

УДК 61:575

## АНАЛИЗ ВКЛАДА ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА В ГЕНЕТИЧЕСКУЮ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Тверская А.В.

*ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия, 308015, ул. Победы, 85, e-mail: info@bsu.edu.ru*

В статье приведены результаты исследования ассоциаций молекулярно-генетических маркеров генов фолатного цикла с развитием преэклампсии у беременных русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземного региона России. Проведен комплексный анализ частот аллелей и генотипов у беременных с преэклампсией и контрольной группы (беременных с нормально протекающей беременностью). В группу беременных с преэклампсией вошли 315 пациенток, контрольную группу составили 179 беременных без преэклампсии. Установлено, что наибольшие различия частот генетических полиморфизмов генов фолатного обмена у беременных с преэклампсией и контрольной группы выявлены по +1298AC *MTHFR* (35,74% и 41,52%, соответственно), +1298CC *MTHFR* (20,96% и 13,45%), *MTR*+2756GG (5,35% и 2,41%), +1420TT *SHMT1* (14,14% и 8,72%), *IVS6-68CT TYMS* (8,36% и 4,24%).

Ключевые слова: преэклампсия, беременность, гены фолатного обмена;

## ANALYSIS OF THE CONTRIBUTION OF THE FOLATE GENE POLYMORPHISM EXCHANGE IN THE GENETIC PREDISPOSITION TO THE DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA

Tverskaya A.V.

*FGAOUVPO "Belgorod State University", Belgorod, Russia, 308015, Pobeda str., 85, e-mail: info@bsu.edu.ru*

The results of the study associations molecular genetic markers folate cycle genes with the development of preeclampsia in pregnant women with Russian nationality, who are natives of the Central Black Earth region of Russia. The complex analysis of allele and genotype frequencies in pregnant women with preeclampsia and control group (pregnant women with normal pregnancy). In the group of pregnant women with preeclampsia included 315 patients and the control group consisted of 179 pregnant women without preeclampsia. It was established that the greatest differences of frequencies of genetic polymorphisms of folate metabolism in pregnant women with preeclampsia and control groups identified by +1298ASMTHFR (35,74% and 41,52% respectively), +1298SSMTHFR (20,96% and 13,45% ), MTR + 2756GG (5,35% and 2.41%) +1420TTSHMT1 (14,14% and 8,72%), IVS6-68CT TYMS (8,36% and 4.24%).

Keywords: preeclampsia, pregnancy, folate metabolism genes;

Преэклампсия (ПЭ) – это патологическое состояние, которое осложняет течение беременности и характеризуется нарушением нервной, сосудистой, иммунной, эндокринной систем и системы гемостаза, а также, изменениями в функциях жизненно-важных органов (почек, печени, головного мозга, различными метаболическими изменениями адаптационных систем организма [1]. Существует более 30 аргументированных этиопатогенетических суждений о возникновении преэклампсии, однако, к сожалению, ни одно из них не объясняет однозначно и в полной мере многообразие происходящих при данном осложнении беременности морфофункциональных изменений и клинических манифестаций [4, 5]. Важным маркером развития осложнений беременности и её неблагоприятного исхода служит гомоцистеин. Гипергомоцистеинемия во время беременности приводит к таким

осложнениям, как: преэклампсия, привычная потеря плода, плацентарная недостаточность, задержка развития плода [2]. Исследования, посвящённые этиологии и патогенезу преэклампсии, свидетельствуют, что существует прямая зависимость риска данного осложнения беременности от низкого содержания фолатов и гипергомоцистеинемии. «Семейная» преэклампсия или преэклампсия в анамнезе сопряжена с дефицитом фолатов и высоким уровнем гомоцистеина, участвующих в развитии преэклампсии [3].

**Цель исследования:** изучить клиническое значение полиморфных генов-кандидатов фолатного обмена при преэклампсии.

### **Материалы и методы**

Проведено изучение 501 женщины: 315 беременных с диагнозом преэклампсия и 179 женщин с нормальным течением беременности (контрольная группа). В настоящее исследование вошли лица русской национальности, не имеющие между собой родства, являющиеся уроженками Центрально-Черноземного региона России. Клинико-лабораторное обследование женщин основной и контрольной группы проводилось на сроке родоразрешения на базе Перинатального центра Белгородской областной клинической больницы им. Святителя Иоасафа.

