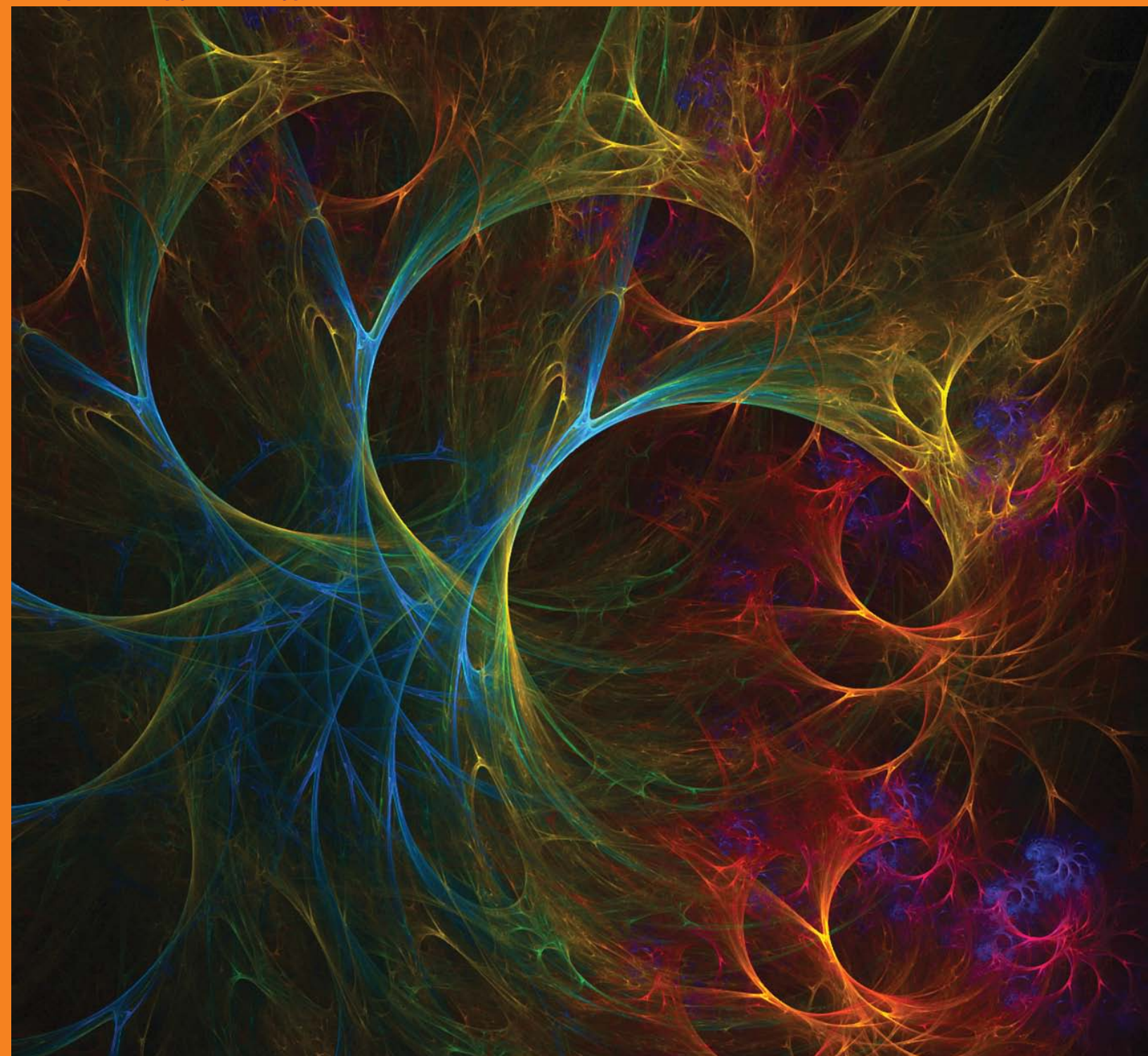


АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2018 • Том 12 • № 1



OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

ISSN 2313-7347

2018 Vol. 12 No 1

www.gynecology.su

Ассоциация полиморфных маркеров генов метаболизма фолатов с ранними потерями беременности

Третьякова Т.Б., Демченко Н.С.

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Россия, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 1

Резюме

Цель исследования: проанализировать распределение аллелей и генотипов полиморфных генов обмена фолатов у женщин с неразвивающейся беременностью (НБ) в анамнезе и у эмбрионов/плодов для установления ассоциации с риском потери беременности на ранних сроках. **Материалы и методы.** Обследовано 117 женщин с НБ I триместра (основная группа) и 117 женщин без случаев невынашивания беременности, с физиологическим течением настоящей беременности I триместра и нормальным кариотипом эмбриона/плода (группа сравнения). У всех женщин и эмбрионов/плодов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе ДТ-96 (НПО «ДНК-Технология», Россия) были проанализированы следующие полиморфизмы: MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G. **Результаты.** У женщин с НБ и хромосомной аномалией плода достоверно чаще встречался аллель MTR 2756G в сравнении с женщинами с НБ и нормальным кариотипом плода. **Заключение.** Выявлена ассоциация аллеля 2756G полиморфизма MTR 2756 A>G у женщин с хромосомным дисбалансом плода при НБ.

Ключевые слова

Неразвивающаяся беременность, ранняя потеря беременности, полиморфные гены обмена фолатов, кариотип эмбриона/плода.

Статья поступила: 09.10.2017 г.; в доработанном виде: 16.02.2018 г.; принята к печати: 22.03.2018 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия финансовой поддержки или конфликта интересов в отношении данной публикации.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования

Третьякова Т.Б., Демченко Н.С. Ассоциация полиморфных маркеров генов метаболизма фолатов с ранними потерями беременности. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2018; 12 (1): 42-52. DOI: 10.17749/2313-7347.2018.12.1.042-052.

