

УДК 618.33-33-007:611.8]-056.7

© Колектив авторів, 2011.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМУ ГЕНІВ, ЩО РЕГУЛЮЮТЬ ФОЛАТНИЙ МЕТАБОЛІЗМ, У РОЗВИТКУ ВРОДЖЕНИХ ДЕФЕКТІВ НЕРВОВОЇ ТРУБКИ ПЛОДУ

**В. М. Запорожан, В. Г. Марічереда, О. М. Куліш, О. Б. Білоус**

Кафедра акушерства і гінекології №1 (зав. кафедри – проф. В. М. Запорожан),  
Одеський національний медичний університет, м. Одеса.

### THE ROLE OF FOLATE PATHWAY GENES POLYMORPHISM IN FORMATION OF NEURAL TUBE DEFECTS

V. M. Zaporozhan, V. G. Marichereda, O. M. Kulish, O. B. Bilous

#### SUMMARY

Maternal periconceptional supplementation of folate reduces the incidence of neural tube defects, indicating that changes in folate metabolism play a role in formation of neural tube defects. The mutations of two genes involved in folate metabolism, the C677→T of the *MTHFR* gene and the A80→G of *RFC-1* gene, are potential risk factors of neural tube defects. In this study, we analyzed the genotypic distributions of *MTHFR* C677→T and *RFC-1* A80→G polymorphisms in DNA samples from mothers with at least one previous child with this pathology. Our results suggest that in the Ukrainian population *RFC-1* A80→G polymorphism may play a role in neural tube defect risk, whereas the impact of *MTHFR* C677→T polymorphism requires further clarification.

### РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, РЕГУЛІРУЮЩИХ ФОЛАТНИЙ МЕТАБОЛІЗМ, В РОЗВИТТІ ВРОДЖЕНИХ ДЕФЕКТОВ НЕРВНОЇ ТРУБКИ ПЛОДА

**В. Н. Запорожан, В. Г. Марічереда, О. Н. Куліш, О. Б. Белоус**

#### РЕЗЮМЕ

Доказано, що с допомогою приєма фолиевої кислоти жінчиною в периконцепційний період можливо предотвратити вродженні дефекти нервної трубки плода, що указує на роль порушень фолатного метаболізму в організмі матері в формуванні даної патології. Мутації двох генів, задіяваних в фолатному обміні, С677→Т поліморфізм гена *MTHFR* і А80→G поліморфізм гена *RFC-1*, являються факторами ризику розвитку вроджених дефектів нервної трубки плода. Ми проаналізували образці ДНК жінок з вродженими дефектами нервної трубки плода в анамнезі. Результати дослідження свідчать про те, що в українській популяції А80→G поліморфізм гена *RFC-1* грає роль в формуванні даної патології, в той час як внесок С677→Т поліморфізму гена *MTHFR* в порушення закриття нервної трубки плода потребує подальшого вивчення.

**Ключові слова:** дефекти нервної трубки, плід, поліморфізм, *MTHFR*, *RFC-1*

Вроджені дефекти нервної трубки (ВДНТ) плоду є актуальною медико-соціальною проблемою з приводу того, що роблять вагомий внесок у структуру перинатальної смертності та інвалідизації дітей з дитинства. Частота їх реєстрації продовжує залишатися стабільно високою з відсутністю тенденції до зниження попри дослідження у цій галузі та впровадження сучасних методів діагностики і профілактики [1, 3]. Тривають наукові пошуки етіологічних факторів формування ВДНТ, проте вищий ризик виникнення даної патології у жінок, що мають дітей та/або родичів з ВДНТ, статеві, етнічні розбіжності, підвищена ступінь конкордантності у монозиготних близнюків вказують на потужний генетичний чинник розвитку обговорюваної вади плоду [5]. Приймаючи до уваги дані про актуальність ролі фолатів в запобіганні патології розвитку нервної трубки, основна частина досліджень присвячена вивченню ролі генетично детермінованих особливостей метаболізму фолиевої кис-

лоти. Однак, деякі наукові роботи останніх років вказують на значну роль поліморфізму гена, що кодує транспортер відновлених фолатів (*RFC1*), у виникненні ВДНТ плоду. Зважаючи на наведене, метою даного дослідження була порівняльна оцінка впливу спадкових чинників порушення функції ключового ферменту фолатного циклу 5,10-метилен-тетрагідрофолат-редуктази (*MTHFR*) та транспортера відновлених фолатів *RFC1* на формування ВДНТ плоду та встановлення доцільності обраного напрямку у вивченні етіопатогенетичних механізмів розвитку даної патології.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Обстежено 42 жінки, що мають в анамнезі вагітність, асоційовану з ВДНТ плоду, віком від 14 до 40 років, середній вік – 26,16±4,52 років. Критеріями виключення з дослідження були інсулін-залежний цукровий діабет, прийом ліків – антагоністів фолиевої кислоти (сульфаніламідів, протисудомних препаратів),

