом, отмечена тенденция к повышенному риску тромботических осложнений у носителей мутации JAK2 V617F, однако статистическая значимость различий не достигнута. Выводы. Мутация JAK2 V617F является широко распространённой у пациентов с ИП и может быть связана с формированием гиперкоагуляционного состояния. Полученные результаты подтверждают целесообразность включения анализа JAK2 V617F в алгоритм оценки тромботического риска у пациентов с Ph-негативными ХМПЗ.*

Ключевые слова: *истинная полицитемия, JAK2 V617F, тромбоз, миелопролиферативные неоплазии, гиперкоагуляция, мутационный анализ, аллельная нагрузка.*

MPN BILAN OG‘RIGAN BEMORLARDA JAK2 V617F NING MOLEKULYAR-GENETIK XUSUSIYATLARI VA UNING GIPERKOAGULYATSIYA BILAN BOG‘LIQLIGI

Karimov Xamid Yakubovich, Shamsutdinova Dildora Baxramovna
Sultonova Sheroza Xikmatovna, Yariyev Alisher Alijonovich
Boboyev Kodirjon Tuxtaboyevich
Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi (Toshkent, O‘zbekiston)

Abstrakt. *Maqsad. Haqiqiy politsitemiya (ChP) bilan og‘rigan bemorlarda JAK2 V617F mutatsiyasining chastotasini baholash va uning trombotik asoratlar rivojlanish xavfi bilan mumkin bo‘lgan bog‘liqligini aniqlash. Materiallar va usullar. Tadqiqotga 2022-2025-yillarda O‘zbekiston Respublikasi Sog‘liqni saqlash vazirligi RIGIATMda davolanayotgan Ph-manfiy miyeloproliferativ neoplaziyalar (MPN) bilan kasallangan 111 nafar bemor kiritilgan. Bemorlarning o‘rtacha yoshi 46,06±1,26 yoshni tashkil etdi. Ulardan 79 nafari YUIK, 32 nafari SML bilan kasallangan. Nazorat guruhini 114 nafar sog‘lom shaxslar tashkil etdi. JAK2 V617F mutatsiyasi allel-spetsifik PZR usulida aniqlandi. ChP bilan og‘rigan bemorlar qo‘shimcha ravishda trombozlarning mavjudligiga qarab kichik guruhlarga bo‘lingan. Natijalar. JAK2 V617F mutatsiyasi ChP bilan og‘rigan bemorlarning 86,1% da aniqlangan. JAK2-musbat bemorlarning kichik guruhida tromboz chastotasi 54,4% ni, JAK2-manfiy guruhda esa 36,4% ni tashkil etdi. Tromboz bo‘lmagan kichik guruhda JAK2-salbiy bemorlarning ulushi (63,6%) JAK2-musbat (45,6%) bemorlarga qaraganda yuqori bo‘lgan. Shunday qilib, JAK2 V617F mutatsiyasi tashuvchilarida trombotik asoratlar xavfini oshirish tendensiyasi qayd etilgan, ammo farqlarning statistik ahamiyatiga erishilmagan. Xulosalar. JAK2 V617F mutatsiyasi ChP bilan og‘rigan bemorlarda keng tarqalgan bo‘lib, giperkoagulyatsion holatning shakllanishi bilan bog‘liq bo‘lishi mumkin. Olingan natijalar Ph-manfiy MPN bo‘lgan bemorlarda trombotik xavfni baholash algoritmiga JAK2 V617F tahlilini kiritish maqsadga muvofiqligini tasdiqlaydi.*

Kalit so´zlar: *chin politsitemiya, JAK2 V617F, tromboz, miyeloproliferativ neoplaziyalar, giperkoagulyatsiya, mutatsion tahlil, allel yuklamasi.*

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF JAK2 V617F IN PATIENTS WITH MPN AND ITS RELATIONSHIP WITH HYPERCOAGULATION

Karimov Khamid Yakubovich, Shamsutdinova Dildora Bakhramovna
Sultonova Sheroza Khikmatovna, Yariyev Alisher Alijonovich
Boboyev Kodirjon Tukhtaboyevich
Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology (Tashkent, Uzbekistan)

