

Полиморфизм С677Т МТНFR у матери как возможный фактор риска формирования хромосомных анеуплоидий у плода

Н.П. Веропотвелян¹, Ю.С. Погуляй¹, Д.А. Нестерчук¹, М.Н. Свиридов²

¹ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», г. Кривой Рог

²КУ «1-я городская больница, г. Кривой Рог» ДОР

Цель исследования: определение наличия взаимосвязи формирования хромосомной патологии у плода с генотипом матери по полиморфизму С677Т МТНFR и особенностей распределения генотипов по С677Т МТНFR у плодов с нормальным и аномальным кариотипами.

Материалы и методы. Были сформированы две группы: 1-я группа – женщины с хромосомными аномалиями (ХА) у плода (n=131); 2-я группа – плоды, у которых были выявлены ХА с использованием пренатального кариотипирования (n=110). В группу сравнения вошли женщины с кариотипированными плодами без ХА (n=139). В контрольную группу вошли 114 здоровых женщин, которые имеют одного и более здоровых детей. Во всех группах проведено определение полиморфизма С677Т МТНFR.

Результаты. Генотип С/Т достоверно (p<0,01) в 1,33 раза чаще выявляли в группе женщин, которые имели плод с нормальным кариотипом, и женщин контрольной группы против женщин, которые имели плод с ХА. Генотип Т/Т достоверно в 6,3 раза (p<0,01) чаще выявляли у женщин, отобранных для проведения пренатальной диагностики, по сравнению с женщинами контрольной группы. При расчете отношения шансов установлено, что риск иметь плод с признаками хромосомной патологии повышен в 7 раз (OR=7,000) у женщин, имеющих генотип Т/Т 677 МТНFR. **Заключение.** Гомозиготный генотип по мутантной аллели Т полиморфизма С677Т МТНFR у женщины с большой долей вероятности позволяет отнести ее к группе риска по возникновению хромосомных аномалий у плода.

Ключевые слова: фолатный обмен, хромосомные аномалии.

Рождение ребенка – это венец биологического, психологического, социального, финансово-экономического подвига – беременности. И нормальное ее течение, нормальное развитие плода, рождение здорового ребенка на сегодня тоже стало проблемой для большого количества супружеских пар. Так, у 80–85% новорожденных наблюдаются различные отклонения в состоянии здоровья.

Развитие репродуктивной медицины в своей основе на данный момент направлено на улучшение диагностических возможностей выявления патологии беременности и плода для обеспечения рождения здоровых детей, которые будут полноценными членами общества.

При этом все больше внимание уделяется изучению механизмов предупреждения возникновения патологии вынашивания беременности и развития плода.

Поскольку ведущей причиной невынашивания беременности на ранних сроках и развития патологии у плода является хромосомная патология, то многие исследования направлены на определение причин ее возникновения и соответственно разработки способов профилактики.

Так, одна из теорий возникновения невынашивания бе-

ремени и развития отдельных пороков у плода (ДНТ, расщелины губы и нёба) основывается на дефиците фолатов и генетических дефектах их обмена.

Оценка влияния обмена фолатов у матери на возникновение хромосомной патологии у плода

В 1999 году впервые выдвинута гипотеза о вовлечении полиморфизмов генов фолатного обмена матери в процесс возникновения трисомии 21 у плода [3].

В литературе высказывается предположение, что наличие низкофункциональных аллелей генов фолатного обмена вследствие изменения профиля метилирования ДНК в клетке может приводить к нарушению расхождения хромосом в процессе формирования гамет и возникновению поли- и анеуплоидии у плода. Дефицит метильных групп в быстро делящихся клетках эмбриона приводит к повышенному включению уридилевого нуклеотида вместо тимидилевого в синтезируемую цепь ДНК. В результате образуется аномально легко фрагментируемая ДНК, синтез ее резко замедляется. Это ведет к нарушению клеточного цикла быстро делящихся клеток плода и, возможно, способствует запуску механизмов апоптоза [2, 4].

Снижение метилирования в клетке, связанное с недостаточной активностью ферментов фолатного обмена или с дефицитом метильных групп, приводит к изменению профиля метилирования центральных районов хромосом, нарушению расхождения хромосом в оогенезе и повышает риск рождения ребенка с синдромом Дауна (трисомия по хромосоме 21). Изменение профиля метилирования ДНК ассоциировано также с нарушением расхождения хромосомы 18. Для других аутосом (хромосомы 2, 7, 10, 13, 14, 15, 16, 22) и половых хромосом такой ассоциации не показано [1, 4].

Исследования на лимфоцитах in vitro установили, что дефицит фолатов способствует возникновению анеуплоидий по 17-й и 21-й хромосомам [5].

