

Т.Е. Белокриницкая, Н.И. Фролова, Н.Н. Страмбовская

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ГОМОЦИСТЕИНА, У ЗДОРОВЫХ КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЬНИЦ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ: ЭТНИЧЕСКИЕ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ АСПЕКТЫ

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (Чита)

Изучены частотные характеристики генетического полиморфизма MTHFR (C677T), MTHFR (A1298C), MTRR (A66G), детерминирующих нарушения фолатного обмена и ассоциированных с перинатальными и акушерскими осложнениями, у здоровых молодых женщин русской ($n = 50$) и бурятской ($n = 50$) этногрупп. Частота мутантного генотипа MTHFR677TT в изучаемой субпопуляции составила 6 %, причем среди представительниц европеоидной расы – 10 % случаев и лишь 2 % среди женщин-буряток. Генотип MTHFR1298CC зарегистрирован в 9 % случаев без четкой разницы в этническом аспекте, MTRR66GG выявлен у 31 % исследуемых. Мультигенные наследования MTHFR677TT и MTHFR 1298CC, MTHFR677CT и MTRR66AG,кратно повышающие риски невынашивания и развития дефектов нервной трубки плода, обнаружены только в когорте русских женщин с частотой 2 %.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, метилентетрагидрофолатредуктаза, редуктаза метионинсинтазы, этнические группы

GENE POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH RISK OF DEVELOPMENT OF HOMOCYSTEINE EXCHANGE DISORDERS AMONG YOUNG HEALTHY WOMEN IN TRANSBAIKAL KRAY: ETHNIC AND REPRODUCTIVE ASPECTS

T.E. Belokrinitskaya, N.I. Frolova, N.N. Strambovskaya

Chita State Medical Academy, Chita

The frequency characteristics of gene polymorphisms of MTHFR677T, MTHFR1298C, MTRRA66G that determinate folate metabolism and are associated with perinatal or pregnancy complications were studied in 50 Russian and 50 Buryat young healthy women of 19–27 years. The frequency of MTHFR677TT mutant genotype was 6 % (10 % among Russian, 2 % among Buryat women). MTHFR1298CC and MTRR66GG mutant genotypes were detected in 9 % and 31 % respectively without any differences between ethnic groups. Multigenic inheritance of MTHFR677TT and MTHFR 1298CC, MTHFR677CT and MTRR66AG that multiply increase risks of miscarriage and development of defects of nervous tube of fetus were found only in the group of Russian women (2 %).

Key words: genic polymorphism, methylenetetrahydrofolate reductase, methionine synthase reductase, ethnic groups

Фолатный цикл является сложным каскадным процессом, в котором задействовано большое количество различных ферментов. Основными генами, продукты которых контролируют превращение фолиевой кислоты в метаболически активные формы и регулируют обмен гомоцистеина, являются MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктаза), MTRR (метионинсинтазаредуктаза), MTR (метионинредуктаза) и TR (транскобаламинсинтетаза) [1, 16, 18]. Снижение активности этих ферментов – один из основных путей накопления гомоцистеина в организме. С позиций репродуктивной медицины, фолиевая кислота необходима для нормального процесса эмбриогенеза и физиологического течения беременности [7, 11, 17]. Многочисленными исследованиями доказано, что полиморфизм генов метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR677T и MTHFR1298C) и метионинсинтазаредуктазы (MTRRA66G) ассоциирован с различными осложнениями беременности: дефектом развития нервной трубки, аномалиями развития сердечно-сосудистой системы, невынашиванием, плацентарной недостаточностью, задержкой развития и/или антенатальной гибелью плода, преэклампсией, преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты и некоторыми другими акушерскими и перинатальными проблемами [6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 20].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить распространенность полиморфизма основных генов, контролирующих обмен фолиевой кислоты (MTHFR677T, MTHFR1298C, MTRR A66G), у соматически здоровых женщин русской и бурятской этнических групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели проведено генетическое картирование у 100 здоровых женщин, коренных жительниц Забайкальского края, в возрасте от 19 до 27 лет (средний возраст – $23,6 \pm 2,8$ года). Все пациентки дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. По этнической принадлежности все обследованные были разделены на 2 группы: 1 – считающие себя русскими, европеоидной расы (50 человек); 2 – бурятки (50 человек).

Генотипирование для выявления интересующего нас полиморфизма ((MTHFR(C677T), MTHFR(A1298C) MTRR(A66G)) проведено на ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови («Проба-РАПИД генетика», ООО «ДНК-Технология», Москва). В качестве метода использована полимеразная цепная реакция с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (амплификатор «ДТ-96»,

ООО «ДНК-Технология», Москва) с использованием комплекта реагентов «Генетика метаболизма фолатов» (ООО «ДНК-Технология», Москва).