Association between polymorphic genes of folate metabolism and early pregnancy losses

Tretyakova T.B., Demchenko N.S.

Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care,

Health Ministry of Russian Federation

1, ul. Repina, Yekaterinburg, 620028, Russia

Summary

Aim: to analyze the polymorphic genes of folate metabolism in women with history of non-developing pregnancy and in their embryos/fetuses in order to relate the genetic polymorphism with the risk of early pregnancy loss. **Materials and methods.** The main group consisted of 117 women with non-developing 1st trimester pregnancy; the comparison group included 117 women with no history of miscarriage, with physiological 1st trimester pregnancy and a normal fetal karyotype. By polymerase chain reaction in real time using DT-96 machine («DNA-technology», Russia) all women and embryos were analyzed for the following polymorphic variants: MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G. **Results.** The women with non-developing pregnancy and chromosomal abnormalities of the fetus had a significantly higher occurrence of the MTR 2756G allele in comparison with women with non-developing pregnancy and a normal karyotype of the fetus. **Conclusion.** The 2756G allele of the polymorphic MTR 2756 A>G gene in women with non-developing pregnancy is associated with a chromosomal imbalance of their fetuses.

Key words

Non-developing pregnancy, polymorphic genes of folate metabolism, fetal karyotype.

Received: 09.10.2017; **in the revised form:** 16.02.2018; **accepted:** 22.03.2018.**Conflict of interests**

The authors declare they have nothing to disclosure regarding the funding or conflict of interests with respect to this manuscript.

Authors contributed equally to this article.

For citation

Tretyakova T.B., Demchenko N.S. Association between polymorphic genes of folate metabolism and early pregnancy losses. Obstetrics, gynecology and reproduction [Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya]. 2018; 12 (1): 42-52 (in Russian). DOI: 10.17749/2313-7347.2018.12.1.042-052.

Corresponding author

Address: 1, ul. Repina, Yekaterinburg, 620028, Russia.

E-mail: medichkan@mail.ru (Demchenko N.S.).

Введение

Несмотря на достижения современной медицины, проблема неразвивающейся беременности (НБ) остается весьма актуальной. Около половины случаев (45%) со спонтанным прерыванием гестации клинически представляют собой НБ [1]. Ведущей причиной выкидышей ранних сроков являются различные генетические факторы. По обобщенным данным, в сроке до 7 недель гестации 65-70% погибших эмбрионов имеют хромосомные aberrации, в 12-17 недель – 15-20% [2].

В современной литературе описано множество полиморфных вариантов генов, определяющих предрасположенность к невынашиванию беременности, к ним относятся: гены иммунной системы – HLA I класса (HLA-G), HLA II класса (DQA, DQB, DR), интер-

лейкина 1 β (IL-1 β); гены эстрогенов (PGR) и рецепторов прогестерона (ER); гены плазменных факторов свертывания крови (FGB, F2, F5, F12) и рецепторов тромбоцитов (ITGA2, ITGB3); гены ферментов второй фазы детоксикации (GSTT1, GSTP1, GSTM1, NAT1); гены факторов роста хориона и сосудов плаценты (TNF, TGFB, IGF, VEGF-A) [3]. Важную роль в этиологии невынашивания беременности ранних сроков также играет полиморфизм генов ферментов обмена фолиевой кислоты – метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), метионин синтазы редуктазы (MTRR) и метионин синтазы (MTR).

Быстро пролиферирующие клетки эмбриона и хориона высокочувствительны к недостатку фолатов; нарушение работы их генома во время деления и дифференцировки приводит к формированию поро-

ков развития у плода и осложнениям беременности и родов [4, 5]. Полиморфизм генов фолатного обмена ассоциирован с развитием легкой или средней тяжести гипергомоцистеинемии, которая является фактором риска возникновения у плода дефектов нервной трубки, различных аномалий головного мозга, омфалоцеле, редукционных пороков конечностей, пороков развития сердечно-сосудистой и мочеполовой систем, дефектов полости рта, лица, ушей, задержки умственного развития у детей [6, 7]. Нарушение метаболизма фолатов негативно влияет на рост и формирование ворсин хориона и плаценты. На ранних сроках гестации это ведет к нарушению имплантации и плацентации плодного яйца и осложненному течению беременности: увеличению рисков невынашивания беременности, преждевременных родов, преэклампсии, плацентарной недостаточности, задержки роста плода, отслойки плаценты [8]. В итоге тяжелые врожденные пороки развития и/или хромосомные аномалии у плода, нарушения плацентации ведут к регрессу беременности или самопроизвольному выкидышу на ранних сроках гестации.

В мировой практике проведено множество исследований по поиску ассоциации с невынашиванием беременности полиморфных вариантов генов фолатного цикла. Наиболее исследован полиморфизм MTHFR 677C>T. В целом, результаты исследований весьма неоднозначны. Некоторые работы выявили риск привычного спонтанного аборта при наличии в генотипе женщин аллеля MTHFR 677T [9-12]. В работах других авторов таких ассоциаций выявить не удалось [13-22]. Вероятно, полученные различия могут быть объяснены особенностями популяций, дизайном работ, размером выборок и др.

Роль полиморфных вариантов генов MTR и MTRR в этиологии невынашивания беременности изучена более узким кругом авторов. При исследовании полиморфизма MTR 2756 A>G некоторые отечественные и зарубежные авторы обнаружили ассоциацию аллеля MTR 2756G с невынашиванием беременности [9, 13, 23, 24]. Рядом исследователей в работах, выполненных на европейских популяциях, установлены ассоциации аллеля 66G полиморфизма MTRR 66A>G с невынашиванием беременности [6, 24, 25].