Изначально оценивали только полиморфные варианты генов МТНFR с.677С>Т и МТR с.66А>G и в основном в отношении трисомии 21. По мере открытия новых звеньев метаболизма фолатов этот список расширился до семи вариантов (МТНFR 677С>Т и 1298А>С, МТR 66А>G, МТR 2756А>G, RFC1 80G>А и TYMS 28bp повтор и 1494 6bp делеция) [2].

Проведенный мета-анализ различных исследований показал, что повышение риска возникновения хромосомной патологии у плода (в частности синдрома Дауна) происходит только при комбинации различных низкофункциональных генов фолатного цикла у матери [1].

В других исследованиях установлено, что аллелями риска являются МТНFR 677ТТ, RFC1 80АА, TYMS 1494 6bp +/-, TYMS 28bp 3R/3R и МТR 2756АА [2].

Особенно ярко выраженной оказалась ассоциация комбинации низкофункциональных вариантов МТНFR 677ТТ

Таблица 1

Распределение генотипов по С677Т МТНFR среди женщин, прошедших инвазивную пренатальную диагностику (n=270)

Кариотип плода	С/С	С/Т	Т/Т
Хромосомная патология	57/131 (43,51%)	58/131 (44,3%)	15/131 (12,2%)
Нормальный кариотип	42/139 (30,22%)	82/139 (58,99%)	15/139 (10,79%)
Контрольная группа (женщины – аборт)	47/114 (41,22%)	67/114 (57,02%)	2/114 (1,75%)

Таблица 2

Распределение генотипов по С677Т МТНFR в группе плодов, прошедших инвазивную пренатальную диагностику (n=253)

Кариотип плода	С/С	С/Т	Т/Т
Норма	54/143 (37,76%)	73/143 (51,04%)	15/143 (11,2%)
Патология	52/110 (47,27%)	48/110 (43,63%)	10/110 (9,1%)

и TУMS 28bp 3R/3R, что может объясняться нарушением баланса ДНК-метилирования и ДНК-синтеза [6].

Цель исследования: определение наличия взаимосвязи формирования хромосомной патологии у плода с генотипом матери по полиморфизму С677Т МТНFR и особенностей распределения генотипов по С677Т МТНFR у плодов с нормальным и аномальным кариотипами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования за период с 2012 г. по 1-е полугодие 2016 г. были сформированы две группы: 1-я группа – женщины, у которых при проведении инвазивной пренатальной диагностики (биопсия ворсин хориона, плацентоцентез, амниоцентез) были выявлены хромосомные аномалии (ХА) у плода (n=131); 2-я группа – плоды, у которых были выявлены ХА с использованием пренатального кариотипирования (n=110; 55 случаев – Т21, 13 случаев – Т18, 6 случаев – Т13, 3 случая – 47,ХХУ, 10 случаев – 45,Х, 23 случая – других ХА).

В группу сравнения вошли женщины с кариотипированными плодами без ХА (n=139), направленные на инвазивную пренатальную диагностику (УЗ и биохимические маркеры ХА), а также был использован материал зуплоидных плодов этой группы женщин, прошедших инвазивную пренатальную диагностику (n=143).

В контрольную группу вошли 114 здоровых женщин, которые имеют одного здорового ребенка и более (с отсутствием в анамнезе СА, замерших беременностей, случаев мертворождения, рождения детей с ВПР или ХА, не попадавшие при предыдущих беременностях в группу высокого риска рождения ребенка с ХА по результатам ультразвукового и биохимического скрининга), обратившиеся для проведения медицинского аборта (в продукте концепции abortивного материала после проведения кариотипирования ХА были исключены; образцы биологического материала для формирования контрольной группы переданы из КУ «Городская больница № 1» и КУ «Криворожский городской родильный дом № 1») в сроках от 7 до 11 нед гестации.

Во всех группах проведено определение полиморфизма С677Т МТНFR методом аллельспецифической ПЦР с детекцией продуктов амплификации в 2% агарозном геле.

Выделение ДНК для проведения исследований проводили из образцов буккального эпителия, ворсин хориона/плаценты и амниотической жидкости.

Статистический анализ данных проводили методами вариационной статистики. Проверку статистических гипотез осуществляли на уровне значимости $p \leq 0,05$. Определение достоверности различий выборок проводили с использованием метода углового преобразования Фишера при $p < 0,05$. Ассоциации определенных генотипов с риском развития патологии оценивали с помощью расчета отношения шансов (ВШ – OR, odd ratio) при 95% доверительном интервале с

использованием электронного калькулятора (<http://medstatistic.ru/calculators/calcodds.html>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе полученных результатов было отмечено, что генотип С/Т достоверно ($p < 0,01$) в 1,33 раза чаще выявляли в группе женщин, которые имели плод с нормальным кариотипом, и женщин контрольной группы против женщин, которые имели плод с ХА. Достоверных различий в распределении генотипов С/С (гомозигота по нормальной аллели) и Т/Т (гомозигота по мутантной аллели) в исследуемой группе женщин и группе сравнения выявлено не было (табл. 1, 2).