Качественные данные представлены в виде числа n и % (число больных с данным признаком, процент от их количества в группе) или десятичной доли единицы (P). Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди – Вайнберга (P_{x-v}) и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в выборках использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Значения считали статистически достоверными при $p \leq 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программных пакетов Statistica 6.0 (StatSoft Inc.) и MS Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании обнаружены все искомые мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии, с частотным подчинением закону Харди – Вайнберга.

При изучении полиморфизма MTHFR(C677T), выявлено, что дикий аллель (С) найден у 90 % (45 из 50) женщин в русской субпопуляции и у 98 % (49 из 50; $\chi^2 = 2,84$, $p = 0,0921$) в бурятской этнической группе, мутантный аллель (Т) обнаружен у 56 % представительниц 1-й группы наблюдения и у 40 % – второй. В когорте русских респонденток преобладали носительницы гетерозиготного генотипа MTHFR677CT – 44 % (23 из 50), удельный вес нормальных гомозигот MTHFR677CC составил 46 % (22 из 50). Среди женщин бурятской субпопуляции, напротив, доминировали нормальные гомозиготы MTHFR677CC – 60 % (30 из 50; $\chi^2 = 2,56$, $p = 0,1093$), а носительниц гетерозиготного генотипа MTHFR677CT было 38 % (19 из 50; $\chi^2 = 0,66$, $p = 0,4177$). Гомозиготный генотип по мутантному аллелю MTHFR677TT регистрировался в

5 раз чаще среди представителей русской этнической группы, чем у женщин-буряток: 10 % (5 из 50) и 2 % (1 из 50) соответственно ($\chi^2 = 2,84$, $p = 0,0921$) (табл. 1).

По данным литературы, у носителей дикого аллеля Т во время беременности развивается и очень быстро прогрессирует дефицит фолиевой кислоты, являясь триггером развития перинатальных и гестационных осложнений [1, 10, 13]. Полученные нами результаты свидетельствуют о меньшей распространенности мутантного аллеля Т генетического полиморфизма MTHFR(C677T) среди молодых здоровых женщин бурятской субпопуляции Забайкальского края (в 1,6 раза реже, чем среди русских: 0,21 и 0,33 соответственно ($\chi^2 = 3,07$; $p = 0,0798$)). Исследованиями Н.Н. Страмбовской (2007), проведенными среди относительно здоровых жителей г. Улан-Удэ республики Бурятия, показано, что у женщин и мужчин бурятской этнической группы аномалия в гене МТГФР (С677Т) встречалась реже (10,5 %), чем у европейцев (12,9 %) [4]. Частота встречаемости мутантного генотипа полиморфизма MTHFR(C677T) среди русских женщин, проживающих в Забайкалье, не отличалась от общепопуляционных показателей – от 5 до 12 % [1, 3].

Распределение аллеля С полиморфизма MTHFR(A1298C) в сравниваемых когортах женщин было практически одинаковым: 0,28 у представительниц славянского фенотипа и 0,29 – у женщин бурятской национальности, что в среднем в 2,5 раза меньше, чем частота аллеля А: 0,72 и 0,71 соответственно ($p < 0,05$) (табл. 2). Аллель А полиморфизма MTHFR(C1298A) имели равное количество женщин в русской и бурятской этнических группах, соответственно, 92 % (46 из 50) и 90 % (45 из 50; $\chi^2 = 0,12$, $p = 0,7268$). Частота нормального генотипа MTHFR1298AA в обеих субпопуляциях составила по 52 %, в гетерозиготном (MTHFR1298AC) – 40 % (20 из 50) у русских и 38 % (19 из 50) – у буряток ($\chi^2 = 0,04$, $p = 0,8376$). Гомозиготных носительниц по мутантному аллелю MTHFR1298CC среди исследуемых русской и бурятской субпопуля-

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей MTHFR(C677T) полиморфизма среди сравниваемых этнических групп

Этнические группы	Генотип			Частота аллелей (P)	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Русские (n = 50)	22 (44 %)	23 (46 %)	5 (10 %)	0,67	0,33
Бурятки (n = 50)	30 (60 %)	19 (38 %)	1 (2 %)	0,79	0,21
В субпопуляции (n = 100)	52 (52 %)	42 (42 %)	6 (6 %)	0,73	0,27

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей MTHFR(A1298C) полиморфизма среди сравниваемых этнических групп