Существует мнение, что большее значение в невынашивании беременности имеет не столько материнский генотип по полиморфным генам обмена фолатов, сколько генотип плода [13]. Работы, выполненные на материале абортированных эмбрионов, выявили у них повышенную частоту генотипов 677TT и 677CT полиморфизма MTHFR 677 C>T и генотипов 1298AC и 1298CC полиморфизма MTHFR 1298 A>C [17, 26-30].

Этиология НБ многофакторна и включает генетический, эндокринный, инфекционный, анатомический, гематологический и аутоиммунный факторы. Можно предположить, что на лабильность компенсаторно-приспособительных реакций при развитии системы «мать-плацента-плод» на фоне ряда других

факторов влияет и определенное сочетание генотипов генов предрасположенности к акушерским осложнениям, в том числе и генов метаболизма гомоцистеина как со стороны матери, так и со стороны плода.

Таким образом, исследования по изучению влияния полиморфных вариантов генов обмена фолатов у женщин с невынашиванием беременности довольно противоречивы. Исследования на плодном материале были проведены узким кругом авторов, при этом группу сравнения составляли женщины без случаев невынашивания беременности в анамнезе или новорожденные здоровые дети.

Цель исследования: проанализировать распределение аллелей и генотипов полиморфных генов обмена фолатов у женщин с НБ в анамнезе и у эмбрионов/плодов для установления ассоциации с риском потери беременности ранних сроков.

Материалы и методы

В исследовании проанализированы данные обследования 117 женщин с НБ I триместра (основная группа) в возрасте $32,5 \pm 0,5$ (21-44) лет. В данной группе у женщин в анамнезе зарегистрировано 2 и более спонтанные потери беременности до 12 недель гестации (самопроизвольные выкидыши, неразвивающиеся беременности). Также в исследование включены данные обследования 117 женщин в возрасте $28,6 \pm 0,6$ (18-28) лет без случаев невынашивания беременности в анамнезе, имеющие одного и более здоровых детей, с физиологическим течением настоящей беременности I триместра и нормальным кариотипом эмбриона/плода, принявших решение о медицинском прерывании беременности (контрольная группа). Гестационный срок беременности в основной группе составил 8-11,5 недель (10 недель \pm 4 дня), в контрольной группе – 5-12 недель (9 недель \pm 4 дня) ($p > 0,05$). Гестационный возраст гибели эмбрионов/плодов основной группы составил 4-11,5 недель (8 недель \pm 3 дня). В группе сравнения возраст эмбрионов/плодов соответствовал сроку гестации.

У всех женщин и их супругов были исключены хромосомные аномалии кариотипа.

Принявшие в исследовании женщины были проинформированы о цели и задачах исследования и заполнили информационное согласие.

Всем обследованным женщинам и абортированным эмбрионам/плодам выполнено исследование следующих полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла: MTHFR 677C>T (rs 1801133), MTHFR 1298 A>C (rs 1801131); MTRR 66 A>G (rs 1801394); MTR 2756 A>G (rs 1805087). У женщин ДНК выделяли из буккального эпителия набором реагентов «Проба-Рapid» (НПО «ДНК-Технология», Россия). ДНК эмбрионов/плодов получали из ворсин хориона набором реагентов «Проба-ГС-Генетика» (НПО «ДНК-Технология», Россия). Детекцию однонуклеотидных замен проводили методом ПЦР в режиме реального

времени на приборе ДТ-96 (НПО «ДНК-Технология», Россия). На образцах тканей хориона дополнительно проводили стандартное цитогенетическое исследование для определения кариотипа эмбриона/плода.

Для анализа статистической значимости данных использовали компьютерную программу Statistica 7 (StatSoft Inc., США). Разницу в распределении частот аллелей и генотипов определяли по критерию χ^2 Пирсона, в случае числа наблюдений менее 10 – по критерию χ^2 Йетса. Силу ассоциации аллелей и генотипов с предрасположенностью к заболеванию оценивали по показателю отношения шансов (odds ratio – OR). Проводили проверку на распределение генотипов в соответствии с законом Харди-Вайнберга. Различия величин принимали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В нашей работе мы изучили полиморфизм генов фолатного цикла на группах, сходных по возрасту развития, а именно, у половозрелых женщин и

внутриутробно развивающихся плодов. На наш взгляд, такая методология более эффективна с точки зрения изучения биологии развития человека.

Проведен комплексный анализ частоты распространения аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов фолатного цикла у женщин и эмбрионов/плодов группы случаев НБ и группы сравнения; распределение частоты генотипов соответствовало критериям закона Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Результаты анализа частоты распределения аллелей и генотипов по исследованным полиморфным вариантам генов у женщин представлены в **таблице 1**. Статистически достоверных отличий по частоте встречаемости вариантных аллелей и генотипов у женщин основной и контрольной групп получить не удалось.

Результаты анализа частоты распределения аллелей и генотипов по исследованным полиморфным вариантам генов обмена фолатов у эмбрионов/плодов представлены в **таблице 2**. Статистически значимых различий не наблюдалось, но у эмбрионов/

Таблица 1. Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у обследованных женщин.

Table 1. Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in the examined women.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Основная группа / Main group n (%)	Контрольная группа / Control group n (%)	p
MTHFR 677 C>T	CC	60 (55,05)	59 (53,15)	0,4
	CT	45 (41,28)	43 (38,74)	
	TT	4 (3,67)	9 (8,11)	
	C	165 (75,7)	161 (72,5)	0,4
	T	53 (24,3)	61 (27,5)	
MTHFR 1298 A>C	AA	48 (44,04)	50 (45,05)	0,9
	AC	44 (40,37)	46 (41,44)	
	CC	17 (15,6)	15 (13,51)	
	A	140 (64,2)	146 (65,8)	0,7
	C	78 (35,8)	76 (34,2)	
MTRR 66 A>G	AA	19 (17,8)	18 (16,2)	0,8
	AG	56 (52,3)	63 (56,8)	
	GG	32 (29,9)	30 (27)	
	A	94 (43,9)	99 (44,6)	0,8
	G	120 (56,1)	123 (54,4)	
MTR 2756 A>G	AA	75 (69,4)	68 (61,3)	0,4
	AG	29 (26,9)	37 (33,3)	
	GG	4 (3,7)	6 (5,4)	
	A	179 (82,9)	173 (77,9)	0,2
	G	37 (17,1)	49 (22,1)	

