



УДК 575.174.015.3 +575.224.22]:616.853:618.33-007
<https://doi.org/10.35693/SIM629862>

© This work is licensed under CC BY 4.0
© Authors, 2024

Роль однонуклеотидных вариантов генов фолатного цикла матери с эпилепсией в формировании врожденных пороков развития плода

А.В. Якунина¹, А.А. Усольцева², В.А. Калинин¹, И.Е. Повереннова¹, Ю.В. Мякишева¹

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России
(Самара, Российская Федерация)

²ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (Красноярск, Российская Федерация)

Аннотация

Цель – изучить частоту носительства однонуклеотидных вариантов (ОНВ) rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у женщин с эпилепсией и оценить их ассоциации с врожденными пороками развития (ВПР) плода.

Материал и методы. В исследование была включена 61 больная эпилепсией, имеющая в анамнезе одну и более беременность с известным исходом по наличию ВПР у ребенка. Пациентки были разделены на две группы: у 20 были зарегистрированы различные ВПР плода (основная группа), у 41 пациентки рожденные дети не имели ВПР (группа сравнения). ДНК была выделена из крови, генотипирование пяти ОНВ в четырех генах было проведено методом полимеразной цепной реакции. Были определены частоты генотипов и аллелей у матерей основной группы и группы сравнения, различия были оценены с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2) и точного критерия Фишера.

Результаты. Статистически значимые различия отсутствовали в частотах генотипов и аллелей для всех проанализированных ОНВ между основной

группой и группой сравнения ($p > 0,05$). Не было выявлено статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей ОНВ исследованных генов у матерей детей с ВПР ($n = 14$) и без ВПР ($n = 22$), принимающих вальпроовую кислоту ($p > 0,05$). Выявлена статистически значимая взаимосвязь между носительством определенной гаплогруппы матери и формированием ВПР плода.

Выводы. Исследования носительства отдельных ОНВ генов фолатного цикла в настоящее время не могут быть использованы в качестве достоверного прогностического инструмента ВПР плода у женщин с эпилепсией. Возникновение ВПР у ребенка является мультифакториальным явлением, в котором генетические факторы с небольшим размером эффекта могут играть роль только в случае определенных неблагоприятных комбинаций.

Ключевые слова: гены фолатного цикла, однонуклеотидный вариант, эпилепсия, беременность, врожденный порок развития.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Якунина А.В., Усольцева А.А., Калинин В.А., Повереннова И.Е., Мякишева Ю.В. Роль однонуклеотидных вариантов генов фолатного цикла матери с эпилепсией в формировании врожденных пороков развития плода. Наука и инновации в медицине. 2024;9(4):291-296. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM629862>

Сведения об авторах

Якунина А.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7996-5213>

E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Усольцева А.А. – ассистент кафедры медицинской генетики и нейрофизиологии ИПО.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9678-6719>

E-mail: a.usoltseva@list.ru

Калинин В.А. – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3233-8324>

E-mail: v.a.kalinin@samsmu.ru

Повереннова И.Е. – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2594-461X>

E-mail: i.e.poverennova@samsmu.ru

Мякишева Ю.В. – д-р мед. наук, доцент, заведующая кафедрой общей и молекулярной биологии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0947-5111>

E-mail: yu.v.myakisheva@samsmu.ru

Автор для переписки

Якунина Альбина Викторовна

Адрес: Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Список сокращений

ВПР – врожденный порок развития;

ОНВ – однонуклеотидный вариант;

ПЭП – противосудорожный препарат.

