

Калимагамбетов А.М.¹,
Валяева М.И.¹, Исабек А.У.¹,
Ракишева З.Б.²,
Бейсембаева Ш.А.³,
Садуаева К.А.⁴, Даулетбаева С.Б.¹

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

²Генетическая лаборатория ТОО «Tree Gene», Казахстан, г. Алматы

³Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Казахстан, г. Алматы

⁴Городской перинатальный центр, Казахстан, г. Алматы

Полиморфизм генов фолатного цикла при осложнениях беременности у женщин казахской этнической группы

Kalimagambetov A.M.¹,
Valyaeva M.I.¹, Isabek A.U.¹,
Rakisheva Z.B.²,
Beyssembaeva Sh.A.³,
Sadueva K.A.⁴, Dauletbaeva S.B.¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Genetic laboratory of LLP «Tree Gene», Kazakhstan, Almaty

³Asfeniyarov Kazakh National Medical University, Kazakhstan, Almaty

⁴City Perinatal Centre, Kazakhstan, Almaty

Influence of folate cycle genes polymorphism on pregnancy complications in women of kazakh ethnic group

Калимагамбетов А.М.¹,
Валяева М.И.¹, Исабек А.У.¹,
Ракишева З.Б.²,
Бейсембаева Ш.А.³,
Садуаева К.А.⁴, Даулетбаева С.Б.¹

¹Эл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

²ЖШС «Tree Gene» генетикалық зертханасы, Қазақстан, Алматы қ.

³С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медициналық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

⁴Қалалық перинаталдық орталық, Қазақстан, Алматы қ.

Қазақ этникалық тобындағы жүктіліктің асқынулары бар әйелдердің фолат цикліндегі гендердің полиморфизмы

Целью данного исследования явилось определение частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов фолатного цикла A2756G rs1805087 гена метионин-синтазы (MTR), A66G rs1801394 гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) и C677T rs1801133 гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) у женщин казахской этнической группы с осложнениями беременности. Исследование велось с применением методики «случай-контроль». Основную группу составили 121 беременная женщина, имевшие самопроизвольные выкидыши, акушерские осложнения при первых двух беременностях. В контрольную группу вошли 120 беременных женщин, завершившие первые две беременности нормальными родами и без случаев осложнения беременности в анамнезе. Материалом исследования послужила геномная ДНК, выделенная из венозной крови обследованных женщин. Определение генетических полиморфизмов осуществлялось на RealTime амплификаторе CFX96 (BioRad, USA). Статистический анализ в онлайн-программе SNPstats с использованием кодоминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и лог-аддитивной моделей наследования не выявил статистически значимых различий в частотах встречаемости рассмотренных полиморфизмов у женщин основной и контрольной групп. Полученные результаты исследований позволяют дополнить сведения о распространенности полиморфных аллелей генов фолатного цикла MTR, MTRR, MTHFR среди женщин казахской этнической группы. В тоже время необходимы дальнейшие молекулярно-генетические исследования для однозначной трактовки вклада генетических и средовых факторов на течение беременности.

Ключевые слова: полиморфизм генов, MTR, MTRR, MTHFR, осложнения беременности.

The study was conducted to study the frequency distribution of alleles and genotypes of polymorphic variants of folate cycle genes methionine synthase (MTR) A2756G, rs1805087; methionine synthase reductase (MTRR) A66G, rs1801394; and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, rs1801133 in women of the Kazakh ethnic group with pregnancy complications. The research was conducted using the “case-control study”. The test group was consisted by 121 pregnant women who had in anamnesis complications in the first two or more pregnancies, including miscarriages. The control group was consisted by 120 pregnant women who had two or more normal outcomes of the first two pregnancies without pregnancy complications in anamnesis. The material of the study was genomic DNA isolated from the venous blood of the examined women. The definition of genetic polymorphisms was carried out on the RealTime CFX96 amplifiers (BioRad, USA). Statistical analysis in the online-program SNPstats using the codominant, dominant, recessive, overdominant and log-additive inheritance models revealed no statistically significant differences in the frequencies of the observed polymorphisms in the women of the test and control groups. The obtained results of the studies indicate supplementing information on the prevalence of the polymorphic alleles of the folate cycle genes MTR, MTRR, MTHFR among women of the Kazakh ethnic group. However, further molecular epidemiological studies are needed to unambiguously interpret the contribution of environmental and genetic factors to the course of pregnancy.