Таблица 2. Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у эмбрионов/плодов.**Table 2.** Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in the embryos/fetuses.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Плоды в основной группе / Fetuses in the main group n (%)	Плоды в контрольной группе / Fetuses in the control group n (%)	p	
MTHFR 677 C>T	CC	61 (54,95)	60 (54,55)	0,2	
	CT	46 (41,44)	40 (36,36)		
	TT	4 (3,6)	10 (9,09)		
	C	C	167 (75,7)	160 (72,7)	0,5
		T	54 (24,3)	60 (27,3)	
		TT	4 (3,6)	10 (9,1)	
	MTHFR 1298 A>C	CT+CC	107 (96,4)	100 (90,9)	0,09
AA		52 (47,27)	48 (44,04)		
AC		47 (42,73)	47 (43,12)		
CC		CC	11 (10)	14 (12,84)	0,8
		A	151 (68,6)	143 (65,6)	
		C	69 (31,4)	75 (34,4)	
MTRR 66 A>G		AA	10 (9,2)	14 (13)	0,4
	AG	59 (54,1)	63 (58,3)		
	GG	40 (36,7)	31 (28,7)		
	A	A	79 (36,2)	91 (42,1)	0,2
		G	139 (63,8)	125 (57,9)	
MTR 2756 A>G	AA	64 (52,7)	61 (57)	0,7	
	AG	35 (34,3)	43 (40,2)		
	GG	3 (2,9)	3 (2,8)		
	A	A	163 (79,9)	165 (77,1)	0,5
		G	41 (20,1)	49 (22,9)	

плодов при НБ наблюдалась тенденция к накоплению генотипов, содержащих аллель 677C (677CC и 677CT) полиморфизма MTHFR 677 C>T ($p = 0,09$ по доминантной модели наследования).

У 54 женщин с НБ (46% основной группы) определен нормальный кариотип эмбриона/плода, у остальных 63 женщин основной группы (54% случаев) выявлены различные геномные и хромосомные аномалии кариотипа эмбриона/плода (**табл. 3**). Доля аномальных кариотипов (54%) и частота встречаемости наиболее распространенных трисомий (хромосом 16 – 10%; 22, 21, 13, половых – по 8% случаев), моносомии X (13%), триплоидии (16%), структурных перестроек хромосом (3%) согласуются с результатами, полученными на выборках из других популяций [31-35].

У эмбрионов/плодов с аномальным кариотипом 19% (12 случаев) были представлены в мозаичной форме. По данным других авторов, при проведении аналогичного исследования с использованием стан-

дартного цитогенетического метода анализа описывается различная частота мозаицизма в совокупности по всем видам хромосомных и геномных аномалий, которая составляет 0-20% [36, 37]. В работах с применением молекулярно-цитогенетического метода FISH (fluorescence in situ hybridization) получены данные о более высоком уровне мозаицизма: 66% в работе А.А. Кашеваровой и др. [38] и 50,3% в исследовании С.Г. Ворсановой и др. [31]. Поэтому выявленный в проведенном исследовании мозаицизм в 19% случаев хромосомной аномалии у плода можно рассматривать как характерный признак этиологии НБ.

Далее было проведено сравнение частоты встречаемости полиморфных аллелей и генотипов генов фолатного цикла у эмбрионов/плодов при НБ с нормальным кариотипом и у женщин с НБ (основная группа). Результаты представлены в **таблице 4**. Достоверных различий между группами не обнаружено, но наблюдалась тенденция к накоплению аллеля MTRR

Таблица 3. Аномалии кариотипа у эмбрионов/плодов у женщин с неразвивающейся беременностью.**Table 3.** Karyotype abnormalities of the embryos/fetuses in women with undeveloped pregnancy.

Мутации геномные / хромосомные / Genome / Chromosome mutations (n = 63)	Доля от аномальных (%) / Per cent of abnormal	Формула кариотипа / Karyotype
Трисомии (Всего) / Trisomies (Total) (n = 42)	66	
<i>Трисомии (кариотип) / Trisomies (karyotype)</i>	10	47,X,Y(XX),+16 mos 47,X,Y(XX),+16/46,X,Y(XX)*
	8,3	47,XX(XY),+22
	8	47,XX(XY),+21 47, XX,+21/46,XX*
	8,4	47,XXX 47,XXY mos 47,XXX[10]/45,X[4]/46,XX[4]*
	8	47,XX(XY),+13
	6,3	47,XX,+18
	6	47,XX(XY),+14 47,XX+14/46,XX*
	5	47,XX,+15
	3	47,X,Y,+1 mos 47,X,Y,+1/46,X,Y*
	3	47,XX,+19
Двойные трисомии / Double Trisomies (n = 1)	2	48,XXY,+22
Моносомия / Monosomy (n = 8)	13	45,X mos 45,X/46,X,Y* mos 45,X/46,XX*
Структурная перестройка / Structural reconstruction (n = 2)	3	46,XX,del(16)(q12) 46,X,Y,t(3;5)(q25;q35)
Триплоидия / Triploidy (n = 10)	16	69,XXX 69,XXY 69,XYY chi 69,XXY[7]/46, XY[8]

66G полиморфизма MTRR 66 A>G у эмбрионов/плодов в сравнении с женщинами с НБ ($p = 0,087$).

