

Полиморфизм *C677T* гена *MTHFR* и риск формирования несиндромальных орофациальных расщелин*

Мещерякова Т.И.¹, Маркова С.И.¹, Жилина С.С.¹, Гончаков Г.В.¹,
Гончакова С.Г.¹, Абрамов А.А.¹, Петрин А.Н.^{1,2}, Мутовин Г.Р.¹

¹ — Научно-практический центр медицинской помощи детям с врождёнными пороками развития челюстно-лицевой области и врождёнными заболеваниями нервной системы Департамента здравоохранения г.Москвы, 119620, Москва, ул. Авиаторов, д.38, факс (499) 730-98-27. E-mail: Ivanovna-76@mail.ru

² — ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздравсоцразвития России, 127473, Москва, ул. Делегатская, д.20, стр. 1

В настоящее время имеются противоречивые данные относительно роли полиморфизма гена метилентетрагидрофолат-редуктазы (*MTHFR*) в формировании риска рождения детей с расщелинами губы и/или нёба (РГН). Представлены данные анализа полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* у 102 детей с несиндромальными РГН.

Ключевые слова: врождённые расщелины губы и/или нёба, полиморфизм, метилентетрагидрофолатредуктаза (*MTHFR*)

Введение

Врождённые расщелины губы и/или нёба (ВРГН) относятся к самым распространённым врождённым дефектам у детей. Средняя частота несиндромальных ВРГН составляет от 0,41 до 1,2 случаев на 1000 новорождённых по субъектам РФ и существенно не отличается от данных регистра EUROCAT (0,39—1,39) [1].

В большинстве случаев ВРГН являются мультифакториальными заболеваниями с разным соотношением доли генетических и внешнесредовых факторов. Доказано негативное влияние во время беременности физических, химических факторов, неполноценного и несбалансированного питания, гормональных нарушений, ядов, ряда лекарственных веществ и биологических агентов (вирусы, бактерии и их токсины, простейшие) и др. В последние годы большое внимание уделяют анализу полиморфных вариантов ряда генов как факторов генетической предрасположенности в развитии данной патологии. В разных популяциях получены достоверные ассоциации полиморфизма генов: *IRF6*, *MDR1*, *MTHFR*, *ADH1A*, *ADH1B*, *ADH1C*, *MSX1*, *NAT2A*, *CYP1A1*, *PVRL1* — с риском развития ВРГН [11, 13, 14]. Однако для популяций, проживающих на территории России, эти данные получены на относительно небольших выборках пациентов и подчас носят противоречивый характер [2]. В частности, до сих пор неясно, действительно ли полиморфизм *C677T* в гене 5,10 *MTHFR* может ассоциироваться с повышенным риском рождения детей с ВРГН.

Известно, что фермент *MTHFR* играет важную роль в метаболизме фолиевой кислоты. Ген, кодирующий этот фермент (локализован в 1p36.3), состоит из 2200 пар нуклеотидов и содержит 11 экзонов. Полимор-

физм гена *C677T* характеризуется заменой аланина на валин, что сопряжено со снижением активности фермента *MTHFR* и приводит к развитию умеренной гипергомоцистеинемии [8, 9].

Производные фолиевой кислоты и продукты метаболизма фолатов принимают участие в процессах эмбриогенеза и могут нарушать метилирование ДНК и вызывать геномную нестабильность [7, 16]. Известно, что около половины населения в мире являются гетерозиготными носителями полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* [6]. Частота гомозигот *677TT* заметно варьирует в разных этнических группах и колеблется от 1% (среди чернокожих Африканского континента и Америки) до 20—35% (среди жителей Италии, Испании и Мексики) [10]. В разных регионах Российской Федерации вариабильность частот гомозигот *677TT* находится в пределах 4,6—13% [3].

Целью данной работы было изучение влияния полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* на риск возникновения несиндромальных ВРГН.

Объект и методы исследования

Проведено исследование 102 детей с несиндромальными расщелинами губы и/или нёба и их матерей. Группа контроля состояла из 57 здоровых детей и их матерей. Во всех случаях при заборе биологического материала получено письменное информированное согласие на исследование. ДНК для анализа выделена из слюны стандартным методом. Анализ проведён методом аллельспецифической ПЦР с последующим электрофорезом в 10%-ном полиакриламидном геле с подтверждением изменений двухсторонним секвенированием на анализаторе ABI Prism 3130 xl (AppliedBioSystems).

