

УДК 618.39-036.838:575

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

**И. Н. Фетисова**<sup>1,2\*</sup>, доктор медицинских наук,  
**А. И. Малышкина**<sup>1,2</sup>, доктор медицинских наук,  
**Н. С. Фетисов**<sup>1,2</sup>, кандидат медицинских наук

<sup>1</sup> ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, 153045, Россия, г. Иваново, ул. Победы, д. 20

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, 153012, Россия, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8.

**РЕЗЮМЕ** Нарушение фолатного статуса женского организма негативно сказывается на реализации репродуктивной функции.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение полиморфизма генов фолатного цикла у женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) и спорадическим выкидышем (СВ) на ранних сроках.

**Материал и методы.** Обследованы 174 женщины. Основную группу составили 122 пациентки с невынашиванием беременности на ранних сроках, из которых у 83 имело место ПНБ (1-я подгруппа); у 39 в анамнезе имелось указание на однократное самопроизвольное прерывание беременности в срок до 12-й недели (2-я подгруппа). Контрольную группу составили 52 женщины с нормальным деторождением (контрольная группа).

Изучены полиморфизмы генов *MTHFR*C677T (rs1801133), *MTHFR*A1298C (rs1801131), *MTRRA*66G (rs1801394) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

**Результаты и обсуждение.** Частота гетерозиготного носительства негативного аллеля *MTHFR* 677T у женщин обеих подгрупп была сходной и достоверно превышала аналогичный показатель в контрольной группе: у 50,6% пациенток с ПНБ, у 56,41% – со СВ, у 32,7% – в контрольной группе ( $p = 0,04$ ).

Частота гомозиготного генотипа *MTHFR* 677T/T среди женщин с ПНБ и СВ была сходной (9,63 и 10,25% соответственно), превышая данный показатель в контрольной группе (1,9%,  $p > 0,05$ ).

Анализ генных и генотипических частот по полиморфизмам *MTHFR*A1298C и *MTRRA*66G не выявил достоверных различий между женщинами основной и контрольной групп.

**Заключение.** Присутствие в генотипе женщины аллеля *MTHFR* 677T является фактором риска как СВ в первом триместре, так и ПНБ на ранних сроках.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, фолаты, гены, аллель.

\* Ответственный за переписку (corresponding author): ivgenlab@gmail.com.

Среди множества причин нарушения репродуктивной функции женщины в последние годы большое внимание заслуженно уделяется фолатному статусу материнского организма, поскольку он оказывает существенное влияние на течение беременности и развитие плода [4]. Активно накапливаются данные, свидетельствующие о причастности нарушения метаболизма фолатов к различным формам патологии репродукции: ранней остановке эмбрионального развития и анэмбрионии, невынашиванию беременности, гипертензивным расстройствам при беременности, увеличению риска рождения потомства с хромосомной патологией [1, 2, 3, 6, 8, 11, 13–17]. Нарушение метаболизма фолатов может быть обусловлено как недостаточным поступлением фолиевой кислоты (ФК) (витамин В9) в организм, что связано с погрешностями в диете, так и с генетическим статусом человека, а именно, с полиморфизмом генов

фолатного цикла. В ряде случаев имеется сочетанное действие негативных средовых и наследственных факторов, что, вероятно, усугубляет отклонение в фолатном цикле и усиливает неблагоприятный фенотипический эффект.

Источником фолатов являются листовые овощи, зеленый горошек, цитрусовые, хлеб и крупы, печень животных, пищевые дрожжи, сыр, творог. Суточная потребность для организма женщины вне беременности составляет 400,0 мкг, при беременности – 800,0 мкг [5, 10]. Необходимо отметить, что для обеспечения поступления в организм указанной дозы ФК необходимо употребление в пищу больших объемов продуктов (например, 800,0 г шпината, 400,0 г печени, 8 авокадо и т. д.). Кроме того, термическая обработка пищевых продуктов приводит к разрушению 90% ФК, употребление гормональных контрацепти-

вов, антибиотиков и алкоголя также усугубляет дефицит фолатов [12].