В основную группу включены беременные с диагнозом преэклампсия. Диагноз преэклампсии ставился на основании генерализованных отеков, артериальной гипертензии и протеинурии. Средний возраст женщин с ПЭ составил  $27,19 \pm 6,4$  лет (варьировал от 18 до 44 лет).

В контрольную группу вошли беременные без диагноза преэклампсия в возрасте от 19 до 41 года (средний возраст женщин составил -  $26,71 \pm 6,36$  лет) ( $p > 0,05$ ). Таким образом, контрольная группа беременных не отличалась от основной группы по полу, месту рождения, возрасту и национальности.

Клинико-лабораторное обследование проводилось на базе перинатального центра Белгородской областной клинической больницы им. Св. Иоасафа. Материалом для исследования послужила венозная кровь, полученная в объеме 8-9 мл из локтевой вены пробанда. Забор венозной крови производили в пробирки с консервантом, содержащим 0,5М раствор ЭДТА (рН=8.0). Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ локусов *MTHFR* +677C>T, *MTHFR* +1298A>C, *TYMS*-1053C>T, *TYMS* IVS6-68C>T, *TYMS* -1122A>G, *SHMT1* +1420C>T, *MTR*+1166A>G, *MTRR* +66A>G генов фолатного обмена осуществлялся с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующим анализом полиморфизма методом детекции TaqMan зондов. Расчет фенотипических и генных частот проводили стандартными методами. Выбор

данных генетических полиморфизмов обусловлен их возможной вовлеченностью в патогенез преэклампсии [6].

### Результаты исследования и их обсуждение

Популяционно – генетический анализ распределения изучаемых полиморфных маркеров ферментов фолатного цикла проводили на выборке женщин с диагнозом ПЭ и беременных без ПЭ (контрольной группы). Результаты генотипирования женщин с диагнозом ПЭ и контрольной группы по локусам *MTHFR* +677C>T, *MTHFR* +1298A>C, *TYMS* -1053C>T, *TYMS* IVS6-68C>T, *TYMS* -1122A>G, *SHMT1* +1420C>T, *MTR*+1166A>G, *MTRR* +66A>G, представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Распределение генотипов, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индекса фиксации полиморфных маркеров ферментов фолатного цикла у беременных с преэклампсией и в контрольной группе

Локусы показатели		Беременные с преэклампсией (n=322)	Беременные без преэклампсии (n=179)	
<i>MTHFR</i> +677C>T (rs 1801133)	$\Sigma N$	302	177	
	N <sub>0</sub> (N <sub>E</sub> )	CC	141 (144,64)	82 (84,78)
		CT	136 (128,72)	81 (75,44)
		TT	25 (28,64)	14 (16,78)
	$\chi^2_{(HWE)}$ (p)	0,97 (>0,05)	0,96 (>0,05)	
	H <sub>0</sub> (H <sub>E</sub> )	0,45 (0,43)	0,46 (0,43)	
	D (t)	+0,06 (0,75)	+0,07 (0,75)	
<i>TYMS</i> -1053C>T (rs 699517)	$\Sigma N$	305	173	
	N <sub>0</sub> (N <sub>E</sub> )	CC	160 (157,25)	89 (91,77)
		CT	118 (123,50)	74 (68,46)
		TT	27 (24,25)	10 (12,77)
	$\chi^2_{(HWE)}$ (p)	0,61 (>0,05)	1,13 (>0,05)	
	H <sub>0</sub> (H <sub>E</sub> )	0,39 (0,40)	0,43 (0,40)	
D (t)	-0,04 (0,56)	+0,08 (0,74)		
<i>SHMT1</i> +1420C>T (rs 1979277)	$\Sigma N$	297	172	
	N <sub>0</sub> (N <sub>E</sub> )	CC	136 (128,69)	86 (85,93)
		CT	119 (133,62)	71 (71,35)
		TT	42 (34,69)	15 (14,83)
	$\chi^2_{(HWE)}$ (p)	3,56 (>0,05)	0,004 (>0,05)	
	H <sub>0</sub> (H <sub>E</sub> )	0,40 (0,45)	0,41 (0,41)	
D (t)	-0,11 (1,59)	-0,005 (0,05)		
<i>MTR</i> +2756A>G (rs 1805087)	$\Sigma N$	299	166	
	N <sub>0</sub> (N <sub>E</sub> )	AA	183 (181,57)	99 (102,59)
		AG	100 (102,86)	63 (55,82)
		GG	16 (14,57)	4 (7,59)
$\chi^2_{(HWE)}$ (p)	0,23 (>0,05)	2,75 (>0,05)		