Получено: 02.04.2024

Одобрено: 16.06.2024

Опубликовано: 06.08.2024

The role of single nucleotide variants of folate cycle genes of a mother with epilepsy in the occurrence of congenital malformations of the fetus

Albina V. Yakunina¹, Anna A. Usoltseva², Vladimir A. Kalinin¹, Irina E. Poverennova¹, Yuliya V. Myakisheva¹

¹Samara State Medical University (Samara, Russian Federation)

²Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russian Federation)

Abstract

Aim – to study the frequency of single-nucleotide variants (SNV) rs1801133 and rs1801131 of the *MTHFR* gene; rs1801394 of the *MTRR* gene, rs1805087 of the *MTR* gene and rs1051266 of the *SLC19A1* gene in women with epilepsy and to evaluate their associations with major congenital malformations (MCM) of the fetus.

Material and methods. The study included 61 women with epilepsy who have children: 20 had different fetal MCM (main group), 41 patients had children born without MCM (comparison group). DNA was extracted from blood, and the genotyping of five SNVs into four genes was analyzed by polymerase chain reaction. The frequencies of genotypes and alleles in

the mothers of the main and the comparison group were determined, the differences were assessed using Pearson's chi-squared criterion (χ^2) and Fisher's exact criterion.

Results. There were no statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles for all analyzed SNVs between the main group and the comparison group. There were no statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles of SNV of the studied genes of the folate cycle in mothers of children with malformations ($n = 14$) and without malformations ($n = 22$), taking valproic acid. A statistically significant

relationship was revealed between the carrier of a certain haplogroup of the mother and the formation of fetal MCM.

Conclusion. The MCM in a child is a multifactorial phenomenon in which genetic factors with a small effect size can play a significant role only in the case of certain unfavorable combinations.

Keywords: folate cycle genes, single nucleotide variant, epilepsy, pregnancy, congenital malformation.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Yakunina AV, Usoltseva AA, Kalinin VA, Poverennova IE, Myakisheva YuV. The role of single nucleotide variants of folate cycle genes of a mother with epilepsy in the occurrence of congenital malformations of the fetus. *Science and Innovations in Medicine*. 2024;9(4):291-296. DOI: <https://doi.org/10.35693/SIM629862>

Information about authors

Albina V. Yakunina – PhD, Associate professor of the Department of neurology and neurosurgery. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7996-5213> E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Anna A. Usoltseva – assistant of the Department of medical genetics and clinical neurophysiology of the Institute of Postgraduate Education. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9678-6719> E-mail: a.usoltseva@list.ru

Vladimir A. Kalinin – PhD, MD, Professor of the Department of neurology and neurosurgery. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3233-8324> E-mail: v.a.kalinin@samsmu.ru

Irina E. Poverennova – PhD, MD, Professor, Head of the Department of neurology and neurosurgery.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2594-461X>

E-mail: i.e.poverennova@samsmu.ru

Yuliya V. Myakisheva – PhD, MD, Head of the Department of general and molecular biology.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0947-511X>

E-mail: yu.v.myakisheva@samsmu.ru

Corresponding Author

Albina V. Yakunina

Address: Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.

E-mail: a.v.yakunina@samsmu.ru

Received: 02.04.2024

Accepted: 16.06.2024

Published: 06.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

Проблема возникновения врожденных пороков развития (ВПР) у детей женщин с эпилепсией изучается с начала 60-х годов XX века [1, 2]. Установлено, что уровень тератогенеза у женщин с эпилепсией, не получающих лечение противосудорожными препаратами (ПЭП), не превышает общепопуляционных значений в 3,5–5,0% [3], в то же время терапия ПЭП повышает риск пороков развития у плода в 2–3 раза [3, 4]. Факторами риска возникновения ВПР считается политерапия, прием определенных ПЭП, в первую очередь вальпроевой кислоты и топирамата, высокая суточная доза ПЭП [5–7].