* Работа выполнена при финансировании гранта 8/3-656н-9 от 31.12.2009 года, а также при частичном финансировании гранта РФФИ №12-04-00122.

Частота аллелей и гаплотипов полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* в исследуемых группах

Группа	Количество человек (хромосом)	Гаплотип			Аллель	
		СС (норма)	СТ	ТТ	С	Т
Дети с ВРГН	102 (204)	42 (41%)	48 (47%)	12 (12%)	132 (64,7%)	72 (35,3%)
Матери детей с ВРГН	101 (202)	39 (39%)	53 (52%)	9 (9%)	131 (64,8%)	71 (35,2%)
Здоровые дети	57 (114)	23 (41%)	27 (47%)	7 (12%)	73 (64,0%)	41 (36,0%)
Матери здоровых детей	57 (114)	15 (26%)	36 (63%)	6 (11%)	66 (57,9%)	48 (42,1%)

Также были проведены исследования данного полиморфизма методом Real Time PCR с использованием набора AppliedBioSystems для определения полиморфизма *C677T* гена *MTHFR*.

Анализ гаплотипов исследуемого полиморфизма показал соответствие распределению Харди—Вайнберга ожидаемых и наблюдаемых частот аллелей и генотипов.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* представлены в таблице.

Для оценки взаимосвязи аллелей *T* и *C* с ВРГН проведено сравнение частот в двух группах: детей (здоровых и больных), а также среди матерей детей с ВРГН и матерей здоровых детей. Сравнительный анализ не выявил достоверных различий ни в первой ($\chi^2=0,02$; $p \leq 0,05$), ни во второй группах ($\chi^2=1,95$; $p \leq 0,05$). Таким образом, полученные нами результаты исследования полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* не выявили ассоциации между аллелем *T* и развитием несиндромальных расщелин губы и/или нёба. Аналогичные результаты были получены при обследовании популяций Венесуэлы, Китая и США [5, 15, 18]. В то же время исследования некоторых популяций Индии показали, что гомозиготные носители полиморфизма *677TT* гена *MTHFR* имеют повышенный риск развития ВРГН у потомства, а гетерозиготы *C677T*, напротив, имеют незначительный риск по данной патологии [4]. Эти же авторы в своём исследовании отметили, что определённые комбинации гаплотипов *820GG* гена *IRF6* и *C677T* гена *MTHFR* значительно увеличивают риск рождения детей с ВРГН [4]. В Норвегии у детей, матери которых были носителями полиморфизма *C677T* гена *MTHFR*, отмечен низкий риск формирования ВРГН [12]. В Нидерландах изучалось взаимодействие полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* с использованием фолиевой кислоты женщинами на ранних сроках беременности. Данное исследование показало, что в группе матерей, не принимавших препараты фолиевой кислоты во время беременности и имеющих гаплотип *677TT* или *1298CC* гена *MTHFR*, риск появления потомства с ВРГН увеличивался [17].

Таким образом, наше исследование позволило установить частоту полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* в группе детей с ВРГН и их матерей. Полученные нами результаты не подтверждают влияния полиморфизма

C677T гена *MTHFR* на повышение риска формирования несиндромальных ВРГН.

В дальнейшем представляет интерес включить в исследование наиболее значимые точковые мутации других генов фолатного цикла, а также увеличить выборку как больных, так и здоровых.