При этом генотип Т/Т достоверно в 6,3 раза ($p < 0,01$) чаще выявляли у женщин, отобранных для проведения пренатальной диагностики, в сравнении с женщинами контрольной группы. При расчете отношения шансов установлено, что риск иметь плод с признаками хромосомной патологии повышен в 7 раз (OR=7,000) у женщин, имеющих генотип Т/Т 677 МТНFR.

При анализе распределения генотипов в группе плодов достоверных отличий не было определено.

Считается, что распространенность того или иного генетического признака зависит от первоначальных условий обитания предков данной популяционной когорты. Так, в отношении генов фолатного обмена таким признаком является потребление фолатов с продуктами питания. С этим можно связать широкое распространение гетерозиготного генотипа по полиморфизму С677Т МТНFR в нашей популяции, что указывает на генетическую предрасположенность к повышенной потребности в получении фолиевой кислоты с продуктами питания.

Отсутствие достоверных различий по распределению генотипов С677Т МТНFR в исследуемой группе женщин и группе сравнения может объясняться тем, что женщины из группы сравнения также имели признаки ХА у плода (что позволило их отобрать для проведения пренатальной диагностики) несмотря на выявленный впоследствии нормальный кариотип. Это может быть связано с тем, что у определенной части плодов нарушения в геноме были меньше, чем позволяет увидеть разрешающая способность метода рутинного кариотипирования. В дальнейшем это возможно будет подтвердить или опровергнуть с помощью новых методик (сравнительной геномной гибридизации, секвенирования нового поколения и т.д.). Однако сообщения о недостаточной точности рутинного кариотипирования при пренатальной диагностике уже активно публикуются на протяжении последнего десятилетия. Так, согласно исследованиям E.L.M. Lisenka и соавторы (2003) с использованием технологии Array-Based Comparative Genomic Hybridization из 20 пациентов с умственной отсталостью и дисморфическими признаками неизвестной этиологии с нормальным кариотипом у 7 (35%) были обнаружены неизвестные ранее микро-

дупликации и микроделеции [7]. По результатам исследования Susan L. Christiana и соавторов (2008), из 397 детей с аутизмом в 48 случаях (12%) были обнаружены ранее неизвестные нарушения микроструктуры хромосом [8]. Также, согласно заключению Ronald J. Warner, M.D. и соавторов (2012), метод микроэрепей-анализа микроделеций и микродупликаций (copy-number variants (CNV)) позволяет дополнительно выявить 12–15% аномалий у детей с маркерами хромосомной патологии при пренатальной диагностике [9].

Поліморфізм C677T MTHFR у матері як можливий фактор ризику формування хромосомних анеуплоїдій у плода

М.П. Веропотвелян, Ю.С. Погуляй, Д.О. Нестерчук, М.М. Свиридов

Мета дослідження: визначення наявності взаємозв'язку формування хромосомної патології у плода з генотипом матері за поліморфізмом C677T MTHFR та особливостей розподілу генотипів за C677T MTHFR у плодів з нормальним та аномальним каріотипами.

Матеріали та методи. Були сформовані дві групи: 1-а група – жінки з хромосомними аномаліями (ХА) у плода (n=131); 2-а група – плоди, у яких були виявлені ХА з використанням пренатального каріотипування (n=110). У групу порівняння увійшли жінки з каріотипованими плодами без ХА (n=139). У контрольну групу увійшли 114 здорових жінок, які мають одну здорову дитину і більше. У всіх групах проведено визначення поліморфізму C677T MTHFR.

Результати. Генотип С/Т достовірно (p<0,01) в 1,33 разу частіше виявлялися у групі жінок, які мали плід з нормальним каріотипом, і жінок контрольної групи проти жінок, які мали плід з ХА. Генотип Т/Т достовірно у 6,3 разу (p<0,01) частіше виявлялися у жінок, відібраних для проведення пренатальної діагностики, у порівнянні з жінками контрольної групи. Під час розрахунку відношення шансів встановлено, що ризик мати плід з ознаками хромосомної патології підвищений у 7 разів (OR=7,000) у жінок, що мають генотип Т/Т 677 MTHFR.

Заключення. Гомозиготний генотип за мутантним алелем Т поліморфізму C677T MTHFR у жінки з великою часткою ймовірності дозволяє віднести її до групи ризику з виникнення хромосомних аномалій у плода.