Key words: gene polymorphism, MTR, MTRR, MTHFR, pregnancy complications.

Жұмыстың мақсаты қазақ этникалық тобындағы жүктілігінде асқынулары бар әйелдердің фолат цикліндегі аллелдер жиілігі мен келесі гендердің – 5,10-метионин-синтаза (MTR) A2756G rs1805087, метионин-синтаза-редуктаза (MTRR) A66G rs1801394 және метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) C677T rs1801133 гендердің полиморфты генотиптерінің варианттарын зерттеу болды. Зерттеу «оқиға-бақылау» әдісі арқылы орындалды. Негізгі топты 121 жүкті әйелдер құрды. Оларда алғашқы екі жүктіліктерінде өздігінен болған түсіктер және акушерлік асқынулар байқалды. Бақылау тобына 120 жүкті әйелдер кірді. Оларда алғашқы екі жүктіліктері қалыпты босанумен аяқталды және анамнездерінде жүктіліктің асқынулары байқалмаған. Зерттеу материал ретінде әйелдердің күре тамыр қанынан алынған геномдық ДНК болды. Генетикалық полиморфизм RealTime бойынша CFX96 (BioRad, USA) амплификаторында анықталды. Тұқым қуалаудың кодоминантты, доминантты, рецессивті, доминантты үстінен және лог-аддитивті моделдерді қолдана отырып статистикалық талдау SNPstats онлайн-бағдарламасында жасалынды. Талдау негізгі және бақылау тобындағы жүкті әйелдерде қарастырылған гендер полиморфизмінің кездесу жиілігінде статистикалық маңызды айырмашылықтар көрсеткен жоқ. Алынған нәтижелер қазақ этникалық тобындағы әйелдер арасындағы фолат цикліндегі MTR, MTRR, MTHFR гендердің полиморфты аллелдерінің таралуы туралы мәліметтерді толтырады. Сонымен бірге, жүктілікке генетикалық және орта факторларының әсерін бір мағыналы ретінде есептеу үшін қосымша молекулярно-генетикалық зерттеулер қажет.

Түйін сөздер: гендер полиморфизмы, MTR, MTRR, MTHFR, жүктілік асқынулар.

**ПОЛИМОРФИЗМ
ГЕНОВ ФОЛАТНОГО
ЦИКЛА
ПРИ ОСЛОЖНЕНИЯХ
БЕРЕМЕННОСТИ
У ЖЕНЩИН
КАЗАХСКОЙ
ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЫ**

Введение

Осложнения беременности рассматривается как мультифакторное состояние, которое может быть следствием многих причин: гормональных нарушений, инфекций, анатомических особенностей и т.д, в том числе полиморфизма генов систем, вовлеченных в развитие патологии. Большинство последствий носительства полиморфных вариантов генов проявляются во время гестации по причине перестройки свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем организма [1]. В настоящее время известно более 40 генов, вовлеченных в генную сеть осложнений беременности, полиморфизм которых на фоне неблагоприятных внутренних и внешних факторов может стать причиной развития патологии. Среди генетических маркеров, сопряженных с патологией, исследования последних лет отмечают роль полиморфизмов генов фолатного цикла A2756G rs1805087 гена метионин-синтазы (MTR), A66G rs1801394 гена метионин-синтаза-редуктазы (MTRR) и C677T rs1801133 гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) [2-5].

Физиологическая значимость фолатов обуславливается их участием в регуляции экспрессии генов через метилирование ДНК. Уменьшение активности ферментов фолатного цикла приводит к накоплению гомоцистеина. Гомоцистеин повреждает эндотелиальную выстилку сосудов, что приводит к запуску процессов коагуляции. Коагуляционные процессы нарушает микроциркуляцию в тканях матки и плаценты, становясь причиной акушерских осложнений на ранних (невынашивание, дефекты имплантации) и поздних сроках беременности (гибель плода, задержка развития) [3-6].

Особенно неблагоприятно патологические изменения в системе фолатов сказываются на пролиферации и дифференцировке быстро делящихся клеток эмбриона. Гомоцистеин, свободно проникая через стенку плаценты, оказывает прямое эмбриотоксическое действие, увеличивая риск аномального развития плода (нарушения развития нервной трубки, изолированным расщелинам губы и неба) и хромосомных аномалий (синдром Дауна) [7].