Механизмы тератогенного влияния ПЭП до сих пор не известны. Предполагается эмбриотоксическое действие эпоксид-метаболитов ПЭП, которые опосредованно могут негативно влиять на синтез РНК и ДНК. В качестве тератогенного механизма рассматривается также фетальный оксидативный стресс [8]. Одним из наиболее важных факторов формирования ВПР в настоящее время принято считать нарушение фолатного цикла с дефицитом фолатов и гипергомоцистеинемией [5, 9, 10]. Фолатный цикл – это цепь ферментативных взаимопревращений производных фолиевой кислоты (витамин B_9), который затрагивает базовые пути метаболизма клетки. Продукты фолатного цикла используются для таких клеточных процессов, как восстановление метионина, синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, метилирование ДНК [9].

В фолатном цикле участвует более десятка ферментов, основные из которых – *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTR* (метионин-синтаза), *MTRR* (метионин-синтаза-редуктаза, а также белок – переносчик фолатов в клетку *SLC19A1*. Для генов, кодирующих данные белки, описаны значимые однонуклеотидные варианты (ОНВ), которые приводят к изменению их активности [11]. Дефицит *MTHFR* приводит к снижению метилирования ДНК, что вызывает активацию генов, участвующих в росте и дифференцировке клеток. В случае снижения активности этого фермента у женщин фертильного возраста

усиливается влияние тератогенных и мутагенных факторов внешней среды на плод, включая ксенобиотики, к которым относятся ПЭП [12]. Описаны ОНВ гена *MTHFR* с.677 C>T (rs1801133) и с.1298 A>C (rs1801133), связанные с ферментативным дефицитом и развитием гипергомоцистеинемии [13]. Процесс реметилирования гомоцистеина в метионин осуществляется ферментом *MTR*, восстановление которого из неактивного состояния происходит под действием *MTRR*. Полиморфные варианты с.2756 (rs1805087) *MTR* и с.66 (rs1801394) *MTRR* приводят к снижению активности восстановления метионина из гомоцистеина, что усиливается при дефиците витамина B_{12} [14]. На внутриклеточную концентрацию фолиевой кислоты влияет ОНВ с.80 (rs 1051266) *SLC19A1*, гомозиготный генотип GG которого является фактором риска пороков нервной трубки [15].

Из-за решающей роли в пути метаболизма фолатов однонуклеотидным вариантам С677Т и А1298С в *MTHFR*, А2756G в *MTR*, А66G в *MTRR* и А80G в *SLC19A1* уделяется наибольшее внимание в плане изучения риска развития пороков нервной трубки [11]. Между тем исследования ОНВ генов фолатного цикла в популяции женщин с эпилепсией, в том числе на фоне приема ПЭП, немногочисленны, а результаты неоднозначны. В связи с этим определение геномной архитектуры ВПР плода у женщин с эпилепсией является актуальной задачей.

ЦЕЛЬ

Изучить частоту носительства ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у женщин с эпилепсией и оценить их ассоциации с ВПР плода.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование была включена 61 пациентка с эпилепсией, имеющая в анамнезе одну и более беременность, не прервавшуюся в первом триместре, с известным исходом по наличию ВПР у ребенка. Пациентки были разделены

Генотип/ Аллели	ВПР есть (основная группа)		ВПР нет (группа сравнения)		P	ОШ	
	N	%	N	%		Абс.	95% ДИ
rs 1801133 гена MTHFR							
Генотип							
CC	12	60	24	59	0,89	1,1	0,32–3,7
CT	8	40	17	42			
TT	0	0	0	0			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,34		0,11			
Аллель							
C	32	80	65	79	0,91	1,0	0,38–3,1
T	8	20	17	21			
Всего	40		82	100			
rs 1801131 гена MTHFR							
Генотип							
AA	6	30	20	49	0,35	-	-
AC	11	55	16	39			
CC	3	15	5	12			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,84		0,34			
Аллель							
C	23	57	56	68	0,71	1,6	0,7–3,7
A	17	43	26	32			
Всего	40		82				
rs1801394 гена MTRR							
Генотип							
AA	3	15	6	15	0,44	-	-
AG	12	60	18	44			
GG	5	25	17	41			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,52		0,21			
Аллель							
A	18	57	30	68	0,93	1,4	0,6–3,3
G	22	43	52	32			
Всего	40	100	82	100			
rs1805087 гена MTR							
Генотип							
AA	12	60	27	66	0,66	-	-
AG	7	35	10	24			
GG	1	5	4	10			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,76		0,78			
Аллель							
A	31	77	64	78	0,91	1,0	0,6–2,8
G	9	23	18	22			
Всего	40	100	82	100			
rs1051266 гена SLC19A1							
Генотип							
AA	5	60	17	66	0,66	-	-
AG	9	35	11	24			
GG	6	5	13	10			
Всего	20	100	41	100			
PXB, p		0,52		0,002			
Аллель							
A	19	48	45	55	0,51	1,3	0,6–3,1
G	21	52	37	45			
Всего	40	100	82	100			