Далее было проведено сравнение частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов фолатного цикла у эмбрионов/плодов с нормальным кариотипом при НБ и у женщин контрольной группы (табл. 5). Достоверных различий выявлено не было, но имелась тенденция к более высокой частоте встречаемости генотипа MTRR 66GG у эмбрионов/плодов с нормальным кариотипом при НБ в сравнении с репродуктивно успешными женщинами контрольной группы ($p = 0,056$).

На следующем этапе работы (для анализа влияния полиморфных вариантов генов фолатного цикла на риск формирования хромосомной аномалии у плода) женщины основной группы были разделены на

2 подгруппы – с нормальным и аномальным кариотипом плода при данной НБ. Изучена частота встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов фолатного цикла у женщин с аномальным кариотипом плода при НБ и у женщин с НБ и нормальным кариотипом плода (табл. 6). Результаты выявили достоверное различие по частоте встречаемости аллеля 2756G полиморфизма MTR 2756 A>G, который достоверно чаще ($OR = 2,02$; $CI\ 95\%:1,0-4,04$; $p = 0,047$) встречался в подгруппе женщин с НБ и хромосомной аномалией у плода.

Заключение

У женщин с НБ и наличием хромосомной аномалии у плода достоверно чаще встречался аллель MTR 2756G в сравнении с женщинами с НБ, но с нормальным карио-

Таблица 4. Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у эмбрионов/плодов с нормальным кариотипом при неразвивающейся беременности и у женщин с неразвивающейся беременностью.

Table 4. Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in the embryos/fetuses with a normal karyotype in non-developed pregnancy and in women with non-developed pregnancy.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Плоды в основной группе с нормальным кариотипом / Fetuses with normal karyotype in the main group n (%)	Женщины основной группы / Women in the main group n (%)	p
MTHFR 677 C>T	CC	22 (45,8)	62 (54,4)	0,6
	CT	24 (50)	47 (41,2)	
	TT	2 (4,2)	5 (4,2)	
	C	68 (70,8)	151 (75)	0,4
	T	28 (29,2)	57 (25)	
MTHFR 1298 A>C	AA	20 (42,5)	50 (43,8)	0,8
	AC	21 (44,7)	46 (40,4)	
	CC	6 (12,8)	18 (15,8)	
	A	61 (65)	149 (64)	0,9
	C	33 (35)	82 (36)	
MTRR 66 A>G	AA	7 (12,3)	26 (19,1)	0,2
	AG	26 (45,6)	69 (50,7)	
	GG	24 (42,1)	41 (30,1)	
	A	40 (35,1)	121 (44,5)	0,087
	G	74 (64,9)	151 (55,5)	
MTR 2756 A>G	AA	36 (64,3)	92 (67,2)	0,8
	AG	19 (33,9)	41 (29,9)	
	GG	1 (1,8)	4 (2,9)	
	A	91 (81,3)	225 (82,1)	0,8
	G	21 (18,8)	49 (17,9)	

Таблица 5. Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у эмбрионов/плодов с нормальным кариотипом при неразвивающейся беременности и у женщин контрольной группы.

Table 5. Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in the embryos/fetuses with a normal karyotype in non-developed pregnancy and in women with physiological pregnancy.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Плоды в основной группе с нормальным кариотипом / Fetuses with normal karyotype in the main group n (%)	Женщины контрольной группы / Women in the control group n (%)	p
MTHFR 677 C>T	CC	22 (45,8)	63 (53,8)	0,3
	CT	24 (50)	45 (38,5)	
	TT	2 (4,2)	9 (7,7)	
	C	68 (70,8)	171 (73)	0,7
	T	28 (29,2)	63 (27)	
MTHFR 1298 A>C	AA	20 (42,6)	53 (45,3)	0,8
	AC	21 (44,7)	46 (39,3)	

Таблица 5 (продолжение). Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у эмбрионов/плодов с нормальным кариотипом при неразвивающейся беременности и у женщин контрольной группы.

Table 5 (continuation). Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in the embryos/fetuses with a normal karyotype in non-developed pregnancy and in women with physiological pregnancy.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Плоды в основной группе с нормальным кариотипом / Fetuses with normal karyotype in the main group n (%)	Женщины контрольной группы / Women in the control group n (%)	p
MTHFR 1298 A>C	CC	6 (12,8)	18 (15,4)	1,0
	A	61 (65)	152 (65)	
	C	33 (35)	82 (35)	
MTRR 66A>G	AA	7 (12,3)	18 (15,1)	0,2
	AG	26 (45,6)	68 (57,1)	
	GG	24 (42,1)	33 (27,7)	0,1
	A	30 (35,1)	104 (43,7)	
	G	74 (64,9)	134 (56,3)	
	GG	24 (42,1)	33 (27,7)	0,056
	AG+AA	33 (57,9)	86 (72,3)	
MTR 2756 A>G	AA	36 (64,3)	72 (60,5)	0,6
	AG	19 (33,9)	41 (34,5)	
	GG	1 (1,8)	6 (5,0)	
	A	91 (81,3)	185 (77,7)	0,5
	G	21 (18,8)	53 (22,3)	

Таблица 6. Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у женщин с неразвивающейся беременностью с нормальным и аномальным кариотипом плода.

Table 6. Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in women with non-developed pregnancy and normal vs abnormal karyotypes.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Женщины основной группы с аномальным кариотипом плода / Women with abnormal fetus karyotype in the main group n (%)	Женщины основной группы с нормальным кариотипом плода / Women with normal fetus karyotype in the main group n (%)	p
MTHFR 677 C>T	CC	31 (50,8)	30 (51,7)	0,97
	CT	24 (39,3)	23 (39,7)	
	TT	4 (9,8)	5 (8,6)	
	C	86 (70,5)	83 (71,6)	0,9
	T	32 (29,5)	33 (28,4)	
MTHFR 1298 A>C	AA	28 (47,5)	26 (44,8)	0,96
	AC	23 (39)	24 (41,4)	
	CC	8 (13,5)	8 (13,8)	
	A	79 (66,9)	76 (65,5)	0,8
	C	39 (33,1)	40 (34,5)	
MTRR 66A>G	AA	13 (22,8)	11 (20,4)	0,8
	AG	28 (49,1)	25 (46,3)	

Таблица 6 (продолжение). Частота аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного цикла у женщин с неразвивающейся беременностью с нормальным и аномальным кариотипом плода.