Ключевую роль в процессе метилирования ДНК играет фермент метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR), принимающий участие в образовании метионина и S-аденозилметионина из гомоцистеина. Известно более двадцати мутаций, ассоциированных с данным геном. Наиболее существенный вклад в развитие патологий плода вносит замена цитозина на тимин в 677 положении кодирующего участка ДНК (С677Т). Инактивация онкогенов у носителей полиморфизма, которая возникает в результате сниженной активности фермента MTHFR, увеличивает вероятность многочисленных патологий плода [5,7].

Фермент метионин-синтаза (MTR) в норме катализирует реметилирование гомоцистеина с образованием метионина. Одна из наиболее распространенных мутаций в гене MTR – замена нуклеотида аденина в позиции 2756 на гуанин (A2756G). Соответствующее изменение последовательности аминокислот (919 Asp→Gly) может быть ассоциировано с генетической предрасположенностью к патологиям течения беременности [5].

К аналогичным последствиям приводит и полиморфизм A66G гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR). Фермент, кодируемый соответствующим геном, принимает участие в реакциях, связанных с переносом метильной группы, в том числе – в восстановлении функциональной активности метионин-синтазы, реметилировании гомоцистеина в метионин. Замена аминокислоты изолейцин на метионин (Ile22Met) изменяет биохимические свойства фермента MTRR, что приводит к повышенному риску акушерских осложнений [5].

Благодаря современным технологиям возможно проведение молекулярно-генетической диагностики вариантов генов, ассоциированных с высокой вероятностью развития патологии. Генетическое тестирование может стать основой для подбора профилактических мероприятий и подбора досимптоматической терапии [1]. Однако обсуждаемые полиморфизмы распространены в мировых популяциях неравномерно, поэтому для выбора генетических маркеров репродуктивных потерь необходимо учитывать региональные популяционно-специфические различия [8].

Результаты отдельных исследований об ассоциации данных полиморфизмов с риском осложнений беременности в разных популяциях носят противоречивый характер [8]. Исследования отечественных учёных отмечают суще-

ственную роль генетического полиморфизма в патологии беременности, отмечая, однако, что предмет требует дальнейшего изучения [9]. Это определяет актуальность проведенного исследования.

В связи с вышесказанным, целью данного исследования явилось изучение полиморфизма генов фолатного цикла при осложнениях беременности у женщин казахской этнической группы.

Материалы и методы исследования

Нами была обследована 241 беременная женщина репродуктивного возраста казахской этнической группы, направленная из женских консультаций г. Алматы. На основании клинического обследования, которое включало детальный семейный, соматический и акушерско-гинекологический анамнез, женщин, принявших участие в исследовании, разделили на две группы – основную (121 человек) и контрольную (120 человек).

Основным критерием отбора в группу риска явилось наличие в анамнезе первых двух беременностей, прерванных самопроизвольными выкидышами, и акушерских осложнений в виде преэклампсии, эклампсии, синдрома потери плода при последующих беременностях. Группу контроля составили здоровые беременные женщины, имевшие от двух и более беременностей, завершившихся нормальными родами, без случаев осложнения беременности в анамнезе.

Объектом исследований послужила ДНК, выделенная из лейкоцитов венозной крови. Женщинами было подписано информированное согласие на забор и использование крови для текущего исследования. Выделение ДНК из лейкоцитов венозной крови производили с помощью методики «DNA Blood» (Центр Молекулярной Генетики, Москва, Российская Федерация) в несколько этапов (лизис эритроцитов, лизис лейкоцитов, преципитация клеточных белков, концентрация ДНК и её окончательная очистка). Концентрацию ДНК в итоговых образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000 (ThermoScientific, USA) и добивались разведения концентрации 20 нг/мкл. Полученный образец ДНК подвергали амплификации с использованием аллель-специфичных праймеров методом ПЦР на Real Time амплификаторе CFX96 (BioRad, USA) с последующей детекцией результатов в агарозном геле («SNPexpress» Lytech, Москва, РФ). По результатам анализов давали три типа заключений: гомозигота по нор-

мальному аллелю, гетерозигота, гомозигота по мутантному аллелю.

Статистический анализ результатов генотипирования проводился с использованием статистического онлайн-приложения SNPStats (<https://www.snpstats.net.htm>). Для оценки вероятности развития к осложнениям беременности при том или ином генотипе оценивали методом логистического регрессионного анализа по показателю отношения шансов (odds ratio, OR) с поправкой на 95% доверительный интервал (95% CI) для пяти моделей наследования (кодоминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная и лог-аддитивная). Выбор наилучшей модели осуществлялся в соответствии с наименьшим значением информационного критерия Акаике (AIC) [10,11].