Этнические группы	Генотип			Частота аллелей (P)	
	AA	AC	CC	А	С
Русские (n = 50)	26 (52 %)	20 (40 %)	4 (8 %)	0,72	0,28
Бурятки (n = 50)	26 (52 %)	19 (38 %)	5 (10 %)	0,71	0,29
В субпопуляции (n = 100)	52 (52 %)	39 (39 %)	9 (9 %)	0,72	0,58

Распределение частот генотипов и аллелей MTHFR(A66G) полиморфизма среди сравниваемых этнических групп

Этнические группы	Генотип			Частота аллелей (P)	
	AA	AG	GG	A	G
Русские (n = 50)	14 (28 %)	21 (42 %)	15 (30 %)	0,49	0,51
Буряты (n = 50)	14 (28 %)	20 (40 %)	16 (32 %)	0,48	0,52
В субпопуляции (n = 100)	28 (28 %)	41 (41 %)	31 (31 %)	0,49	0,51

ций выявлено, соответственно, 8 % (4 из 50) и 10 % (5 из 50; $\chi^2 = 0,12$, $p = 0,7268$). Таким образом, распространенность мутантного генотипа MTHFR1298CC среди здоровых коренных жителей Забайкальского края не имела этнических отличий и соответствовала общепопуляционной частоте, которая варьирует от 3 до 13 % [1, 3].

При исследовании распространенности генотипов полиморфизма MTHFR(A66G) у здоровых коренных жителей Забайкалья выявлено преобладание гетерозиготного (MTHFR66AG) и мутантного (MTHFR66GG) носительства над нормальным гомозиготным генотипом (MTHFR66AA) (табл. 3). Так, удельный вес носительниц гетерозиготного генотипа MTHFR66AG среди представительниц русской субпопуляции был 42 % (21 из 50), среди бурятской – 38 % (19 из 50; $\chi^2 = 0,17$, $p = 0,6831$). Численность женщин, имеющих гомозиготный генотип MTHFR66AA в обеих группах, была равной (по 14 из 50) – 28 %. Генотип MTHFRGG зарегистрирован в 30 % случаев (15 из 50) среди представителей русской этнической группы, и в 32 % случаев – среди женщин-буряток (16 из 50; $\chi^2 = 0,05$, $p = 0,8288$). Частота мутантного генотипа MTHFR66GG в исследуемой субпопуляции респондентов Забайкалья составила 31 %, что в 1,2–2,1 раза превышает общепопуляционные показатели (15–25 %), при этом преобладающим генотипом является MTHFR66AG (у жительниц Забайкалья – 41 %, в популяции – 40–50 %) [3].

Сопоставляя полученные нами результаты с данными современной популяционной генетики, следует заключить, что в целом частота встречаемости мутантных аллелей MTHFR677T и MTHFR1298C у здоровых молодых коренных жителей Забайкальского края (6 % и 9 % соответственно) не имеет значимых отличий от мировых общепопуляционных показателей [1, 3].

Важным аспектом прогнозирования вероятности развития перинтальных и акушерских осложнений, ассоциированных с нарушением метилирования ДНК вследствие дефицита ферментов фолатного цикла, является сочетание диких аллелей разных генов [1, 2]. По данным Н. Zetterberg с соавт. [19] и J. Вае с соавт. [5], наличие совместного наследования гомозиготных генотипов MTHFR 677TT и MTHFR1298CC у матери и у эмбриона повышает риск невынашивания почти в 14 раз. Нами не обнаружено данного мультигенного наследования среди буряток, в то время как его частота в русской этнической группе составила 2 % (1 из 50). Имеются сведения о том, что сочетание гомозиготных генотипов MTHFR677TT и MTHFR66GG у матери

связано с 3- и 4-кратным риском развития дефектов нервной трубки плода [9]. Согласно полученным нами результатам, наличие сочетания гомозиготных генотипов MTHFR677TT и MTHFR66GG имело место только среди русской субпопуляции с частотой 2 % (1 из 50).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования продемонстрировали достаточно высокую, но соответствующую общепопуляционным данным распространенность мутантного генотипа изучаемого полиморфизма генов MTHFR в Забайкальском крае у молодых здоровых женщин: 6 % для MTHFR677TT и 9 % для MTHFR1298CC. Среди коренных жителей Забайкалья преобладают носительницы нормального генотипа MTHFR677CC (52 %), в то время как доминирующим в популяции является MTHFR677CT (56 %), а частота мутантного варианта генотипа MTHFR A66GG в 1,2–2,1 раза превышает популяционные показатели (31 % и 15–25 % соответственно).