	$H_0$ ( $H_E$ )	0,33 (0,34)	0,38 (0,34)	
<b>MTRR +66A&gt;G</b> (rs 1801394)	$\Sigma N$	302	171	
	$N_0$ ( $N_E$ )	GG	106 (101,99)	55 (53,89)
		AG	139 (147,02)	82 (84,21)
		AA	57 (52,99)	34 (32,89)
	$\chi^2$ (HWE) (p)	0,90 (>0,05)	0,12(>0,05)	
	$H_0$ ( $H_E$ )	0,46 (0,49)	0,48 (0,49)	
	D (t)	-0,05 (0,90)	-0,03 (0,33)	
<b>TYMS IVS6-68C&gt;T</b> (rs 1059394)	$\Sigma N$	287	165	
	$N_0$ ( $N_E$ )	CC	158 (154,36)	89 (92,44)
		CT	105 (112,22)	69 (62,14)
		TT	24 (20,39)	7 (10,44)
	$\chi^2$ (HWE) (p)	1,19 (>0,05)	2,02 (>0,05)	
	$H_0$ ( $H_E$ )	0,37 (0,39)	0,42 (0,38)	
	D (t)	-0,06 (0,76)	+0,11 (0,92)	
<b>TYMS -1122A&gt;G</b> (rs 2790)	$\Sigma N$	297	172	
	$N_0$ ( $N_E$ )	AA	202 (201,28)	121 (121,40)
		AG	85 (86,44)	47 (46,21)
		GG	10 (9,28)	4 (4,40)
	$\chi^2$ (HWE) (p)	0,08 (>0,05)	0,05(>0,05)	
	$H_0$ ( $H_E$ )	0,29(0,29)	0,27 (0,27)	
	D (t)	-0,02 (0,15)	+0,02 (0,11)	
<b>MTHFR +1298A&gt;C</b> (rs 1801131)	$\Sigma N$	291	171	
	$N_0$ ( $N_E$ )	AA	126 (108,88)	77 (74,01)
		AC	104 (138,24)	71 (76,97)
		CC	61 (43,88)	23 (20,01)
	$\chi^2$ (HWE) (p)	17,85 (<0,001)	1,03 (>0,05)	
	$H_0$ ( $H_E$ )	0,36 (0,48)	0,42 (0,45)	
	D (t)	-0,25 (3,99)	-0,08 (0,85)	

примечание:  $n$  - объем выборки;  $n_0$  – наблюдаемое распределение генотипов;  $n_e$  – ожидаемое распределение генотипов;  $\chi^2$ (hwe) показатель соответствия наблюдаемого распределения ожидаемому, исходя из равновесия харди-вайнберга;  $p$  – достигнутый уровень значимости для  $\chi^2$ (hwe);  $h_0$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $h_e$  - ожидаемая гетерозиготность;  $d$  – индекс фиксации райта  $t$ ; – критерий стьюдента, характеризующий индекс фиксации;

Таблица 2

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров ферментов фолатного цикла у беременных с преэклампсией и в контрольной группе женщин

Гены	Аллели,	Беременные с преэклампсией n=322	Беременные без преэклампсии n=179	$\chi^2$ , p	OR
------	---------	-------------------------------------	--------------------------------------	--------------	----