Результаты исследования и их обсуждение

Для оценки роли полиморфизма генов фолатного цикла при осложнениях беременности были проведены молекулярно-генетические исследования в двух группах женщин с физиологически протекающей беременностью: ос-

новной и контрольной. В обеих группах возраст обследованных женщин колебался от 20 до 44 лет (таблица 2). В целом, выборки оказались сопоставимы по возрасту: средний возраст в основной группе составил $31,8 \pm 0,5$ лет, в контрольной группе – $32,6 \pm 0,5$ лет. Таким образом, большинство обследованных женщин находилось в возрасте, благоприятном для вынашивания беременности, поэтому возрастной фактор не оказывал существенной роли на результаты зачатия, течения и исхода беременности.

Целью нашей работы являлась проверка гипотезы о возможной роли полиморфизмов в развитии осложнений беременности у женщин казахской этнической группы.

Нами был проведен комплексный анализ частоты распределения вариантных аллелей и генотипов полиморфизмов ключевых генов, кодирующих синтез ферментов фолатного цикла: A2756G rs1805087 гена метионин-синтазы (MTR), A66G rs1801394 гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) и C677T rs1801133 гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). В настоящее время установлены их основные молекулярно-генетические характеристики (таблица 2).

Таблица 2 – Распределение обследованных женщин по возрастному составу

Возраст	Основная группа		Контрольная группа	
	n	%	n	%
20-24	5	4,2	4	3,3
25-29	39	32,5	37	30,6
30-34	35	29,2	43	35,5
35-39	30	25,0	29	24,0
40-44	11	9,1	8	6,6
ВСЕГО	120	100,0	121	100,0

Примечание: n – количество обследованных женщин

Таблица 2 – Характеристика исследованных генов фолатного цикла

Ген и его локализация на хромосоме	SNPs	Патологические генотипы	Предковый аллель	Тип мутации, наследование
MTR 1q43	A2756G rs1805087	A/G, G/G	A	Asp91Gly аутосомно-доминантное
MTRR 5p15.31	A66G rs1801394	A/G, G/G	A	Ile22Met аутосомно-доминантное
MTHFR 1p36.3	C677T rs1801133	C/T, T/T	C	Ala222Val аутосомно-доминантное

Результаты исследования распространения аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов в группе женщин с осложнениями беременности и контроле представлены в таблицах 3 и 4.

В исследованной популяции казахских женщин основной и контрольной группах отмечено преобладание доли нормальных аллелей исследуемых генов. Так, частота аллеля A2756 гена метионин-синтазы MTR преобладает над частотой «мутантного» аллеля 2756G (50,8% против 49,2% в группе женщин с осложнениями беременности и 55,4% против 44,6% в контрольной группе); частота A66 гена метионин-синтазы-редуктазы MTRR – над частотой «мутантного» аллеля 66G (50,8% против 49,2% в группе женщин с осложнениями и 55,4% против 44,6% в контрольной группе). Аналогично и для гена 5,10-метилен-

тетрагидрофолатредуктазы MTHFR: частота нормального аллеля C677 в группе женщин с осложнениями беременности и контроле составляет 70,0% и 73,1%, тогда как частота полиморфного варианта 677T – 30,0% и 26,9% соответственно. Наиболее часто встречается нормальный аллель A2756 гена MTR в группах женщин с осложнениями, в то же время его полиморфный вариант 2756G в той же группе имеет самую низкую долю (17,9%) среди всех исследованных групп. В группах беременных женщин казахской этнической группы тенденция к росту доли аллелей дикого типа особенно заметна для генов метионин-синтазы MTR и гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR: дикий аллель гена MTR преобладает на полиморфным вариантом в 4,6 раза, дикий аллель гена MTHFR – в 3,5 раза.

Таблица 3 – Частота встречаемости полиморфных аллелей генов фолатного цикла

Ген (SNP), аллели		Осложнения беременности, n=240		Контроль, n=242	
		N	%	N	%
MTR rs1805087	A	197	82,1	188	77,7
	G	43	17,9	54	22,3
MTRR rs1801394	A	122	50,8	134	55,4
	G	118	49,2	108	44,6
MTHFR rs1801133	C	168	70,0	177	73,1
	T	72	30,0	65	26,9

Примечание: n – количество аллелей в группах обследованных женщин.