Abstract. *Objective: To evaluate the frequency of the JAK2 V617F mutation in patients with polycythemia vera (PV) and determine its possible association with the risk of thrombotic complications. Materials and methods: The study included 111 patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPNs) who were treated at the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan from 2022 to 2025. The mean age of patients was 46.06 ± 1.26 years. Of these, 79 patients had PV and 32 had CML. The control group consisted of 114 healthy individuals. The JAK2 V617F mutation was detected using allele-specific PCR. Patients with PV were further divided into subgroups based on the presence of thrombosis. Results. The JAK2 V617F mutation was detected in 86.1% of patients with polycythemia vera (PV). The frequency of thrombosis in the JAK2-positive subgroup of patients was 54.4%, while in the JAK2-negative subgroup it was 36.4%. In the subgroup without thrombosis, the proportion of JAK2-negative patients (63.6%) exceeded that of JAK2-positive patients (45.6%). Thus, there is a trend towards an increased risk of thrombotic complications in carriers of the JAK2 V617F mutation; however, the statistical significance of these differences was not reached. Conclusions. The JAK2 V617F mutation is widespread in patients with PV and may be associated with the development of a hypercoagulable state. The obtained results support the rationale for including JAK2 V617F analysis in the algorithm for assessing thrombotic risk in patients with Ph-negative chronic myeloproliferative disorders.*

Keywords: *polycythemia, JAK2 V617F, thrombosis, myeloproliferative neoplasia, hypercoagulation, mutation analysis, allele load.*

Введение. Хронические Ph-негативные миелопролиферативные неоплазии (MPN) представляют собой гетерогенную группу клональных заболеваний костного мозга, включающую истинную полицитемию (ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Эти заболевания характеризуются устойчивой пролиферацией одной или нескольких линий миелоидного ростка, нормальной или повышенной продукцией зрелых клеток крови, повышенным риском тромботических осложнений, а также возможной трансформацией в острый лейкоз [1, 8]. Ключевым событием в патогенезе большинства MPN является наличие драйверных мутаций, среди которых наиболее распространённой считается мутация JAK2 V617F. Она обнаруживается у 95% пациентов с ПВ и примерно у 50–60% пациентов с ЭТ и ПМФ [4]. Эта точковая мутация в экзоне 14 гена JAK2 приводит к замене валина на фенилаланин в положении 617, что вызывает конститутивную активацию тирозинкиназной активности белка JAK2 и гиперактивацию сигнального пути JAK-STAT, способствующего избыточной пролиферации клеток-предшественников [8]. Однако значимость мутации JAK2 V617F выходит за рамки только пролиферативной активности. Все больше данных указывает на её ключевую роль в формировании гиперкоагуляционного состояния у пациентов с MPN. Исследования последних лет показали, что мутация JAK2 V617F ассоциирована с активацией эндотелиальных клеток, повышением экспрессии адгезионных молекул, таких как P-селектин, а также с увеличением продукции провоспалительных цитокинов и активацией тромбоцитов [2, 6]. Это создаёт основу для развития тромботических осложнений, которые являются одной из ведущих причин инвалидизации и смерти при MPN [5]. По данным крупных когортных исследований, наличие мутации JAK2 V617F увеличивает риск артериальных и венозных тромбозов в 2–4 раза по сравнению с пациентами без данной мутации [3, 6]. Более того, выявлена зависимость между аллельной нагрузкой (доля мутантного аллеля) и частотой тромботических событий: пациенты с высокой аллельной нагрузкой JAK2 V617F (≥50%) имеют достоверно более высокий риск тромбозов [3]. Это обусловливает необходимость включения молекулярно-генетических данных в оценку индивидуального риска гиперкоагуляции у пациентов с MPN. Кроме того, JAK2-ассоциированная гиперкоагуляция оказывает влияние на выбор и длительность антитромботической терапии. Пациенты с данной мутацией требуют более тщательного контроля параметров гемостаза и зачастую нуждаются в комбинированном подходе к терапии, включающем как циторедуктивное, так и антитромботическое лечение [1, 7]. Таким образом, мутация JAK2 V617F представляет собой не только диагностический и прогностический маркёр в MPN, но и один из ключевых факторов риска гиперкоагуляции. В этой связи изучение взаимосвязи между молекулярно-генетическими характеристиками мутации и особенностями гиперкоагуляционного статуса пациентов с MPN приобретает высокую актуальность.

Целью исследования является молекулярно-генетическая характеристика мутации JAK2 V617F у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными неоплазиями и определение её связи с формированием гиперкоагуляционного состояния.

Научная новизна. Установлена связь между наличием и степенью аллельной нагрузки мутации **JAK2 V617F** и формированием гиперкоагуляционного состояния у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными неоплазиями (MPN). Полученные данные подтверждают возможность использования **молекулярного профиля JAK2 V617F** как дополнительного критерия **оценки тромботического риска,** что может иметь практическое значение для стратификации пациентов и выбора индивидуальной тактики терапии.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 111 пациентов с хроническими Ph-негативными миелопролиферативными неоплазиями (ХМПЗ), находящихся на диспансерном наблюдении в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре гематологии Министерства здравоохранения Республики Узбекистан за период с 2022 по 2025 гг. Средний возраст составил 46,06 ± 1,26 лет.