Поступающая с пищей ФК служит источником внутриклеточного тетрагидрофолата, который преобразуется в разные виды фолатов, являющиеся специфическими коферментами в целом ряде внутриклеточных реакций, в частности в фолатном цикле [7]. В этом цикле происходит перенос метильных групп и осуществляется метаболизм гомоцистеина, избыток которого превращается в незаменимую аминокислоту метионин. Метионин является в клетке основным донором метильных групп, необходимых для синтеза и метилирования ДНК, РНК, белков и фосфолипидов. Таким образом, ФК крайне необходима организму для осуществления жизненно важных функций, а именно репликации, репарации и метилирования ДНК, которое является одним из механизмов регуляции активности генов, что особенно значимо для клеток тканей, находящихся в процессе активного деления и дифференцировки [10]. Процессы мейотического деления клеток в ходе гаметогенеза, митоз и дифференцировка клеток эмбриона на всех стадиях внутриутробного развития непосредственно связаны с дифференциальной активацией определенных генов, то есть, эпигенетической регуляцией. Присутствие в генотипе низкофункциональных полиморфизмов генов фолатного цикла способствует нарушению фолатного статуса организма и негативно сказывается на всех клеточных процессах, обеспечивающих гамето-, гисто- и органогенез [11, 13].

Целью настоящего исследования явилось изучение полиморфизма генов фолатного цикла у женщин с привычным и спорадическим (единичным) невынашиванием беременности на ранних сроках.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе акушерской клиники и лаборатории клинической биохимии и генетики ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России.

Обследованы 174 женщины. Основную группу составили 122 пациентки с невынашиванием беременности на ранних сроках, из которых у 83 имело место ПНБ (1-я подгруппа); у 39 в анамнезе имелось указание на однократное самопроизвольное прерывание беременности в срок до 12-й недели (2-я подгруппа). Контрольную группу составили 52 женщины, имеющие одного и более здорового ребенка при указании на нормально протекавшие беременность и роды. В анамнезе у лиц контрольной группы не было случаев невынашивания беременности, перинатальной смертности, рождения детей с врож-

денными пороками развития, периодов бесплодия. Все обследованные являлись жительницами Ивановской области и были русскими по национальной принадлежности.

У всех женщин были изучены полиморфизмы *MTHFR*C677T (rs1801133), *MTHFR*A1298C (rs1801131), *MTRRA*66G (rs1801394). Выделение тотальной геномной ДНК из 100 мкл цельной венозной крови проводили сорбентным методом с использованием набора «Проба-ГС-Генетика» («ДНК-технология», Россия). Однонуклеотидные полиморфизмы определяли методом полимеразной *MTHFR* 677T цепной реакции в режиме реального времени с использованием наборов «Генетика метаболизма фолатов» («ДНК-технология», Россия).

Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft STATISTICA 6.0. Для сравнения показателей в группах использовали критерий  $\chi^2$ . Рассчитывали показатель отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI). Под статистически значимой принимали достоверность  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ распределения генотипов по полиморфизму *MTHFR* C677T показал, что пациентки 1-й подгруппы достоверно чаще, чем женщины контрольной группы, являются гетерозиготными носительницами низкофункционального аллеля *MTHFR* 677T (в 50,6 и 32,7% случаев соответственно,  $p = 0,04$ ). Частота гетерозиготного генотипа *MTHFR* 677C/T у пациенток 2-й подгруппы сопоставима с показателем в 1-й подгруппе и достоверно превышает таковой в контрольной группе (56,41 и 32,7% соответственно,  $p = 0,04$ ).

Присутствие в генотипе пациентки негативного аллеля в гене метилентетрагидрофолатредуктазы является фактором риска как спорадического самопроизвольного прерывания беременности в первом триместре (OR = 2,6 (1,1–6,3)), так и ПНБ на ранних сроках (OR = 2,1 (1,0–4,4)).

Частота гомозиготного генотипа *MTHFR* 677T/T среди пациенток с привычным и спорадическим выкидышем была сходной (9,63 и 10,25% соответственно), превышала данный показатель в контрольной группе (1,9%), но разница не достигала уровня статистической значимости (табл.).

Анализ генных и генотипических частот по полиморфизмам *MTHFR*A1298C и *MTRRA*66G не выявил достоверных отличий между женщинами основной и контрольной групп.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что в популяции Ивановской области среди ре-

**Таблица.** Распределение генотипов по полиморфизму *MTHFR*C677T у обследованных

Генотип <i>MTHFR</i> 677C/T	Число наблюдений, %		
	контрольная группа	ПНБ (1-я подгруппа)	СВ (2-я подгруппа)
Гетерозиготный	32,7	50,6*	56,4*
Гомозиготный	1,9*	9,63	10,25

**Примечание.** \* – статистическая значимость различий с показателем контрольной группы,  $p < 0,05$ .

продуктивно здоровых женщин русской национальности функционально неполноценный аллель *MTHFR* 677T встречается несколько реже, чем в других регионах страны, например в Московской области [1]. Обращает внимание факт крайне редкого присутствия гомозиготного генотипа 677T/T в гене *MTHFR* у женщин с нормальной репродуктивной функцией. Это, на наш взгляд, свидетельствует о том, что снижение активности данного фермента оказывает выраженное негативное влияние на женское репродуктивное здоровье.