Table 6 (continuation). Occurrence of alleles and types of polymorphisms in the folate cycle genes in women with non-developed pregnancy and normal vs abnormal karyotypes.

Ген (полиморфизм) / Gene (polymorphism)	Генотип (аллель) / Genotype (allele)	Женщины основной группы с аномальным кариотипом плода / Women with abnormal fetus karyotype in the main group n (%)	Женщины основной группы с нормальным кариотипом плода / Women with normal fetus karyotype in the main group n (%)	p
MTRR 66A>G	GG	16 (28,1)	18 (33,3)	0,6
	A	54 (47,4)	47 (43,5)	
	G	60 (52,6)	61 (56,5)	
MTR 2756A>G	AA	28 (60,9)	47 (74,6)	0,13
	AG	14 (30,4)	15 (23,8)	
	GG	4 (8,7)	1 (1,6)	0,047*
	A	70 (76,1)	109 (86,5)	
	G	22 (23,9)	17 (13,5)	

Примечание: * – различия статистически значимы.

Note: * – the differences are statistically significant.

типом плода. Таким образом, была выявлена ассоциация носительства аллеля MTR 2756G в генотипе женщин с хромосомным дисбалансом у плода при НБ.

При НБ у плодов с нормальным кариотипом наблюдалась тенденция к накоплению аллеля MTRR 66G в сравнении с женщинами репродуктивного возраста основной ($p = 0,087$) и контрольной групп

($p = 0,056$). Возможно, мы наблюдали тенденцию накопления аллеля MTRR 66G гена метионин синтазы редуктазы у плодов и нарушение защитной функции фолатов во время беременности в отношении воздействия тератогенных и мутагенных факторов на плод и нормальное развитие и функции плаценты.

Литература:

1. Радзинский В.Е., Демитрова В.И., Майскова И.Ю. Неразвивающаяся беременность. М.: ГЕОТАР-Медиа. 2009: 200 с.
2. Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития: научно-практические аспекты. СПб.: Изд-во Н-Л. 2007: 640 с.
3. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины [Под ред. В.С. Баранова]. СПб.: Изд-во Н-Л. 2009: 528 с.
4. Бицадзе В.О., Самбурова Н.В., Макацария Н.А., Мищенко А.Л. Фолатдефицитные состояния в акушерской практике и проблема их коррекции. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2016; 10 (1): 38-48.
5. B vitamins and folate: chemistry, analysis, function and effects [Ed. V.R. Preedy]. London: RSC. 2013: 888 p.
6. Тромбеморрагические осложнения в акушерско-гинекологической практике: Руководство для врачей [Под ред. А.Д. Макацария]. М.: МИА. 2011: 1056 с.
7. Kim S.Y., Park S.Y., Choi J.W. et al. Association between MTHFR 1298A>C polymorphism and spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy. *Am J Reprod Immunol*. 2011; 66 (4): 252-8.
8. Пустотина О.А. Достижения и риски применения фолатов вне и во время беременности. *Медицинский Совет*. 2015; 9: 92-9.
9. Беспалова О.Н. Генетические факторы риска невынашивания беременности: Автореф. дис. докт. мед. наук. СПб. 2009: 46 с.
10. Kumar K.S., Govindaiah V., Naushad S.E. et al. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol*. 2003; 23: 55-8.
11. Lissak A., Sharon A., Fruchter O. et al. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss. *Am J Obstet Gynecol*. 1999; 181: 126-30.
12. Nelen W.L., Steegers E.A., Eskes T.K. et al. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet*. 1997; 350: 861.
13. Бескоровайная 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: 53-60.
14. Малышева О.В., Беспалова О.Н., Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Невынашивание беременности и полиморфизм генов системы свертывания крови. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2007; 1: 21-7.
15. Alfirevic Z., Mousa H.A., Martlew V. et al. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol*. 2001; 97: 753-9.
16. Foka Z.J., Lambropoulos A.F., Saravelos H. et al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod*. 2000; 15: 458-62.
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; 105: 98-101.
18. Kupfermanc M.J., Eldor A., Steinman N. et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999; 340: 9-13.
 19. Many A., Elad R., Yaron Y. Third-trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *Obstet Gynecol.* 2002; 99: 684-7.
 20. Martinelli I., Taioli E., Cetin I. et al. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med.* 2000; 343: 1015-8.
 21. Murphy R.P., Donoghue C., Nallen R.J. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 20: 266-70.
 22. Pihusch R., Buchholz T., Lohse P. et al. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol.* 2001; 46: 124-31.
 23. Машкина Е.В., Коваленко В.А., Деверянчук Е.Г., Шкурат Т.П. Ассоциация полиморфных вариантов генов фолатного цикла и интегринов с невынашиванием беременности. *Медицинская генетика.* 2013; 1: 40-5.
 24. Basco P., Gueant-Rodriguez R.M., Anello G. et al. Methionine synthase (MTR) 2756A>G polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are three risk factors for having a child with Down syndrome. *Am J Med Genet.* 2003; 121 (3): 219-24.
 25. Bepalova O.N., Baranov V.S., Ivashchenko T.E. et al. A66G polymorphism of methionine synthase reductase (MTRR) gene is associated with spontaneous abortions. Abstracts European human genetics conference. *Nice, France.* 2007; 1: 214.
 26. Bae J., Shin S.J., Cha S.H. et al. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) in spontaneously aborted embryos. *Fertil Steril.* 2007; 87 (2): 351-5.
 27. Bukowski R., Malone F.D., Porter F.T. et al. Preconceptional folate supplementation and the risk of spontaneous preterm birth: a cohort study. *Plos Med.* 2009; 6 (5): e1000061.
 28. Callejon G., Mayor-Olea A., Jimenez A.J. et al. Genotypes of the C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene as a cause of human spontaneous embryo loss. *Hum Reprod.* 2007; 12: 3249-54.
 29. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 986-90.
 30. Zetterberg, H., Zafiroopoulos A., Spandidos D.A. et al. Gene-gene interaction between fetal MTHFR 677C>T and transcobalamin 776C>G polymorphisms in human spontaneous abortion. *Hum Reprod.* 2003; 18: 1948-50.
 31. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Колотий А.Д. и др. Хромосомный мозаицизм в материале спонтанных аборт: интерфазный молекулярно-цитогенетический анализ 650 случаев. *Генетика.* 2010; 46 (10): 1356-9.
 32. Суханова Н.Н. Цитогенетические нарушения при ранней эмбриональной летальности. IX научная конференция «Генетика человека и патология. Актуальные проблемы современной цитогенетики»: сборник научных трудов. *Томск.* 2011: 71-7.
 33. Чиряева О.Г., Петрова Л.И., Садик Н.А. и др. Цитогенетический анализ хориона при неразвивающейся беременности. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2007; LVI (1): 35-45.
 34. Lebedev I.N., Ostroverkhova N.V., Nikitina T.V. et al. Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis. *Eur J Hum Genet.* 2004; 12 (7): 513-20.
 35. Nagaishi M., Yamamoto T., Iinuma K. et al. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2004; 30 (3): 237-41.
 36. Никитина Т.В., Суханова Н.Н., Кашеварова А.А. и др. Создание банка тканей и характеристика хромосомных нарушений при ранней эмбриональной гибели у человека. IX научная конференция «Генетика человека и патология. Актуальные проблемы современной цитогенетики»: сборник научных трудов. *Томск.* 2011: 71-7.
 37. Schaaf C.P., Zschocke J., Potocki L. Human genetics: from molecules to medicine. *Lippincott Williams & Wilkins.* 2012: 397 s.
 38. Кашеварова А.А., Суханова Н.Н., Толмачева Е.Н. и др. Хромосомный мозаицизм в экстраэмбриональных тканях зародышей человека. IX научная конференция «Генетика человека и патология. Актуальные проблемы современной цитогенетики»: сборник научных трудов. *Томск.* 2011: 54-9.