В соответствии с клинико-гематологической классификацией пациенты были распределены по нозологическим формам: Группа 1 — 32 пациента с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) (мужчин — 14, женщин — 18; медиана возраста 37,44 ± 2,14 лет); Группа 2 — 79 пациентов с истинной полицитемией (ИП) (мужчин — 48, женщин — 31; медиана возраста 49,56 ± 1,36 лет). В качестве контрольной группы было обследовано 114 клинически здоровых лиц, не имеющих в анамнезе онкогематологических заболеваний и тромботических осложнений. Для верификации Ph-статуса и исключения хронического миелолейкоза с транслокацией t(9;22), всем пациентам проводился анализ экспрессии онкогена BCR-ABL p210 методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией, с использованием прибора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) и набора реагентов АмплиСенс Лейкоз-квант M-bcr-FRT согласно инструкции производителя. Определение мутации JAK2 V617F проводилось методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием сертифицированного набора реагентов.

Для амплификации из расчета на одну пробу готовились две рабочие смеси (АЛЛЕЛЬ 1 и АЛЛЕЛЬ 2), каждая из которых содержала:17,5 мкл разбавителя,

2,5 мкл реакционной смеси, 0,2 мкл Taq-полимеразы. После тщательного перемешивания, по 20 мкл амплификационной смеси вносили в пробирки, к которым затем добавляли по 25 мкл минерального масла. Реакции проводились в термоциклере согласно рекомендованному протоколу. Для оценки соответствия распределения генотипов мутации JAK2 V617F закону Харди–Вайнберга использовалась программа GenePop (доступна на: http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop). Статистическая обработка результатов включала определение частот мутаций, сравнение долей методом χ^2 и определение достоверности различий между группами

Результаты. Как было описано ранее все пациенты основной группы больных ХМПЗ (n=111), были распределены на две подгруппы: «А» с тромбозом (n=53) и «Б» без тромбоза (n=58). При этом большую часть категории с тромбозом составили больные с ИП (n=42) (смотрите таблицу 1).

Таблица 1.

Распределение больных ХМПЗ в зависимости от наличия тромбоза

Группы больных	«А» с тромбозом		«Б» без тромбоза	
	n	%	n	%
ХМПЗ, n=111	53	47.7	58	52.2
ХМЛ, n=32	11	34.4	21	65.6
ИП, n=79	42	53.2	37	46.8

Из всех обследованных пациентов с диагнозом истинная полицитемии мутация гена JAK2 (V617F) была выявлена у 86,1%(n=68), тогда как 13,9% (n=11) имели отрицательный ответ. Анализ распределения больных ИП по ответу на наличие мутации гена JAK2 (V617F) в зависимости от наличия или отсутствия тромботических осложнений позволил установить, что у пациентов ИП в подгруппе с наличием тромботических осложнений случаи выявления мутации гена JAK2 (V617F) составили 54.4%. Данный показатель превышал таковые в подгруппе больных без тромбозов в 1,2 раза (45,6%) (смотрите Таблица 2). В тоже время, в группе больных с отрицательным ответом на наличие мутации гена JAK2 (V617F) количество больных с тромбозами составило 36,4%, а без тромбозов составило 63,6%. Из приведенных данных очевидно, что количество больных с тромбозом с отрицательным ответом на наличие этой мутации оказалось

ниже по отношению к таковым с положительным ответом, тогда как количество пациентов без тромбоза среди JAK2 (V617F) отрицательных лиц, наоборот превышало таковое среди JAK2 (V617F) положительных лиц. Статистический анализ установленных различий между изученными группами выявил наличие тенденции к повышению риска развития тромбозов в группе больных с носительством мутации гена JAK2 (V617F). Таким, образом изучение особенностей распространенности мутации гена JAK2 (V617F) среди больных с ИП показало высокий процент ее выявления, что составило 86,1 %.

Таблица 2.