Таблица 4 – Частота встречаемости генотипов генов фолатного цикла

Ген (SNP), генотипы		Осложнения беременности n=120		Контроль n=121		HWE p-value	
		n	%	n	%	Осложнения беременности	Контроль
MTR rs1805087	A/A	84	70,0	73	60,3	0,06	1
	A/G	29	24,2	42	34,7		
	G/G	7	5,8	6	5,0		
MTRR rs1801394	A/A	25	20,8	42	34,7	0,044	0,069
	A/G	72	60,0	50	41,3		
	G/G	23	19,2	29	24,0		
MTHFR rs1801133	C/C	61	50,8	63	52,1	0,38	0,5
	C/T	46	38,3	51	42,1		
	T/T	13	10,8	7	5,8		

Примечание: n – количество обследованных женщин в группе, HWE – равновесие Харди–Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium), p-value – уровень статистической значимости соответствия частот аллелей закону Харди-Вайнберга.

В анализируемых группах были выявлены все искомые мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии. Распределение частот аллелей и генотипов во всех выборках соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (HWE p -value $>0,05$), за исключением гена MTRR в группе женщин с осложнениями беременности ($p=0,044$), что может быть объяснено межгенными взаимодействиями и сцеплением с другими значимыми полиморфизмами, поскольку изучаемые гены причастны к одному метаболическому пути.

Проверка силы ассоциации генотипов с предрасположенностью к осложнениям беременности оценивали для пяти моделей наследования

с помощью показателя отношения шансов (odds ratio, OR) с последующим выбором наилучшей модели. Модели наследования показывают различный вклад количества копий предрасполагающего аллеля или гомозиготного и гетерозиготного носительства на пенетрантность признака. Если показатель OR с поправкой на 95% CI превышал 1, то при $p<0,05$ считали, что носительство полиморфных аллелей вносит вклад в развитие патологий беременности. В случае, если показатель оказывался меньше 1, считали, что носительство альтернативных аллелей ассоциировано с низкой частотой возникновения патологии (таблица 5).

Таблица 5 – Сравнение отношения шансов (OR) для четырех моделей наследования признака исследованных полиморфных локусов

Ген (SNP), генотипы		Кодоминантная OR (95% CI)	Доминантная OR (95% CI)	Рецессивная OR (95% CI)	Сверхдоминантная OR (95% CI)	Лог-аддитивная OR (95% CI)
		A/A vs. A/G vs. G/G	A/A vs. A/ G+G/G	A/A+A/G vs. G/G	A/A+ G/G vs. A/G	
MTR rs1805087	A/A	1,00	1,00	1,00	1,00	1,29 (0,84-1,99)
	A/G	1,67 (0,94-2,94), 0,99 (0,32-3,07)	1,53 (0,90-2,62)	0,84 (0,27-2,58)	1,67 (0,95-2,92)	
	G/G					
p		0,2	0,11	0,76	0,072	0,25
AIC		336,9	335,6	338	334,9	336,8
		A/A vs. A/G vs. G/G	A/A vs. A/ G+G/G	A/A+A/G vs. G/G	A/A+ G/G vs. A/G	----
MTRR rs1801394	A/A	1,00	1,00	1,00	1,00	0,83 (0,58-1,19)
	A/G	0,41 (0,22-0,76), 0,75 (0,36-1,57)	0,49 (0,28-0,88)	1,33 (0,72-2,46)	0,47 (0,28-0,79)	
	G/G					
p		0,011	0,016	0,36	0,0036	0,31
AIC		331,1	332,3	337,3	329,6	337,1
		C/C vs. C/T vs. T/T	C/C vs. C/T+T/T	C/C+C/T vs. T/T	C/C+ T/T vs. C/T	----
MTHFR rs1801133	C/C	1,00	1,00	1,00	1,00	0,86 (0,58-1,27)
	C/T	1,07 (0,63-1,83) 0,52 (0,19-1,39)	0,95 (0,57-1,58)	0,51(0,19-1,31)	1,17 (0,70-1,96)	
	T/T					
p		0,35	0,85	0,15	0,55	0,45
AIC		338	338,1	336	337,7	337,5

Примечание: OR (odds ratio) – отношение шансов, CI – доверительный интервал, p- уровень статистической значимости, AIC – информационный критерий Акаике.
Полужирным шрифтом отмечены статистически значимые показатели.

