

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ: ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ЖЕНЩИН И В МАТЕРИАЛЕ АБОРТИРОВАННЫХ ЭМБРИОНОВ.

Демченко Н.С., Третьякова Т.Б.

Федеральное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России».
г. Екатеринбург, Российская федерация.

Контактный e-mail: medichkaN@mail.ru

Проблема неразвивающейся беременности (НБ) продолжает оставаться актуальной и социально значимой в практике акушера-гинеколога. В структуре репродуктивных потерь частота неразвивающейся беременности (замершей беременности, несостоявшегося выкидыша, missed abortion) составляет 10-20%. Причины замершей беременности многочисленны и нередко комплексны. Особую роль в этиологии НБ играет генетический фактор. Так в первые 6-7 недель беременности 60-75% абортусов имеют аномальный кариотип, в 12-17 недель -20-25%, и в 17-28 недель - только 2-7% [1]. В настоящее время особый интерес вызывают гены, вовлеченные в метаболизм фолиевой кислоты. По данным ряда исследований, большее значение в невынашивании беременности имеет не материнский генотип, а генотип плода [3]. Пролиферация и дифференциация зависят от активности фолатного цикла, следовательно, нарушение его работы может неблагоприятно влиять на быстро делящиеся клетки эмбриона. Снижение метилирования в клетке приводит к изменению профиля метилирования центральных районов хромосом, нарушению расхождения хромосом в оогенезе и повышает риск хромосомной патологии у плода [1,4].

С этих позиций несомненно актуальным представляется исследование частоты встречаемости низкофункциональных аллелей генов фолатного обмена в генотипе абортусов при неразвивающейся беременности.

Цель исследования изучить частоту встречаемости низкофункциональных вариантов генов MTHFR, MTR и

MTRR и их сочетаний в генотипах женщин с НБ в анамнезе и в абортном материале и выявить ассоциацию носительства полиморфных аллелей с частотой хромосомного дисбаланса у эмбрионов.

Материал и методы исследования

В ходе исследования было обследовано 120 женщин. Основную группу (n=60) составили женщины, имеющие в анамнезе 1 и более случаев регрессирующей беременности. Контрольную группу (n=60) составили фертильные женщины без случаев НБ в анамнезе. Возраст обследованных пациенток составил 23-41 год. Всем женщинам основной и контрольной групп проводилось молекулярно-генетическое типирование. Определялись полиморфизмы: MTHFR 677C>T, 1298 A>C, MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G. Образцы ДНК получали из Buccalного эпителия и ворсин хориона, используя набор реагентов и протокол для выделения ДНК фирмы НПО "ДНК-Технология" (Россия). Далее на полученных образцах ДНК проводили ПЦР на приборе ДТ-96 с программным обеспечением производства НПО "ДНК-Технология". На образцах тканей хориона проводилось стандартное цитогенетическое исследование. Сроки развития эмбрионов варьировали от 5 до 12 недель.

Результаты и их обсуждение

В проведенном исследовании у женщин основной и контрольной групп было оценено распределение генотипов (таблица №1).

Таблица №1

Распределение генотипов генов фолатного цикла у женщин.

Лocus	Генотип	Основная группа N=60			Контрольная группа N=60			P
		n	%	M + m	n	%	M + m	
MTHFR C677T	C/C	28	47	$\pm 6,4$	28	47	$\pm 6,4$	
	C/T	26	43	$\pm 6,4$	25	42	$\pm 6,4$	
	T/T	6	10	$\pm 3,8$	7	11	$\pm 4,2$	
	C/T+T/T	32	53	$\pm 6,4$	32	53	$\pm 6,4$	
MTHFR A1298C	A/A	18	30	$\pm 5,9$	30	50	$\pm 5,9$	<0,001
	A/C	25	42	$\pm 7,7$	24	40	$\pm 6,3$	
	C/C	17	28	$\pm 5,8$	2	10	$\pm 3,8$	
	A/C+C/C	42	70	$\pm 5,9$	26	43	$\pm 6,4$	
MTR A2756G	A/A	28	47	$\pm 6,4$	27	45	$\pm 6,4$	
	A/G	30	53	$\pm 6,5$	33	55	$\pm 6,4$	
	G/G	2	3	$\pm 2,2$	0	0		
	A/G+G/G	32	53	$\pm 6,4$	33	55	$\pm 6,4$	
MTRR A66G	A/A	7	12	± 4	12	20	$\pm 5,2$	<0,001
	A/G	38	63	± 7	15	25	$\pm 5,9$	
	G/G	15	25	$\pm 5,9$	33	55	$\pm 6,4$	
	A/G+G/G	53	88	$\pm 4,2$	48	80	$\pm 5,2$	

Достоверно чаще регистрировался аллель 1298C в гомозиготном состоянии у женщин с НБ. Совокупность генотипов с аллелем 1298C в гомо и гетерозиготном состоянии (A/C + C/C) также встречалась достоверно чаще у женщин основной группы по сравнению с контролем. И абортном материале частота встречаемости генотипа 1298CC выше по сравнению с контрольной группой (64%).

Обнаружены достоверные отличия и в доле генотипов, содержащих аллель 66G в гетеро и гомозиготном состоянии, у женщин с НБ и в абортном материале (99%).