Список литературы

1. Демикова Н.С., Кобринский Б.А. Эпидемиологический мониторинг врождённых пороков развития в Российской Федерации. — М.: Пресс-Арт, 2011. — 236 с.
2. Назаренко М.С., Коваль М.М., Минайчева Л.И., Назаренко Л.П. Анализ ассоциаций полиморфного варианта *1298A>C* гена *5,10-метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR)* с риском врождённых пороков сердца и челюстно-лицевых аномалий // Медицинская генетика. — 2011. — Т. 10, №12. — С. 39—40.
3. Панкова Е.Е., Зинченко Л.В., Матулевич С.А., Голубцов В.И. Полиморфизм *C677T* гена *MTHFR* как фактор риска врождённой патологии у потомства // Кубан. науч. мед. Вестн. — 2009. — №6. — С. 144—147.
4. Ali A., Singh S.K., Raman R. *MTHFR 677TT* alone and *IRF6 820GG* together with *MTHFR 677CT*, but not *MTHFR A1298C*, are risks for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in an Indian population // Genet. Test. Mol. Biomarkers. — 2009. — №13 (3). — P. 355—360.
5. Blanton S.H., Henry R.R., Quiping Yuan, Mulliken J.B. et al. Folate pathway and nonsyndromic cleft lip and palate // Birth Defects Research (Part A): Clinical and Molecular Teratology. — 2011. — Vol. 91, 1. — P. 50—60.
6. Candito M., Rivet R., Herbeth B. et al. Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: a multicenter case-control study // Am. J. Med. Genet. A. — 2008. — Vol. 146A (9). — P. 1128—1133.
7. Friso P., Girelli D., Trabetti E. et al. The *MTHFR 1298A>C* polymorphism and genomic DNA methylation in human lymphocytes // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. — 2005. — Vol. 14. — №4. — P. 938—943.
8. Frosst P., Blom H.J., Milos R. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // Nat. Genet. — 1995. — Vol. 10. — P. 111—113.
9. Goyette P., Sumner J.S., Milos R. et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutational identification // Nat. Genet. — 1994. — Vol. 7. — P. 195—200.
10. Gueant-Rodriguez R.M., Gueant J.L., Debard R. et al. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase *677T* and *1298C* alleles and folate status: A comparative study in Mexican, West African, and European populations // Am. J. Clin. Nutr. — 2006. — Vol. 83. — P. 701—707.

11. Jugessur A., Min Shi, Gjessing H.K. et al. Fetal genetic risk of isolated cleft lip only (CLO) versus isolated cleft lip and palate (CLP): A sub-phenotype analysis using two population-based studies of orofacial clefts in Scandinavia // *Birth Defects Research (Part A): Clinical and Molecular Teratology*. — 2011. — Vol. 91(2). — P. 85–92.
12. Jugessur A., Wilcox A.J., Lie R.T. et al. Exploring the Effects of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants *C677T* and *A1298C* on the Risk of Orofacial Clefts in 261 Norwegian Case-Parent Triads // *Am. J. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 157. — P. 1083–1091.
13. Lourenco da Silva A., Arilho Ribeiro L., Cooper M. et al. Transmission analysis of candidate genes for nonsyndromic oral clefts in Brazilian parent-child triads with recurrence // *Genetics and Molecular Biology*. — 2006. — Vol. 29 (3). — P. 439–442.
14. Murthy J., Bhaskar L.V.K.S. Current concepts in genetics of nonsyndromic clefts // *Indian Journal of Plastic Surgery*. — 2009. — Vol. 42, 1. — P. 68–81.
15. Soezen M.A., Tolarova M.M., Spritz R.A. The common *MTHFR C677T* and *A1298C* variants are not associated with the risk of non-syndromic cleft lip/palate in northern Venezuela // *J. Genet. Genomics*. — 2009. — Vol. 36 (5). — P. 283–288.
16. Tamura T., Picciano M.F. Folate and human reproduction // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2006. — Vol. 83. — №5. — P. 993–1016.
17. Van Rooij I.A.L.M., Vermeij-Keers C., Kluijtmans L.A.J. et al. Does the Interaction between Maternal Folate Intake and the Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms Affect the Risk of Cleft Lip with or without Cleft Palate? // *Am. J. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 157. — P. 583–591.
18. Wan W.D., Wang L.J., Zhou X.P., Zhou D.L., Zhang Q.G. et al. Relationship between nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL/P) and genetic polymorphisms of *MTHFR C677T* and *A1298C* // — 2006. — Vol. 22 (1). — P. 8–11.

***MTHFR C677T* gene polymorphism and the risk of nonsyndromic orofacial cleft**

Meshcheryakova T.I.¹, Markova S.I.¹, Zhylina, S.S.¹, Gonchakov G.V.¹, Gonchakova S.G.¹, Abramov A.A.¹, Petrin A.N.^{1,2}, Mutovin G.R.¹

¹ — Scientific and Practical Center of medical care for children,

119620, Moscow, Aviatorov, 38, fax (499) 730-98-27. E-mail: Ivanovna-76@mail.ru

² — Moscow State Medico-Stomatological University,

127473, Moscow, Delegatskaya, 20, bld. 1

Currently, there are conflicting data regarding the role of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (*MTHFR*) in the formation of the risk of having children with cleft lip and/or palate (CL/P). The paper presents the analysis of the gene *MTHFR C677T* polymorphism in 102 children with nonsyndromic CL/P.

Key words: cleft lip and/or palate, polymorphism, methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*)