Таблица 1. Частота носительства аллелей и генотипов ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1805087 гена MTR; rs1801394 гена MTRR и rs1051266 гена SLC19A1

Table 1. The frequency of carriage of alleles and genotypes of the SNV rs1801133 and rs1801131 of the MTHFR gene; rs1805087 of the MTR gene; rs1801394 of the MTRR gene and rs1051266 of the SLC19A1 gene

на две группы: у 20 пациенток были зарегистрированы различные ВПР плода (основная группа), у 41 пациентки рожденные дети не имели ВПР (группа сравнения). Группы были сопоставимы по возрасту пациенток и формам эпилепсии. В период беременности не получали ПЭП 8/61 (13,1%) женщин, 37/61 (60,7%) женщин принимали один ПЭП, 16/61 (26,2%) получали политерапию. Лечение вальпроевой кислотой в монотерапии получали 23/37 (62,2%) пациентки, в политерапию вальпроевая кислота была включена у 13/16 (81,3%) пациенток. Таким образом, 36/61 (59,0%) пациенток получали вальпроевую кислоту в период беременности, 25/61 (41,0%) пациенток получали либо иные ПЭП, либо не принимали ПЭП в период беременности. ВПР плода были зарегистрированы у 14/36 (38,9%) пациенток, получавших лечение вальпроевой кислотой в период беременности, и у 6/26 (24,0%) женщин, не получавших вальпроевой кислоты.

Забор крови в объеме 10 мл из локтевой вены пациента производили в асептических условиях в вакуумные пробирки. Собранная кровь наносилась на бланки из фильтровального ватмана производства фирмы «Грин-вен» (Россия). Выделение геномной ДНК осуществляли с использованием коммерческого набора «ДНК – экспресс кровь» производства НПФ «ЛИТЕХ». После проведения термического лизиса в твердотельном термостате «Термит» образец центрифугировался на ультраскоростной центрифуге Minispin (Эппендорф), и супернатант брался в работу. Путем проведения аллель-специфичной амплификации в амплификаторах «Терцик» (ДНК-технология) с последующим электрофорезом с бромистым этидием в 3% агарозном геле определялось носительство ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1805087 гена MTR; rs1801394 гена MTRR и rs1051266 гена SLC19A1.

Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1801133 (с.677 C>T) гена MTHFR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип CC (цитозин/цитозин), гетерозиготный генотип – CT (цитозин/тимин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – TT (тимин/тимин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1801131 (с.1298 A>C) гена MTHFR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип AA (аденин/аденин), гетерозиготный генотип – AC (аденин/цитозин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – CC (цитозин/цитозин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1805087 (с.2756 A>G) гена MTR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип AA (аденин/аденин), гетерозиготный генотип – AG (аденин/гуанин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – GG (гуанин/гуанин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1801394 (с.66 A>G) гена MTRR были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип AA (аденин/аденин), гетерозиготный генотип – AG (аденин/гуанин), гомозиготный генотип по низкопродуктирующему аллелю – GG (гуанин/гуанин). Для обозначения вариантов генотипа ОНВ rs1051266 (с.80 A>G) гена SLC19A1 были приняты следующие обозначения: гомозиготный высокопродуктирующий – генотип GG (гуанин/гуанин), гетерозиготный генотип – GA (гуанин/аденин), гомозиготный