Как следует из таблицы 5, статистически значимых данных о связи между носительством полиморфных аллелей генов фолатного цикла A2756G rs1805087 гена метионин-син-

тазы (MTR), A66G rs1801394 гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) и C677T rs1801133 гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) и предрасположенностью в осложне-

ниям беременности среди женщин казахской этнической группы получить не удалось с использованием ни одной модели наследования (во всех случаях $OR < 1$). Однако было выявлено, что нормальный аллель 66А гена метионин-синтазы-редуктазы MTRR связан со сниженным риском развития осложнений беременности в соответствии с кодоминантной ($OR=0,41$; $95\%CI=0,22-0,76$ и $OR=0,75$; $95\%CI=0,36-1,57$, при $p < 0,011$), доминантной ($OR=0,49$; $95\%CI=0,28-0,88$, при $p < 0,016$) и сверхдоминантной ($OR=0,47$; $95\%CI=0,28-0,79$, при $p < 0,0036$) моделями наследования. С учётом информационного критерия Акаике (AIC), наиболее достоверной можно считать сверхдоминантную модель наследования (AIC= 329,6 против 331,1 для кодоминантной и 332,3 для доминантной моделей наследования), что можно трактовать, как сниженную пенетрантность признака (риска осложнений беременности) как для гомозигот по нормальному аллелю, так и для гетерозигот. Однако, учитывая расхождения частот гена MTRR с ожидаемыми по уравнению Харди-Вайнберга в группе женщин с осложнениями беременности, следует подтвердить выявленные ассоциации путем изучения вероятных межгенных взаимодействий.

Частоты полиморфного аллеля G гена MTRR у женщин с осложнениями беременности составили 17,9%, у женщин контрольной групп – 22,3%. Полиморфизм A66G гена MTRR уменьшает активность соответствующего фермента в 4 раза, чем и объясняется вклад данного генетического варианта в развитие патологий беременности [12]. Однако частоты встречаемости аллеля MTRR 66G в группе женщин с привычной потерей плода и контрольной группе оказались близкими (42,9 и 44,6% соответственно). Статистический анализ выявил отсутствие ассоциации полиморфизма с патологией с казахской популяцией, что согласуется с данными, полученными в других азиатских популяциях. К аналогичным выводам пришли и китайские учёные. По результатам исследования, проведенного в китайской популяции на 200 семейных пар с патологией и 76 пар контрольной группы делается вывод, что связь между носительством полиморфизма A66G гена MTRR и привычной потерей плода отсутствует; отмечается, что частоты аллеля А и аллеля G не статистически достоверно не отличались среди мужчин и женщин в одной и той же экспериментальной группе, а также не было существенного различия между теми же гендерными субъектами в контрольных группах [13].

В клиническом отношении наиболее значимым представляется C677T rs1801133 полиморфизм гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR. Согласно полученным данным, частота полиморфного аллеля 677Т гена MTHFR у женщин с осложнениями беременности и женщин контрольной группы была практически одинаковой: составила 30% и 26,9% соответственно, что более чем в два раза меньше частоты полиморфного аллеля в обеих группах. Сведения о распространенности полиморфного аллеля данного гена в мировых популяциях гетерогенны. Частота встречаемости полиморфного аллеля 677Т в европейских популяциях составляет около 30%, тогда как в азиатских популяциях колеблется от 8 до 39%. Частота мутантной гомозиготы гена MTHFR 677ТТ также в разных популяциях сильно варьирует. Так, в Европе, Азии, Центральной и Южной Америке она колеблется от 10 до 32%, самые низкие общемировые частоты распределены в африканских популяциях (0-3%) (Wilcken et al., 2003). У азиатов распространенность составляет от 0,00% (Шри-Ланка, Индонезия) до 19,8% (народность ханьцы в Северном Китае). Чаще всего генотип 677ТТ наблюдается в Мексике (34,8%) и редко встречается у афроамериканцев (2,7%) [8,14-21].

Соответственно, демонстрируемая частота встречаемости полиморфного аллеля 677Т среди женщин казахской этнической группы, принявших участие в исследовании (5,8% в контрольной группе и 10,8% в основной группе), а так же частота носителей мутантных гомозигот (26,9% и 30,0% соответственно) находится в пределах диапазона частот в мировых популяциях. По результатам нашего исследования, статистически достоверной связи между носительством полиморфного аллеля данного гена и предрасположенности к осложнениям беременности замечено не было. Однако известно, что гомозиготное носительство данного полиморфного варианта данного гена снижает активность фермента *in vitro* на 70% у гомозигот по мутантному аллелю и на 35% у гетерозигот. Многочисленные исследования отмечают, что генотипы 677СТ и 677ТТ коррелируют с повышенным уровнем гомоцистеина и пониженной концентрацией фолатов в плазме крови и красных кровяных клетках, подчеркивая, что генетическая предрасположенность в сочетании с особенностями диеты приводит к задержке роста и антенатальной смерти плода, отслойке плаценты, позднему гестозу, преэклампсии, соответственно результаты наших экспериментальных данных достаточно не-

однозначны и требуют дополнительных исследований [15-17].