Достоверных отличий в частоте встречаемости генотипов, содержащих аллель 2756G у женщин основной и контрольной групп в не выявлено.

Нет и достоверных отличий в частоте встречаемости аллель 677T у женщин с НБ по сравнению с контрольной группой. Частота соответствует общей частоте встречаемости данного аллеля в популяции (20-40%) [5]. Соответственно, и частота варианта 677T в абортном материале оказалась низкой, только 12 случаев (31 %).

Наши данные по частоте варианта 677ТТ в абортном материале регрессирующих беременностей отличаются от данных, полученных другими авторами при исследовании материала после самопроизвольных прерываний беременности. В ряде исследований показана достоверно высокая частота варианта 677ТТ. Авторы отводят ей ключевое влияние на выживаемость плода [2].

На основании полученных результатов, можно предположить, что эмбрионы без варианта 677ТТ более жизнеспособны, поэтому не запускаются физиологические процессы самопроизвольного изгнания плода. Возможно, достоверно более высокая частота встречаемости аллеля 1298С отража-

ет его вклад в ослабление системы регулирования обмена фолатов у женщины, что влечет за собой нарушения формирования и функционирования плаценты и к регрессу беременности.

Проведенное нами цитогенетическое исследование плодного материала, полученного в результате выскабливания полости матки у женщин с НБ, показало, что в 55% случаев имеет место aberrантный кариотип плода, в структуре которых 82% случаев этоодинарные и двойные трисомии; 12% -полиплоидия и в 6% случаев моносомия по X хромосоме (рис. 1).



Рисунок 1. Результаты хромосомного анализа абортного материала.

Анализ частоты встречаемости низкофункциональных аллелей генов фолатного цикла показал, что в абортном материале аллель 677ТТ гена MTHFR в гетерозиготном состоянии встретился в 12 случаях (31%). В 99% обнаружился аллель 66G гена MTRR в гомо и гетерозиготном состоянии и в 64% - аллель 1298С гена MTHFR, преимущественно в гомозиготном состоянии.

Распределение низкофункциональных аллелей в плодном материале показало, что аллель 66G MTRR, выявленный у 99% эмбрионов, в 68% случаев сочетался с аллелем 1298С MTHFR и в 15% случаев - с аллелем 677ТТ MTHFR.

Проведенные исследования позволяют предположить, что варианты 66G и 1298С являются одним из факторов нарушения эмбриогенеза. Это согласуется с определенными другими авторами ассоциациями аллеля 66G с риском развития дефектов нервной трубки, синдромом Дауна и другими трисомиями, как причинами выкидышей [6]. Среди кариотипов исследованных нами абортусов в 45% случаев выявлена трисомия хромосом 12.

Таким образом, проведенные исследования обнаружили высокую частоту генетических нарушений как у женщин, так и у погибших плодов. Генетические нарушения могут являться как безусловным фактором гибели плода (трисомии у плода), так и выполнять роль триггерных факторов (мутации в генах фолатного цикла) регресса беременности в сочетании с другими факторами риска. На современном этапе актуальным остается вопрос взаимодействия наследственности и среды в возникновении НБ и ПНБ, что требует проведения дальнейших научных исследований с учетом интеграции медицинских наук (гинекология, педиатрия, генетика, перинатология, гигиена, эпидемиология и др.)

Выводы

1. Частота встречаемости «функционально неблагоприятных» аллелей: 1298С и 66G у женщин с НБ достоверно выше, чем в контроле.
2. У 99% эмбрионов выявлен функционально неблагоприятный аллель 66G в гомо- и гетерозиготном состоянии.
3. В 68% случаев имело место сочетание низкофункциональных аллелей 66G и 1298С.

Литература

1. Бескоровая 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.
2. Тромбогенетические осложнения в акушерско-гинекологической практике: Руководство для врачей /Под ред. А. Д. Макаария 2011; 1: 610.
3. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylentetrahydrofolate reductase genetic polymorphism: an examination of C677T and A1298C mutations. Am J Hum Genet 2000; 67: 986-990.
4. Martinelli M., Scapoli L., Pezzetti F. et al. C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers? Am Y Med Genet 2001; 98: 357-360.
5. Van der Put N.M., Gabreels F., Stevens E.M. et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural tube defects? Am J Hum Genet 1998; 64: 1044-1051.
6. Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphism in human spontaneous abortion: biological and clinical implications. Reprod Biol Endocr 2004; 2: 7.

GENETIC FACTOR OF STAGNAT PREGNANCY: GENE POLYMORPHISM OF WOMEN'S FOLAT CYCLE AND IN ABORTIVE EMBRIO MATERIAL.

Demchenko N.S., Tretyakova T.B.

Federal State Institution "Scientific Research Institute for Maternal and Child Health Ministry. Ekaterinburg, Russian Federation.

The main idea of the research has been to study the character frequency of the low-functional alleles in genes MTHFR, MTRR, MTR and their combinations in the genotypes of women, with regression pregnancy in the anamnesis, and the abortive material and develop an association between the low-functional allele carriage and the frequency of the chromosome imbalance at embryos.