Локус	ВПР есть n ₁ = 14	ВПР нет n ₂ = 22	χ ²	Р	ОШ	
					Абс.	ДИ
rs 1801133 гена MTHFR						
Генотип						
CC	8	11	-	-	1,2	0,5–2,7
CT	6	11			0,8	0,4–1,9
TT	0	0			-	-
Аллели						
C	22	33	0,06	0,81	1,2	0,3–6,1
T	6	11			0,8	0,2–4,1
rs 1801131 гена MTHFR						
Генотип						
AA	5	11	0,76	0,68	0,7	0,3–1,7
AC	7	9			1,3	0,6–2,8
CC	2	2			1,3	0,5–3,9
Аллели						
A	17	31	0,37	0,55	0,6	0,2–2,7
C	11	13			1,5	0,4–6,3
rs1801394 гена MTRR						
Генотип						
GG	3	8	1,64	0,44	0,6	0,2–1,8
AG	9	12			1,3	0,5–3,0
AA	2	2			1,3	0,5–3,9
Аллели						
G	15	28	0,36	0,55	0,7	0,2–2,6
A	13	16			1,5	0,4–6,0
rs1805087 гена MTR						
Генотип						
AA	7	13	1,15	0,56	0,8	0,4–1,8
AG	7	8			1,4	0,6–3,2
GG	0	1			-	-
Аллели						
A	21	34	0,03	0,88	0,9	0,2–4,2
G	7	10			1,1	0,2–5,4
rs1051266 гена SLC19A1						
Генотип						
AA	2	10	5,33	0,07	0,3	0,1–1,26
AG	7	4			2,3	1,1–4,9
GG	5	8			0,9	0,4–2,3
Аллели						
A	11	24	0,79	0,37	0,5	0,1–2,1
G	17	20			1,9	0,5–7,2

Таблица 2. Частота носительства аллелей и генотипов ОНВ генов MTHFR, MTR; MTRR; SLC19A1 у пациенток, получавших вальпроовую кислоту в период беременности

Table 2. The frequency of carriage of alleles and genotypes of the SNV genes MTHFR, MTR; MTRR; SLC19A1 in patients treated with valproic acid during pregnancy

генотип по низкопродуцирующему аллелю – AA (аденин/аденин).

По результатам исследования в программе MS Excel 2013 была сформирована база данных, на основе которой с помощью пакетов прикладных программ SPSS Statistics (версия 19.0) и онлайн-калькулятора для расчета равновесия Харди – Вайнберга (PXB), доступного по электронному адресу <https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>, осуществлялся статистический анализ. Для описания качественных данных использовали процент и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Для определения статистической значимости отличий между качественными признаками применяли критерий хи-квадрат Пирсона (χ^2) при значениях ожидаемых частот больше 5. Если более 20% ожидаемых частот были меньше 5, то использовался точный критерий Фишера. Для оценки факторов риска, ассоциирующихся с

Гаплогруппы	ВПР плода		p
	Есть (n = 40)	Нет (n = 82)	
Блок 1			
TAAAA	3	7	0,24
TAAAG	4	3	
TAGAG	1	2	
CAAAAG	5	4	
CAAGG	1	0	
CAGAA	0	14	
CAGGA	2	5	
CAGAG	3	7	
CAGGG	3	5	
CCAAG	2	10	
CCAGA	3	1	
CCGAA	8	5	
CCGAG	4	5	
Блок 2			
CCGGA	0	2	1,00
CCGGG	0	3	
TAAGA	0	1	
TAGAA	0	4	
CAAAA	0	3	
CAAGA	0	1	
CAGAA	1	0	
Всего	40	82	
P	0,01		