Возможность получения точной информации о частоте полиморфизмов ключевых генов, кодирующих синтез ферментов фолатного цикла A2756G rs1805087 гена метионин-синтазы (MTR), A66G rs1801394 гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) и C677T rs1801133 гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), представляет важность для понимания потребностей населения в приёме фолиевой кислоты с целью предотвращения осложнений беременности. Учитывая вклад полиморфизма данных генов в развитие осложнений беременности для многочисленных мировых популяций, дальнейшее изучение их и других клинически значимых полиморфизмов, сопряженных с осложнениями беременности, у женщин казахской этнической группы представляет важность для

общественного здравоохранения. Необходимо отметить, что данные по казахской этнической группе неоднозначны, что, вероятно, обусловлено рядом объективных причин (следствием популяционной специфичности, гетерогенности анализа или обуславливается ген-генным и/или ген-средовым взаимодействиями).

Полученные результаты исследований позволяют дополнить сведения о распространенности полиморфных аллелей генов фолатного цикла A2756G rs1805087 гена метионин-синтазы (MTR), A66G rs1801394 гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) и C677T rs1801133 гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) среди женщин казахской этнической группы.

Работа выполнена в рамках проекта МОН РК (1519/ГФ-4).

Литература

- 1 Ford, H. B., Schust, D. J. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy // *Rev. Obstet Gynecol.* – 2009. – №2. – P. 76 – 83.
- 2 Tamura T., Picciano M.F. Folate and human reproduction // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2006. – Vol. 83. – P. 993–1016.
- 3 Molloy A.M. Folate and homocysteine interrelationships including genetics of the relevant enzymes // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2004. – Vol. 15. – № 1. – P. 49–57.
- 4 Molloy A.M. Genetic aspects of folate metabolism // *Subcell Biochem.* – 2012. – Vol. 56. – № 105. – P. 30.
- 5 Barbosa, P. R., Stabler, S. P., Machado, A. L. et al. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 62. – № 8. – P. 1010–1121.
- 6 Forges T., Monnier–Barbarino P., Alberto J. M. et al. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 13. – № 3. – P. 225–238.
- 7 Rosenblatt D. S. Folate and homocysteine metabolism and gene polymorphisms in the etiology of Down syndrome. *Am. J. Clin. Nutrition.* – 1999. – Vol. 70. – № 4. – P. 429–430.
- 8 Binia A., Contreras A., Canizales–Quinteros S. et al. Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism // *Genes Nutr.* – 2014. – Vol. 9. – № 5. – P. 421.
- 9 Рапильбекова Г. К., Мамедалиева Н.М. Роль тромбофилии в генезе синдрома потери плода у женщин казахской популяции // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2006. – № 3. – С. 31–34.
- 10 Slager S.L., Schaid D.J. Evaluation of candidate genes in case–control studies: a statistical method to account for related subjects // *Am. J. Hum. Genet.* – 2001. – Vol. 68. – P. 1457–1462.
- 11 Solé X, Guinó E, Valls J, Iñesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies // *Bioinformatics* – 2006. – Vol. 22. – № 15. – P. 1928–1929.
- 12 Kim J.H., et al. Association of methionine synthase and thymidylate synthase genetic polymorphisms with idiopathic recurrent pregnancy loss // *Fertil. Steril.* – 2013. – P. 1674–1680.
- 13 Guo Q.N., et al. Association of methionine synthase reductase gene polymorphism with unexplained recurrent spontaneous abortion // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2012. – № 10. – P. 742–746.
- 14 Schwahn B, Rozen R. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: clinical consequences // *Am J Pharmacogenomics.* – 2001. – Vol 1. – №3. – P. 189–201.
- 15 Bae, J., Shin, S.J., Cha, S.H. et al. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) in spontaneously aborted embryos // *Fertility and Sterility.* – 2007. – Vol. 87. – № 2. – P. 351–355.
- 16 Engel, S.M., Olshan, A.F., Siega–RIZ, et al. Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small–for-gestational-age birth // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 95. – P. 1231–1251.
- 17 Holmes, Z. R., Regan L., Chilcott, I., Cohen, H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss // *Br. J. Haematol.* – 1999. – Vol. 105. – P. 98–101.
- 18 Wu, X., Zhao, L., Zhu, H. et al. Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis // *Genet Test Mol. Biomarkers.* – 2012. – Vol. 16. – № 7. – P. 806–811.