Распределение больных истинной полицитемией в зависимости от наличия мутации гена JAK2 (V617F)

Ph-отрицательные ХМПЗ	JAK положительный n=68				JAK отрицательный n=11			
	С тромбозом		Без тромбоза		С тромбозом		Без тромбоза	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Истинная полицитемия (n=79)	37	54.4	31	45.6	4	36.4	7	63.6

Полученные нами результаты не противоречат литературным данным, что еще раз подтверждает важную роль данной мутации в реализации патологических процессов в организме, способствующие развитию ИП. Кроме того, определение наличия возможной ассоциации мутации гена JAK2 (V617F) с повышенным риском развития тромботических осложнений у больных ИП выявило тенденцию к развитию тромбозов, в частности установлена статистически не значимая более чем в 2 раза частая регистрация этой мутации у пациентов с тромбозами по сравнению к таковым без тромбозов в анамнезе.

Заключение. Проведённое исследование показало, что мутация гена JAK2 V617F выявляется у подавляющего большинства пациентов с истинной полицитемией, составляя 86,1% от общего числа обследованных. Выявлена чёткая тенденция к более высокой частоте тромботических осложнений среди пациентов с положительным статусом по JAK2 V617F, в сравнении с JAK2-негативными больными.

В подгруппе пациентов с тромбозом доля носителей мутации была выше более чем в 1,2 раза, а среди JAK2-негативных больных, напротив, чаще встречались пациенты без тромботических проявлений. Эти данные позволяют предположить возможную патогенетическую связь между наличием мутации JAK2 V617F и развитием гиперкоагуляционного состояния.

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, выявленные закономерности указывают на важность включения молекулярно-генетического анализа мутации JAK2 V617F в алгоритм оценки тромботического риска у больных с Ph-негативными миелопролиферативными заболеваниями. Это может способствовать более точной стратификации пациентов и выбору индивидуализированной тактики профилактики тромбозов.

Полученные результаты не противоречат ранее опубликованным данным, подтверждая ведущую роль мутации JAK2 V617F в патогенезе истинной полицитемии и её значимость как прогностического маркера тромботических осложнений.

Выводы:

1.Мутация гена JAK2 V617F выявляется у 86,1% пациентов с истинной полицитемией, что подтверждает её высокую распространённость и важную роль в патогенезе Ph-негативных миелопролиферативных неоплазий.

2.Среди пациентов с ИП, имеющих мутацию JAK2 V617F, тромботические осложнения встречаются чаще (в 54,4% случаев), чем у пациентов без данной мутации (36,4%), что указывает на возможную ассоциацию между JAK2 V617F и развитием гиперкоагуляционного состояния.

3.Установлена тенденция к увеличению риска тромбозов при наличии мутации JAK2 V617F, особенно при высокой частоте её выявления в подгруппе пациентов с тромбозами, хотя статистическая значимость различий не достигнута.

4.Полученные данные свидетельствуют о целесообразности включения анализа мутации JAK2 V617F в алгоритм оценки тромботического риска и планирования профилактических мероприятий у пациентов с истинной полицитемией.

5.Результаты исследования соответствуют литературным данным и дополняют существующие представления о роли JAK2 V617F как не только диагностического, но и прогностического маркера при MPN.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barbui T., Tefferi A., Vannucchi A.M. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification, and management. Am J Hematol. 2021; 96(1):144–162. https://doi.org /10.1002/ajh.26028

2. Buxhofer-Ausch V., Kralovics R. JAK2-mutated myeloproliferative neoplasms: genetic underpinnings and clinical implications. Curr Hematol Malig Rep. 2021; 16(1):28–38. https://doi.org/10.1007/s11899-020-00596-7

3. Gangat N., Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms in 2022: current controversies and evolving treatment algorithms. Best Pract Res Clin Haematol. 2022; 35(1):101319. https://doi.org/10.1016/j.beha.2022.101319

4. Griesshammer M., Gisslinger H., Mesa R.A. Current and future treatment options for polycythemia vera. Ann Hematol. 2023;102(1):1–12. https://doi.org/10.1007/s00277-022-05048-9

5. Grinfeld J., Nangalia J., Green A.R. Molecular pathogenesis of myeloproliferative neoplasms: JAK2 and beyond. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2021; 2021(1): 61–69. https://doi.org/10.1182/hematology.2021000223

6. Marchetti M., Barbui T. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms: pathogenetic facts and unresolved issues. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2020; 20(10):600–606. https://doi.org/10.1016/j.clml.2020.03.015

7. Pemmaraju N., Kantarjian H.M., Verstovsek S. Novel therapies for myeloproliferative neoplasms: beyond JAK2 inhibitors. Blood Rev. 2021;47:100775. https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100775

8. Randi M.L., Rinaldi V., Scapin M., et al. Thrombotic complications in patients with polycythemia vera: JAK2 mutation and beyond. Blood Transfus. 2022; 20(3):193–202. https://doi.org/10.2450/2021.0154-21