Таблица 3. Блоки гаплогрупп ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1801394 гена MTRR, rs1805087 гена MTR и rs1051266 гена SLC19A1, объединенные программой SANCT

Table 3. The blocks of the SNV haplogroups rs1801133 and rs1801131 of the MTHFR gene; rs1801394 of the MTRR gene, rs1805087 of the MTR gene and rs1051266 of the SLC19A1 gene combined by the SANCT program

развитием ВПР, оценивали показатели отношения шансов (ОШ, 95% ДИ). Межгрупповые различия признавались как статистически значимые при значении $p < 0,05$. Для выявления паттерна сходства и формирования внутренне гомогенных блоков использована оригинальная авторская программа SANCT – structural analysis of contingency tables (N.N. Khromov-Borisov, T.B.L. Kist, G.B. Lazzarotto).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение генотипов в основной группе и группе сравнения соответствовало закону Харди – Вайнберга, что свидетельствует о репрезентативности выборки и возможности экстраполировать результаты исследования на всю популяцию. Результаты частоты носительства аллелей и генотипов исследуемых ОНВ представлены в **таблице 1**. Частота носительства аллелей, а также гомозиготных генотипов по низкопродуцирующим, высокопродуцирующим и гетерозиготным генотипам ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR; rs1805087 гена MTR; rs1801394 гена MTRR и rs1051266 гена SLC19A1 не отличалась у женщин, имеющих детей с ВПР, и женщин без ВПР у потомства.

Принимая во внимание доказанную тератогенность вальпроовой кислоты, нами была предпринята попытка исследования ассоциаций ОНВ генов фолатного цикла у женщин, принимавших и не принимавших вальпроовую кислоту, с возникновением ВПР плода. Была оценена частота носительства ОНВ rs1801133 и rs1801131

Гаплогруппы	ВПР плода		Всего
	Есть (n = 40)	Нет (n = 82)	
Блок 1 TAAAA, CAGAG, CAGGA, TAGAG, CAGGG, CCGAG, TAAAG, CAAAG, CCGAA, CCAAG, CCAGA, CAAGG, CAGAA	39 97,5%	68 82,9%	107 87,7%
Блок 2 TAAGA, TAGAA, CAAAA, CAAGA, CAGAA, CCGGA, CCGGG	1 2,5%	14 17,1%	15 12,3%
Всего	40 (100,0%)	82 (100,0%)	122 (100,0%)
P	0,022		

Таблица 4. Частота встречаемости гаплогрупп ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*; rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у матерей детей с ВПР и без ВПР

Table 4. The frequency of occurrence of SNV haplogroups rs1801133 and rs1801131 of the *MTHFR* gene; rs1801394 of the *MTRR* gene, rs1805087 of the *MTR* gene and rs1051266 of the *SLC19A1* gene in mothers of children with and without congenital malformation

гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* у женщин, получавших вальпроовую кислоту в период беременности, по группам «ВПР плода есть» ($n_1 = 14$) и «ВПР плода нет» ($n_2 = 22$). Статистически значимых различий частоты носительства аллелей высокопродуцирующих, низкопродуцирующих гомозиготных и гетерозиготных генотипов исследованных ОНВ генов фолатного цикла у женщин, имеющих детей с ВПР и без ВПР, выявлено не было (**таблица 2**).

В результате обработки было выделено два внутренние гомогенных блока гаплогрупп ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1*, имеющих статистические значимые различия (**таблица 3**).