	ГЕНОТИПЫ	n	%	n	%		(95%CI)
<i>MTHFR +1298A&gt;C</i> (rs 1801131)	A	356	61,17	225	65,79	$\chi^2=1,79$ p=0,18	0,82 (0,61-1,09)
	C	226	38,83	117	34,21		1,22 (0,92-1,63)
	AA	126	43,30	77	45,03	$\chi^2=0,07$ p=0,79	0,93 (0,63-1,39)
	AC	104	35,74	71	41,52	$\chi^2=1,29$ p=0,26	0,78 (0,52-1,17)
	CC	61	20,96	23	13,45	$\chi^2=3,60$ p=0,06	1,71 (0,98-2,98)
<i>MTR +2756A&gt;G</i> (rs 1805087)	A	466	77,93	261	78,61	$\chi^2=0,03$ p=0,87	0,96 (0,68-1,35)
	G	132	22,07	71	21,39		1,04 (0,74-1,46)
	AA	183	61,20	99	59,64	$\chi^2=0,05$ p=0,82	1,07 (0,71-1,60)
	AG	100	33,44	63	37,95	$\chi^2=0,77$ p=0,38	0,82 (0,54-1,24)
	GG	16	5,35	4	2,41	$\chi^2=1,59$ p=0,21	2,29 (0,70-8,25)
<i>SHMT1+1420C&gt;T</i> (rs 1979277)	C	391	65,82	243	70,64	$\chi^2=2,09$ p=0,15	0,80 (0,59-1,08)
	T	203	34,18	101	29,36		1,25 (0,93-1,68)
	CC	136	45,79	86	50,00	$\chi^2=0,61$ p=0,43	0,85 (0,57-1,25)
	CT	119	40,07	71	41,28	$\chi^2=0,03$ p=0,87	0,95 (0,64-1,42)
	TT	42	14,14	15	8,72	$\chi^2=2,51$ p=0,11	1,72 (0,89-3,37)
<i>MTRR +66A&gt;G</i> (rs 1801394)	G	351	58,11	192	56,14	$\chi^2=0,27$ p=0,60	1,08 (0,82-1,43)
	A	253	41,89	150	43,86		0,27 (0,70-1,22)
	GG	106	35,10	55	32,16	$\chi^2=0,30$ p=0,58	1,14 (0,75-1,73)
	AG	139	46,03	82	47,95	$\chi^2=0,10$ p=0,76	0,93 (0,63-1,37)
	AA	57	18,87	34	19,88	$\chi^2=0,02$ p=0,88	0,94 (0,57-1,55)

<i>TYMS - 1053C&gt;T</i> (rs 699517)	C	n		%		n	%
		438	71,80	252	72,83		
<i>TYMS -</i>	T	172	28,20	94	27,17	$\chi^2=0,07$	0,95 (0,70-1,29)

<b>1053C&gt;T</b> (rs 699517)	CC	160	52,46	89	51,44	p=0,79	1,05 (0,78-1,43)
	CT	118	38,69	74	42,77	$\chi^2=0,01$ p=0,91	1,04 (0,71-1,54)
	TT	27	8,85	10	5,78	$\chi^2=0,61$ p=0,44	0,84 (0,57-1,26)
	C	423	73,69	247	74,85	$\chi^2=1,06$ p=0,30	1,58 (0,71-3,60)
<b>TYMS</b> <b>IVS6-</b> <b>68C&gt;T</b> (rs 1059394)	T	151	26,31	83	25,15	$\chi^2=0,09$ p=0,76	0,94 (0,68-1,30)
	CC	158	55,05	89	53,94		1,06 (0,77-1,47)
	CT	105	36,59	69	41,82	$\chi^2=0,09$ p=0,76	1,05 (0,70-1,57)
	TT	24	8,36	7	4,24	$\chi^2=1,00$ p=0,32	0,80 (0,53-1,21)
<b>-1122</b> <b>A/G</b> <b>TYMS</b>	A	489	82,32	289	84,01	$\chi^2=8,73$ p=0,004	3,65 (1,47-9,48)
	G	105	17,68	55	15,99	$\chi^2=0,33$ p=0,57	0,89 (0,61-1,29)
<b>TYMS -</b> <b>1122A&gt;G</b> (rs 2790)	AA	202	68,01	121	70,35		1,13 (0,78-1,64)
	AG	85	28,62	47	27,32	$\chi^2=0,18$ p=0,67	0,90 (0,58-1,38)
<b>+677</b> <b>C/T</b> <b>MTHFR</b>	GG	10	3,37	4	2,32	$\chi^2=0,04$ p=0,85	1,07 (0,69-1,66)
	C	418	69,21	245	69,21	$\chi^2=0,13$ p=0,72	1,46 (0,41-5,63)
<b>MTHFR</b> <b>+677C&gt;T</b> (rs 1801133)	T	186	30,79	109	30,79	$\chi^2=0,01$ p=1,00	1,00 (0,75-1,34)
	CC	141	46,69	82	46,33		1,00 (0,75-1,34)
	CT	136	45,03	81	45,76	$\chi^2=0,015$ p=1,00	1,02 (0,69-1,50)
	TT	25	8,28	14	7,91	$\chi^2=0,004$ p=1,95	0,97 (0,66-1,43)