Выявлена генетическая неоднородность основных этнических групп коренного населения Забайкалья. Во-первых, мутантный генотип MTHFR 677TT зарегистрирован в 5 раз чаще среди представительниц русской субпопуляции, чем у женщин-буряток (10 % и 2 % соответственно). Во-вторых, сочетание наследования мутантных генотипов MTHFR677TT и MTHFR1298CC, MTHFR677TT и MTHFR66GG,кратно повышающее риски невынашивания и развития дефектов нервной трубки плода, обнаружено только в когорте русских женщин с частотой 2 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предикативной медицины / под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во: Н-Л, 2009. – 528 с.
2. Гречанина Е.Я. и др. Закономерная связь между развитием некоторых эпигенетических болезней и нарушением метилирования ДНК вследствие дефицита ферментов фолатного цикла // Ультразвуковая перинатальная диагностика. – 2010. – № 29. – С. 27–59.
3. Постгеномные и нанотехнологические инновации [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.pyunny.ru>.
4. Страмбовская Н.Н. Первичные тромбофилии среди жителей г. Улан-Удэ, больных ишемическим нарушением мозгового кровообращения: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Чита: ГОУ ВПО Читинская

государственная медицинская академия Росздрава, 2007. – 22 с.

5. Bae J. et al. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) in spontaneously aborted embryos // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 87, N 2. – P. 351–355.

6. Balderrábano-Saucedo N.A. et al. Polymorphism 677C → T MTHFR gene in Mexican mothers of children with complex congenital heart disease // *Pediatr. Cardiol.* – 2013. – Vol. 34, N 1. – P. 46–51.

7. Blom H.J. Folic acid, methylation and neural tube closure in humans // *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* – 2009. – Vol. 85, N 4. – P. 295–302.

8. Bogolub C. Elevated homocysteine? Consider testing for folate metabolism gene variants // *Minn. Med.* – 2012. – Vol. 95, N 12. – P. 39–42.

9. Brouns R. et al. Polymorphisms in genes related to folate and cobalamin metabolism and the associations with complex birth defects // *Prenat. Diagn.* – 2008. – Vol. 28, N 6. – P. 485–493.

10. Govindaiah V. et al. Association of parental hyperhomocysteinemia and C677T Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism with recurrent pregnancy loss // *Clin. Biochem.* – 2009. – Vol. 42 (4–5). – P. 380–386.

11. Harris M.J. Insights into prevention of human neural tube defects by folic acid arising from consideration of mouse mutants // *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* – 2009. – Vol. 85, N 4. – P. 331–339.

12. Laanpere M. et al. Folate-mediated one-carbon metabolism and its effect on female fertility and pregnancy viability // *Nutr. Rev.* – 2010. – N 68 (2). – P. 99–113.

13. Nadir Y., Hoffman R., Brenner B. Association of homocysteine, vitamin B12, folic acid, and MTHFR C677T in patients with a thrombotic event or recurrent fetal loss // *Ann. Hematol.* – 2007. – Vol. 86, N 1. – P. 35–40.

14. Parén L. et al. Pregnancy and a rare MTHFR haplotype // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2012. – Vol. 91, N 5. – P. 635–636.

15. Parveen F., Tuteja M., Agrawal S. Polymorphisms in MTHFR, MTHFD, and PAI-1 and recurrent miscarriage among North Indian women [Электронный ресурс] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2013. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23685927> (дата обращения 8.07.2013).

16. Seremak-Mrozikiewicz A. The significance of folate metabolism in complications of pregnant women // *Ginek. Pol.* – 2013. – Vol. 84, N 5. – P. 377–384.

17. Van Beynum I.M. et al. The MTHFR 677C → T polymorphism and the risk of congenital heart defects: a literature review and meta-analysis // *Q.J.M.* – 2007. – Vol. 100, N 12. – P. 743–753.

18. West A.A., Caudill M.A. Genetic variation: impact on folate (and choline) bioefficacy // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2010. – Vol. 80 (4–5). – P. 319–329.

19. Zetterberg H. et al. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2002. – Vol. 10, N 2. – P. 113–118.

20. Zhang T. et al. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: a meta-analysis of the published literature // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 4. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3617174/> (дата обращения 17.07.2013).

Сведения об авторах

Белокриницкая Татьяна Евгеньевна – доктор медицинских наук, профессор заведующая кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (Чита) (672007, г. Чита, ул. Горького, 39а; e-mail: tanbell24@mail.ru)

Фролова Наталья Ивановна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (Чита) (672007, г. Чита, ул. Горького, 39а; e-mail: taasyaa@mail.ru)

Страмбовская Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая лабораторией молекулярной генетики НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672090, г. Чита, ул. Балябина, 1; e-mail: strambovskaia@yandex.ru)