References:

1. Radzinsky V.Ye., Demitrova V.I., Mayskova I. Yu. Non-developing pregnancy [Nerazvivayushchayasya beremennost']. *M.: GEOTAR-Media.* 2009: 200 s (in Russian).
2. Baranov V.S., Kuznetsova T.V. Cytogenetics of embryonic development: scientific and practical aspects [Citogenetika embrional'nogo razvitiya: nauchno-prakticheskie aspekty]. *SPb.: Izd-vo N-L.* 2007: 640 s (in Russian).
3. Genetic passport – the basis of individual and predictive medicine [Geneticheskij pasport – osnova individual'noj i prediktivnoj mediciny (Pod red. V.S. Baranova)]. *SPb.: Izd-vo N-L.* 2009: 528 s (in Russian).
4. Bitsadze V.O., Samburova N.V., Makatsariya N.A., Mishchenko A.L. Folate deficiency states in obstetric practice and the problem of their correction [Folatdeficitnyye sostoyaniya v akusherской практике i problema ih korekcii]. *Akusherstvo, ginekologiya i reprodukcija.* 2016; 10 (1): 38-48 (in Russian).
5. B vitamins and folate: chemistry, analysis, function and effects [Ed. V.R. Preedy]. *London: RSC.* 2013: 888 p.
6. Thrombohemorrhagic complications in obstetric-gynecological practice: a guideline for doctors [Trombogemorragicheskie oslozheniya v akushersko-ginekologicheskoy praktike: Rukovodstvo dlya vrachej (Pod red. A.D. Makacariya)]. *Moskva: MIA.* 2011: 1056 s (in Russian).
7. Kim S.Y., Park S.Y., Choi J.W. et al. Association between MTHFR 1298A>C polymorphism and spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy. *Am J Reprod Immunol.* 2011; 66 (4): 252-8.
8. Pustotina O.A. Achievements and risks of folate use in the nonpregnant state and during pregnancy [Dostizheniya i riski primeneniya folatov vne i vo vremya beremennosti]. *Medicinskij Sovet.* 2015; 9: 92-9 (in Russian).
9. Bepalova O.N. Genetic risk factors for miscarriage [Geneticheskie faktory riska nevnashivaniya beremennosti]. *Avtoref. dis. dokt. med. nauk. SPb.* 2009: 46 s (in Russian).
10. Kumar K.S., Govindaiah V., Naushad S.E. et al. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol.* 2003; 23: 55-8.
11. Lissak A., Sharon A., Fruchter O. et al. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 181: 126-30.
12. Nelen W.L., Steegers E.A., Eskes T.K. et al. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet.* 1997; 350: 861.
13. Beskorovainaya T.S., Gudzenko S.V., Tverskaya S.M., Polyakov A.V. Association of polymorphic alleles of folate metabolism genes with habitual miscarriage [Associaciya polimorfnyh allelej genov folatnogo obmena s privychnym nevnashivaniem beremennosti]. *Problemy reprodukcii.* 2006; 1: 53-60 (in Russian).
14. Malysheva O.V., Bepalova O.N., Ivashchenko T.E., Baranov V.S. Noninvasive pregnancy and polymorphism of blood coagulation system genes [Nevnashivanie beremennosti i polimorfizm genov sistemy svertyvaniya krovi]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 2007; 1: 21-7 (in Russian).
15. Alfievic Z., Mousa H.A., Martlew V. et al. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol.* 2001; 97: 753-9.
16. Foka Z.J., Lambropoulos A.F., Saravelos H. et al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod.* 2000; 15: 458-62.
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; 105: 98-101.
18. Kupfermink M.J., Eldor A., Steinman N. et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999; 340: 9-13.
 19. Many A., Elad R., Yaron Y. Third-trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *Obstet Gynecol.* 2002; 99: 684-7.
 20. Martinelli I., Taioli E., Cetin I. et al. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med.* 2000; 343: 1015-8.
 21. Murphy R.P., Donoghue C., Nallen R.J. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 20: 266-70.
 22. Pihusch R., Buchholz T., Lohse P. et al. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol.* 2001; 46: 124-31.
 23. Mashkina E.V., Kovalenko V.A., Deverianchuk E.G., Shkurat T.P. Association of polymorphic variants of folate cycle genes and integrins with miscarriage [Associatsiya polimorfnykh variantov genov folatnogo cikla i integrinov s nevnashivaniem beremennosti]. *Meditsinskaya genetika.* 2013; 1: 40-5 (in Russian).