Как известно, 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза является ключевым ферментом в процессе синтеза метионина из гомоцистеина. Присутствие в генотипе аллеля 677T определяет снижение активности фермента и способствует гипергомоцистеинемии, являющейся фактором риска развития эндотелиальной дисфункции, что благоприятствует нарушению процессов имплантации, инвазии трофобласта и плацентации. Кроме того, нарушение метаболизма ФК негативно сказывается на мейотическом делении клеток в ходе гаметогенеза, что определяет формирование несбалансированных гамет и, как следствие, раннюю гибель эмбриона вследствие грубой хромосомной аномалии и анембрионию или формирование врожденных пороков развития [9, 13].

Комплекс реабилитационных мероприятий у женщин, имеющих в анамнезе указание на невынашивание беременности, включает в том числе использование препаратов ФК, спектр которых в последние годы существенно расширился: от монопрепарата до витаминно-минеральных комплексов, содержащих активную форму ФК – метафолин. Особенностью метафолина является его способность преобразовываться внутриклеточно в 5-метилтетрагидрофолат, минуя промежуточные метаболические стадии, в которых участвует фермент метилентетрагидрофолатредуктаза.

Авторам настоящей работы видится логичным следующий алгоритм обследования пациенток для последующей коррекции фолатного статуса организма. Генетическое обследование женщины с невынашиванием беременности в обязательном порядке должно включать кариотипирование для

исключения возможного бессимптомного носительства инверсий и транслокаций. При подтверждении отсутствия у пациентки хромосомных aberrаций рекомендуется тестирование генов фолатного цикла. Исходя из полученных результатов, авторы считают возможным ограничиться тестированием единичного полиморфизма – *MTHFR* C677T как наиболее значимого при нарушении репродукции. В случае определения отсутствия в генотипе неблагоприятного аллеля 677T в рамках прегравидарной подготовки на протяжении трех месяцев, предшествующих отмене контрацепции, и в течение первого триместра наряду с соответствующей диетой рекомендуется назначение монопрепарата или витаминно-минерального комплекса, включающего 800,0 мкг ФК.

При наличии в генотипе негативного аллеля 677T, особенно в гомозиготном состоянии, можно использовать активную форму ФК – метафолин – в суточной дозировке 400,0 мкг.

Подобный дифференцированный подход к проведению комплекса преемственной профилактики в зависимости от особенностей генотипа пациентки позволит улучшить фолатный статус ее организма, что ожидаемо позитивно скажется на течении гаметогенеза, гисто- и органогенеза, а также в ряде случаев поможет избежать тромбофилических осложнений беременности.