19 Botto L., Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a huge review // *Am J Epidemiol.* – 2000. – Vol. 151. – № 9. – P. 862–877.

20 Fodinger M., Horl W., Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase // *J. Nephrol.* – 1999. – № 13. – P. 1–17.

21 Wilcken B., Bamforth F., Li Z. et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide // *J. Med. Genet.* – 2003. – Vol. 40. – P. 619–625.

References

1 Ford HB, Schust DJ (2009) Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy, *Rev. Obstet Gynecol*, No 2, pp. 76–83.

2 Tamura T, Picciano MF (2006) Folate and human reproduction, *Am. J Clin. Nutr*, Vol. 83, pp. 993–1016.

3 Molloy AM (2004) Folate and homocysteine interrelationships including genetics of the relevant enzymes, *Curr. Opin. Lipidol*, Vol. 15, No 1, pp 49–57.

4 Molloy AM (2012) Genetic aspects of folate metabolism, *Subcell Biochem*, Vol. 56, No 105, pp 30.

5 Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL. et al (2008) Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women, *Eur. J. Clin. Nutr*, Vol. 62, No 8, pp. 1010–1121.

6 Forges T, Monnier-Barbarino PP, Alberto JM. et al (2008) Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health, *Hum. Reprod*, Vol. 13, No 3, pp. 225–238.

7 Rosenblatt DS (1999) Folate and homocysteine metabolism and gene polymorphisms in the etiology of Down syndrome, *Am. J. Clin. Nutrition*, Vol. 70, No 4, pp. 429–430.

8 Binia A, Contreras A, Canizales-Quinteros S. et al (2014) Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism, *Genes Nutr*, Vol. 9, No 5, pp. 421.

9 Rappilbekova GK, Mamedalieva NM (2006) The role of thrombophilia in the genesis of fetal loss syndrome in women of the Kazakh population, *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, No. 3, pp. 31–34.

10 Slager SL, Schaid DJ (2001) Evaluation of candidate genes in case-control studies: a statistical method to account for related subjects, *Am. J. Hum. Genet*, Vol. 68, pp. 1457–1462.

11 Solé X, Guinó E, Valls J, Iñiesta R, Moreno V (2006) SNPStats: a web tool for the analysis of association studies, *Bioinformatics*, Vol. 22, No 15, pp. 1928–1929.

12 Kim JH, et al (2013) Association of methionine synthase and thymidylate synthase genetic polymorphisms with idiopathic recurrent pregnancy loss, *Fertil. Steril*, pp. 1674–1680.

13 Guo QN, et al (2012) Association of methionine synthase reductase gene polymorphism with unexplained recurrent spontaneous abortion, *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, No 10, pp. 742–746.

14 Schwahn B, Rozen R (2001) Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: clinical consequences // *Am J Pharmacogenomics.* – 2001. – Vol 1. – No3. – Pp. 189–201.

15 Bae J, Shin SJ, Cha SH. et al (2007) Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) in spontaneously aborted embryos, *Fertility and Sterility*, Vol. 87, No 2, pp. 351–355.

16 Engel SM, Olshan AF et al (2001) Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small-for gestational age birth, *Am. J. Obstet. Gynecol*, Vol. 95, pp. 1231–1251.

17 Holmes ZR, Regan L, Chilcott I, Cohen H (1999) The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss, *Br. J. Haematol*, Vol. 105, pp. 98–101.

18 Wu X, Zhao L, Zhu H et al (2012) Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis, *Genet Test Mol. Biomarkers*, Vol. 16, No 7, pp. 806–811.

19 Botto L, Yang Q (2000) 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a huge review, *Am J Epidemiol*, Vol. 151, No 9, pp. 862–877.

20 Fodinger M, Horl W, Sunder-Plassmann G (1999) Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, *J. Nephrol*, No 13, pp. 1–17.

21 Wilcken B, Bamforth F, Li Z et al (2003) Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide, *J. Med. Genet*, Vol. 40, pp. 619–625.