 24. Basco P., Gueant-Rodriguez R.M., Anello G. et al. Methionine synthase (MTR) 2756A>G polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are three risk factors for having a child with Down syndrome. *Am J Med Genet.* 2003; 121 (3): 219-24.
 25. Bernalova O.N., Baranov V.S., Ivashchenko T.E. et al. A66G polymorphism of methionine synthase reductase (MTRR) gene is associated with spontaneous abortions. Abstracts European human genetics conference. *Nice, France.* 2007; 1: 214.
 26. Bae J., Shin S.J., Cha S.H. et al. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) in spontaneously aborted embryos. *Fertil Steril.* 2007; 87 (2): 351-5.
 27. Bukowski R., Malone F.D., Porter F.T. et al. Preconceptional folate supplementation and the risk of spontaneous preterm birth: a cohort study. *Plos Med.* 2009; 6 (5): e1000061.
 28. Callejon G., Mayor-Olea A., Jimenez A.J. et al. Genotypes of the C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene as a cause of human spontaneous embryo loss. *Hum Reprod.* 2007; 12: 3249-54.
 29. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 986-90.
 30. Zetterberg, H., Zafiroopoulos A., Spandidos D.A. et al. Gene-gene interaction between fetal MTHFR 677C>T and transcobalamin 776C>G polymorphisms in human spontaneous abortion. *Hum Reprod.* 2003; 18: 1948-50.
 31. Vorsanova S.G., Yurov I.Yu., Kolotiy A.D. et al. Chromosomal mosaicism in the material of spontaneous abortions: interphase molecular-cytogenetic analysis of 650 cases [Hromosomnyy mozaicizm v materiale spontannykh abortov: interfaznyy molekulyarno-citogeneticheskij analiz 650 sluchae]. *Genetika.* 2010; 46 (10): 1356-9 (in Russian).
 32. Sukhanova N.N. Cytogenetic disorders in early embryonic lethality [Citogeneticheskie narusheniya pri rannej embrional'noj letal'nosti]. IX nauchnaya konferentsiya «Genetika cheloveka i patologiya. Aktual'nye problemy sovremennoj citogenetiki»: sbornik nauchnykh trudov. *Tomsk.* 2011: 82 (in Russian).
 33. Chiryayeva O.G., Petrova L.I., Sadik N.A. et al. Cytogenetic analysis of the chorion in undeveloped pregnancy [Citogeneticheskij analiz horiona pri nerazvivayushcheyseya beremennosti]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 2007; LVI (1): 35-45 (in Russian).
 34. Lebedev I.N., Ostroverkhova N.V., Nikitina T.V. et al. Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis. *Eur J Hum Genet.* 2004; 12 (7): 513-20.
 35. Nagaishi M., Yamamoto T., Iinuma K. et al. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2004; 30 (3): 237-41.
 36. Nikitina T.V., Sukhanova N.N., Kashevarova A.A. et al. The creation of a tissue bank and the characterization of chromosomal abnormalities in early embryonic death in humans [Sozdanie banka tkanej i harakteristika hromosomnykh narushenij pri rannej embrional'noj gibeli u cheloveka]. IX nauchnaya konferentsiya «Genetika cheloveka i patologiya. Aktual'nye problemy sovremennoj citogenetiki»: sbornik nauchnykh trudov. *Tomsk.* 2011: 71-7 (in Russian).
 37. Schaaf C.P., Zschocke J., Potocki L. Human genetics: from molecules to medicine. *Lippincott Williams & Wilkins.* 2012: 397 s.
 38. Kashevarova A.A., Sukhanova N.N., Tolmacheva E.N. et al. Chromosome mosaicism in extraembryonic tissues of human embryos [Hromosomnyy mozaicizm v ekstraembrional'nykh tkanyah zarodyshej cheloveka]. IX nauchnaya konferentsiya «Genetika cheloveka i patologiya. Aktual'nye problemy sovremennoj citogenetiki»: sbornik nauchnykh trudov. *Tomsk.* 2011: 54-9 (in Russian).

Сведения об авторах:

Третьякова Татьяна Борисовна – к.м.н., доцент, старший научный сотрудник, руководитель лаборатории генетики ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ. Тел.: +7(912)2467716.

Демченко Надежда Сергеевна – к.м.н., врач лаборатории генетики ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ. Тел.: +7(904)5405056. E-mail: medichkan@mail.ru.

About the authors:

Tretyakova Tatyana Borisovna – PhD, Associate Professor, Senior Researcher, Head of Laboratory of Genetics, USRIMCC HM of RF. Tel.: +7(912)2467716.

Demchenko Nadezhda Sergeevna – PhD, Geneticist, Laboratory of Genetics, USRIMCC HM of RF. Tel.: +7(904)5405056. E-mail: medichkan@mail.ru.