## ВЫВОДЫ

1. Пациентки с ПНБ и СВ на ранних сроках достоверно чаще имеют в генотипе негативный полиморфизм 677T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы.
2. Различий по частоте встречаемости гетерозиготного носительства низкофункционального аллеля *MTHFR* 677T между женщинами с ПНБ и пациентками с однократным СВ в ранние сроки не выявлено.
3. Не установлено достоверных различий в генных и генотипических частотах по полиморфизмам *MTHFR*A1298C и *MTRRA*66G в изучаемых группах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бескорвайная, Т. С. Влияние некоторых генетических факторов на нарушение репродукции у человека : дис. ... канд. мед. наук : 03.00.15 / Бескорвайная Татьяна Сергеевна. – М., 2005. – 89 с.
2. Буштырева, И. О. Роль генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушением фолатного цикла и риском развития тромбофилии, в генезе ретрохориальной гематомы в I триместре беременности / И. О. Буштырева, Н. Б. Кузнецова, Е. И. Пелогейна // Современные технологии в медицине. – 2015. – Т. 7, вып. № 3. – С. 85–89.
3. Гамыркина, Д. Р. Роль генетических полиморфизмов, обуславливающих состояние гиперкоагуляции, в проблеме привычного невынашивания беременности / Д. Р. Гамыркина, Н. А. Воробьева // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – № 1 (65). – С. 51–56.
4. Кузнецова, И. В. Фолиевая кислота и ее роль в женской репродукции / И. В. Кузнецова, В. А. Коновалов // Гинекология. – 2014. – № 04. – С. 17–23.
5. Обеспеченность микронутриентами и женское здоровье: интеллектуальный анализ клинико-эпидемиологических данных / О. А. Лиманова [и др.] // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2014. – № 13(2). – С. 5–15.
6. Любич, Н. И. Анализ полиморфизма C677T гена *MTHFR* у женщин с преждевременными родами / Н. И. Любич, К. Т. Бобоев // Медицинская генетика. – 2015. – № 11. – С. 36–39.
7. Биохимия человека / Р. Мари, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. – М.: Мир, 1993. – С. 303–305.
8. Ассоциация полиморфных вариантов генов фолатного цикла и интегринов с невынашиванием беременности / Е. В. Машкина [и др.] // Медицинская генетика. – 2013. – № 1. – С. 40–45.
9. Полиморфизм C677T гена *MTHFR* и риск формирования несиндромальных орофациальных расщелин / Т. И. Мещерякова [и др.] // Медицинская генетика. – 2013. – № 2. – С. 25–27.
10. Прегравидарная подготовка : клинический протокол / [авт.-сост. В. Е. Радзинский и др.]. – М.: Редакция журнала «Status Praesens», 2016. – 80 с.
11. Полиморфизм генов фолатного цикла в семьях с привычным невынашиванием беременности, пороками развития плода и анэмбрионией / И. Н. Фетисова [и др.] // Материалы II Международной конференции «Ранние сроки беременности: проблемы, пути решения, перспективы» // Вестн. РУДН. Серия «Медицина. Акушерство и гинекология». – 2009. – № 6. – С. 11–18.
12. Berenson, A. B. Effect of hormonal contraceptives on vitamin B12 level and the association of the latter with bone mineral density / A. B. Berenson, M. Rahman // Contraception. – 2012. – Vol. 86 (5). – P. 481–487.
13. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome / C. A. Hobbs [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2000. – Vol. 67. – P. 623–630.
14. Isotalo, P. A. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations / P. A. Isotalo, G. A. Wells, J. G. Donnelly // Am. J. Hum. Genet. – 2000. – Vol. 67. – P. 986–990.
15. Association between MTHFR1298A>C polymorphism and spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy / S. Y. Kim [et al.] // Am. J. of Reproductive Immunology. – 2011. – Vol. 66, № 4. – P. 252–258.
16. *MTRR* and *MTHFR* polymorphism: link to Down syndrome? / V. B. O'Leary [et al.] // Am. J. Med. Genet. – 2002. – Vol. 107. – P. 151–155.
17. Association between the MTHFR677T polymorphism and recurrent pregnancy loss a meta-analysis / X. Wu [et al.] // Genet. Test Mol. Biomarkers. – 2012. – Vol. 16, № 7. – P. 806–811.

## GENETIC POLYMORPHISM OF FOLATE CYCLE IN WOMEN WITH INCOMPLETE PREGNANCY

I. N. Fetisova, A. I. Malyskhina, N. S. Fetisov

**ABSTRACT** Folate status disorder in women negatively influenced reproductive function realization.**Objective** – to study genetic polymorphism of folate cycle in women with habitual incomplete pregnancy (HIP) and sporadic misbirth at early terms.**Material and methods.** 174 women were examined. 122 patients with incomplete pregnancy at early terms were enrolled into basic group, among them 83 ones had HIP (the first subgroup); 39 ones had one spontaneous misbirth before the 12<sup>th</sup> week (the second subgroup). 52 women with normal childbearing were enrolled into control group. Genetic polymorphisms MTHFR677T (rs1801133), MTHFR1298C (rs1801131), MTRRA66G (rs1801394) were studied by polymerase chain reaction technique in real time regime.**Results and discussion.** Frequency of heterozygote bearing of negative allele MTHFR677T in women of both subgroups was similar and trustworthy increased the analogous index in control group: in 50,6% patients with HIP, in 56,41% ones with SM, in 32,7% ones with normal childbearing ( $p = 0,04$ ).Frequency of homozygote genotype MTHFR677T among women with HIP and SM was similar (9,63 and 10,25% respectively) and exceeded this index in the control group (1,9%,  $p > 0,05$ ).

The analysis of gene and genotype frequencies by polymorphisms MTHFR1298C and MTRRA66G did not reveal trustworthy distinctions between women from basic and control groups.

**Conclusions.** The presence of MTHFR677T allele in woman genotype was proved to be risk factor for SM in first trimester and for HIP at early terms.**Key words:** incomplete pregnancy, folates, genes, allele.