Ключові слова: фолатний обмін, хромосомні аномалії.

ВЫВОДЫ

Таким образом, по нашему мнению, гомозиготный генотип по мутантной аллели Т полиморфизма C677T MTHFR у женщины с большой долей вероятности позволяет отнести ее к группе риска по возникновению хромосомных аномалий у плода. Этот факт требует проведения дополнительных мероприятий по организации прекоцепционной подготовки женщины к зачатию с использованием данных молекулярно-генетических исследований.

C677T MTHFR polymorphism of the mother as a possible risk factor for the formation of chromosomal aneuploidy in the fetus

N.P. Veropotvelyan, Y.S. Pogulyay, D.A. Nesterchuk, M.N. Sviridov

The article presents the data of its own investigation to determine the existence of relationship formation chromosomal aberrations in the fetus with the mother's genotype polymorphism C677T MTHFR.

Materials and methods. Two groups were formed: 1 group – of women with chromosomal abnormalities in the fetus (n=131); 2 group the fruits that have been identified with the use of CA prenatal karyotyping (n=110). By way of comparison groups used women with karyotyped fruits without chromosomal abnormalities (n=139). Control group consisted of 114 healthy women who have one or more of a healthy child. In all groups performed the definition of polymorphism C677T MTHFR.

Results. The genotype of C/T was significantly (p<0,01) 1.33 times more common in the group of women who had a fetus with normal karyotype and a control group of women, against women who had a fetus with CA. Genotype T / T was significantly 6.3 times (p<0,01) is more common in women selected for the prenatal diagnosis compared with women in the control group. When calculating the odds ratio shows that the risk of having a fetus with signs of chromosomal aberrations increased 7-fold (OR=7,000) in women with genotype T / T 677 MTHFR.

Conclusion. Homozygous genotype for the mutant allele of MTHFR C677T T polymorphism in women with a high probability it determines the group at risk of chromosomal abnormalities in the fetus.

Key words: folate metabolism, chromosomal abnormalities.

Сведения об авторах

Веропотвелян Николай Петрович – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики»
Погуляй Юлия Сергеевна – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики»
Нестерчук Дарья Александровна – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики»
Свиридов Максим Николаевич – КУ «1-я городская больница г.Кривой Рог»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бескоровайна Т.С., Гудзенко С.В., Тверская С.М., Поляков А.В. Ассоциация полиморфных аллелей генов фолатного обмена с привычным невынашиванием беременности // Проблемы репродукции. – 2006. – № 1. – С. 53–60.
 2. Фетисова, Добролюбов А.С., Липин М.А., Поляков А.В. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. X, № 1.
 3. F Coppedi I*. Advances in the genetic aspects linking folate metabolism to the maternal risk of birth of a child with Down syndrome/ <http://www.oapublishinglondon.com/article/392>.
 4. Fabio Coppedi, Enzo Grossi, Francesca Micheli and Lucia Migliore. Polymorphisms in folate-metabolizing genes, chromosome damage, and risk of Down syndrome in Italian women: identification of key factors using artificial neural networks//BMC Medical Genomics 2010;3:42 DOI: 10.1186/1755-8794-3-42.
 5. Wang X1, Thomas P, Xue J, Fenech M. Folate deficiency induces aneuploidy in human lymphocytes in vitro-evidence using cytokinesis-blocked cells and probes specific for chromosomes 17 and 21// Mutat Res. 2004 Jul 13;551(1-2):167-80. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2004.03.008.
 6. Kibola CF, Forrest MS, Coppedi F, Agana L, Hubbard A, Smith MT, Bracci PM, Holly EA: Polymorphisms and haplotypes in folate-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin lymphoma// Blood 2004, 104:2155-2162 DOI: 10.1182/blood-2004-02-0557.
 7. Lisenka E.L.M. Vissers, Bert B.A. de Vries. Array-Based Comparative Genomic Hybridization for the Genomewide Detection of Submicroscopic Chromosomal Abnormalities // AJHG Volume 73, Issue 6, December 2003, Pages 1261–1270 doi: 10.1086/379977.
 8. Susan L. Christiana, Camille W. Bruneb, Jyotsna Sudia, Novel Sub-microscopic Chromosomal Abnormalities Detected in Autism Spectrum Disorder//Biological Psychiatry Volume 63, Issue 12, 15 June 2008, Pages 1111–1117 DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.01.009.
 9. Ronald J. Wapner, M.D., Christa Lese Martin, Ph.D. Chromosomal Microarray versus Karyotyping for Prenatal Diagnosis// N Engl J Med 2012; 367:2175-2184 December 6, 2012 DOI: 10.1056/NEJMoa1203382.

Статья поступила в редакцию 25.07.2016