Исследование распределения генотипов изучаемых полиморфных маркеров ферментов фолатного цикла показало, что для большинства рассмотренных маркеров у беременных с ПЭ и беременных женщин без ПЭ, эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии HWE ( $p > 0,05$ ). По локусу *MTHFR* +1298A>C у женщин с ПЭ выявлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга за счет снижения фактической гетерозиготности по сравнению с теоретической ( $H_0=0,36$ ,  $H_e=0,48$ ,  $D=-0,25$ ,  $\chi^2=17,85$ ,  $p < 0,001$ ). Уровень аллельного разнообразия по изученным локусам варьировал от  $H_0=0,27$  (для локуса *TYMS* -1122A>G) до  $H_0=0,48$  (для локуса *MTRR* +66A>G) в группе беременных без ПЭ и от  $H_0=0,29$  (*TYMS* -1122A>G) до  $H_0=0,46$  (для локуса *MTRR*

+66A>G) среди беременных с ПЭ.

При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров ферментов фолатного цикла в группах беременных с ПЭ и здоровых беременных установлена более высокая частота (практически в 2 раза) генетического варианта *IVS6-68 TT TYMS* (8,36%) у женщин с ПЭ по сравнению с беременными контрольной группы (4,24%;  $\chi^2=8,73$ ;  $p=0,004$ ;  $OR=3,65$ ; 95% CI 1,47-9,48).

По другим исследуемым генетическим полиморфизмам достоверных различий в концентрациях аллелей и генотипов не обнаружено ( $p>0,05$ ).

### **Выводы**

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что наибольшие различия частот генетических полиморфизмов генов фолатного обмена у беременных с преэклампсией и контрольной группы выявлены по +1298AC *MTHFR* (35,74% и 41,52%, соответственно), +1298CC *MTHFR* (20,96% и 13,45%), *MTR+2756GG* (5,35% и 2,41%), +1420TT *SHMT1* (14,14% и 8,72%), *IVS6-68CT TYMS* (8,36% и 4,24%).

### **Список литературы**

1. Айламазян Э.К. Гестоз: теория и практика [Текст] /Э.К.Айламазян, Е.В. Мозговая. – М.: АЗБ МЕДпресс информ, 2008. – 272 с. : ил.
2. Баев О. Р. Гестоз: клиника, диагностика, акушерская тактика и интенсивная терапия: монография [Текст]/Под общ. ред. А. Н. Стрижакова, А. И. Давыдова, З. М., Мусаева Л. И. М.: Инфомед, 2007. -79 с.
3. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины [Текст]/В.С. Баранов – СПб.: Издательство Н-Л, Санкт-Петербург, 2009.
4. Радзинский В. Е. Проблемы гестоза и подходы к их решению / В.Е. Радзинский, Т. В. Галина - //Казанский медицинский журнал. 2007, т. 88, № 2.- С. 114–117.
5. Серов В.Н. Гестоз — современная лечебная тактика /В.Н.Серов //РМЖ. —2005. — Т. 13, № 1 (225). — С. 2–7.
6. Сидорова И.С. Молекулярно-генетические маркеры в оценке степени тяжести гестоза /И.С. Сидорова, О.И. Гурина и др.//Акушерство и гинекология.- 2008.- №4.-С. 6-11.

### **Рецензенты:**

Чурносов М.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин, медицинский факультет ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), г.Белгород;

Сорокина И.Н., д.м.н., доцент, профессор кафедры медико-биологических дисциплин, медицинский факультет ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), г. Белгород.