паління, гіпертермія та прийом гарячих ванн на ранніх термінах вагітності, вплив радіоактивного випромінювання, токсичних речовин та інші фактори, що здатні порушувати процес закриття невральної трубки ембріону, але не пов'язані з поліморфізмом генів фолатного циклу. За допомогою імуноферментного аналізу визначали рівень фолієвої кислоти в сироватці крові. Генотипування *MTHFR* (діагностика гомо- та гетерозиготності за алелем 677Т) проводилося методом полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу (Real-time PCR) за допомогою ампліфікації фрагмента гена *MTHFR*, який містить поліморфний нуклеотид, з подальшим рестрикційним аналізом продукту ампліфікації та контролем проходження реакції рестрикції, за модифікованим методом P. Frosst і співавторів [2]. Генотипування *RFC1* проводили шляхом визначення поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ-аналіз) [4].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Перебіг вагітностей, що асоційовані з ВДНТ плоду, ускладнювався загрозою переривання вагітності (n=15; 35,7%), затримкою розвитку плоду (n=6; 14,3%) та залізодефіцитною анемією (n=17; 40,5%). Середній рівень фолієвої кислоти сироватки крові жінок склав  $6,70 \pm 3,83$  нг/мл, коливаючись у діапазоні від 1,9 до 17,4 нг/мл. Зниження рівня фолієвої кислоти (норма для невагітних жінок – більше 5,21 нг/мл) виявлено у 45,2% (n=19) випадків. Гомозиготний дикий тип 677С/С гена *MTHFR* встановлено у 20 (47,6%) обстежених жінок, гетерозиготний тип 677С/Т – у 17 (40,5%) випадках, а у 5 (11,9%) жінок групи обстеження констатовано 677С→Т мутацію гена *MTHFR* (гомозиготний генотип 677С/С). Щодо 80G→A поліморфізму гена *RFC1*, гомозиготний дикий тип виявлено у 9 (21,4%), гетерозиготний тип – у 16 (38,1%) жінок. У 17 (40,5%) обстежених жінок встановлено гомозиготний за мутантним алелем генотип *RFC1*. Окрім того, констатовано, що формування найтяжчої форми ВДНТ плоду – аненцефалії – більшою мірою асоціюється з наявністю у матері 80G→A поліморфізму гена *RFC1*, адже гомозиготними за вказаною мутацією виявилися 57,1% жінок з аненцефалією плоду в анамнезі проти 29,6% жінок з спинномозковою килою плоду, чого не виявлено за гомозиготним 677С/С генотипом *MTHFR*. Комбінацію гомозиготного типу мутації за обома генами мали 2 (4,8%) жінки. Зниження рівня фолієвої кислоти сироватки крові констатовано у 2 (40%) жінок з генотипом 677Т/Т *MTHFR*, у 6 (35,5%)

– 80А/А *RFC1* та 2 (100%) жінок, що є гомозиготними за обома вказаними мутаціями генів.

#### ВИСНОВКИ

1. Таким чином, не зважаючи на те, що більшість дослідників віддають перевагу у здатності індукувати розвиток ВДНТ плоду поліморфізму гена ключового ферменту фолатного циклу *MTHFR*, зокрема, мутації 677С→Т, результати нашого дослідження вказують на більшу роль поліморфізму гена *RFC1* у формуванні даної патології плоду, адже виявлена частота гетеро- і гомозиготного типу мутації 677С→Т серед жінок з ВДНТ плоду в анамнезі (40,5% і 11,9% відповідно) істотно не відрізняється від даних щодо носійства вказаних генотипів в українській популяції (43,8% і 10,4% відповідно) та серед європейців (40-48% і 9-15% відповідно). Показано, що носійство мутантного гомозиготного генотипу *MTHFR* або *RFC1* та, особливо, їх комбінації призводить до зниження рівня фолієвої кислоти сироватки крові у жінок.

2. Крім того, встановлено, що мутація гена *RFC1* здатна призводити до тяжких, летальних форм ВДНТ, тобто індукує більш грубі порушення закриття невральної трубки ембріону, ніж 677С→Т поліморфізм *MTHFR*. Зважаючи на відсутність даних щодо носійства поліморфізму гена *RFC1* в українській популяції та отримані дані, вважаємо обраний напрямок доцільним для подальшого дослідження молекулярно-генетичних механізмів розвитку ВДНТ плоду.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Иванов В. И. Дисрегуляционная наследственная патология // Дисрегуляционная патология / Иванов В. И., Левина Л. Я., Константинова Л. М.; под ред. Г. Н. Крыжановского. – М., 2002. – Гл. IV. – С. 112–126.
2. Frosst P. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase / P. Frosst // Nat. Genet. – 1995. – Vol. 10, № 1. – P. 111–113.
3. Kibar Z. Toward understanding the genetic basis of neural tube defects / Z. Kibar, V. Capra, P. Gros // Clinical Genetics. – 2007. – Vol. 71, № 4. – P. 295–310.
4. Maternal periconceptional vitamin use, genetic variation of infant reduced folate carrier (A80G), and risk of spina bifida / G. Shaw, E. Lammer, H. Zhu [et al.] // Am. J. Med. Genet. – 2002. – Vol. 108. – P. 1–6.
5. Whole genomewide linkage screen for neural tube defects reveals regions of interest on chromosomes 7 and 10 / E. Rampersaud, A. G. Bassuk, D. S. Enterline [et al.] // Journal of Medical Genetics. – 2005. – Vol. 42. – P. 940–946.