Выявлена статистически значимая взаимосвязь между носительством определенной гаплогруппы матери и формированием врожденных пороков развития плода (**таблица 4**). Показано, что женщины, имеющие детей с ВПР, статистически значимо чаще являлись носителями гаплогрупп из блока 1 (TAAAA, CAGAG, CAGGA, TAGAG, CAGGG, CCGAG, TAAAG, CAAAG, CCGAA, CCAGA, CAAGG, CAGAA, CCAAG) – в 39/40 (97,5%) случаях против 68/82 (82,9%) у обследованных без ВПР (ОШ 8,029 [95% ДИ 1,017–63,418], $p = 0,022$). Носительство гаплогрупп, объединенных во второй блок (TAAGA, TAGAA, CAAAA, CAAGA, CAGAA, CCGGA, CCGGG), встречалось у матерей детей с ВПР только в 1/40 (2,5%) случае, тогда как у матерей детей без ВПР – в 14/82 (17,1%), что может быть расценено как статистически значимый протективный фактор (ОШ 0,026 [95% ДИ 0,016–0,984] $p = 0,022$).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что ВПР являются следствием возникновения комбинаций определенных вариантов генов и их взаимодействия с факторами окружающей среды [16]. Проведенное исследование не показало статистически значимой разницы в частоте носительства ОНВ rs1801133 и

rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* между матерями детей с ВПР и без ВПР, что не позволяет использовать результаты генотипирования ОНВ отдельных генов фолатного цикла для прогнозирования развития ВПР плода. Идентичные данные были получены в исследовании W.K. Dewelle и соавт. (2023), которые оценивали такой же комплекс ОНВ генов фолатного цикла у более обширной выборки [17]. Значимых ассоциаций с различными ВПР плода также не было выявлено и в других исследованиях [18, 19].

Имеются данные о сочетанном влиянии носительства матерью ОНВ генов фолатного цикла и приема ПЭП в период беременности на возникновение ВПР плода [8]. Учитывая, что высокий тератогенный потенциал описан у вальпроовой кислоты, матери, получающие этот ПЭП в период беременности, были выделены в отдельную группу. Не было выявлено статистически значимых отличий в частоте носительства аллелей, гомозиготных генотипов по высокопродуцирующим аллелям, низкопродуцирующим аллелям, а также гетерозиготным носителям ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR*, rs1051266 гена *SLC19A1* между матерями детей с ВПР и без ВПР как среди получавших вальпроовую кислоту в период беременности, так и среди не леченных этим ПЭП. Таким образом, не было выявлено ассоциаций между исследованными ОНВ генов фолатного цикла матери и возникновением ВПР плода, в том числе на фоне приема ПЭП.

В настоящий момент большинство авторов признает, что нет единственных генов-кандидатов для прогноза ВПР плода и ведения беременности высокого риска и необходима оценка полигенного риска, когда суммируется генетический риск нескольких ОНВ, связанных с определенным фенотипом [20–22]. Использование оригинальной программы SANCT позволило выделить два блока однородных гаплогрупп, имеющих статистически значимые различия между собой. Далее было показано, что сочетанное носительство определенных вариантов аллелей по всем исследованным генам фолатного цикла матерью может расцениваться как фактор риска ВПР плода (ОШ 8,029 [95% ДИ 1,017–63,418], $p = 0,022$) или протективный фактор (ОШ 0,026 [95% ДИ 0,016–0,984] $p = 0,022$). Следует признать, что настоящее исследование включает небольшое количество женщин с эпилепсией, поэтому полученные результаты необходимо трактовать с осторожностью, особенно при использовании в клинической практике.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования носительства отдельных ОНВ rs1801133 и rs1801131 гена *MTHFR*; rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR* и rs1051266 гена *SLC19A1* в настоящее время не могут быть использованы в качестве достоверного прогностического инструмента ВПР плода у женщин с эпилепсией. Возникновение ВПР у ребенка является мультифакториальным явлением, в котором генетические факторы с небольшим размером эффекта могут играть значимую роль только в случае определенных неблагоприятных комбинаций. ■

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.	Study funding. The study was the authors' initiative without external funding.
Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	Conflict of Interest. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.
Участие авторов. А.В. Якунина, В.А. Калинин – сбор и обработка материала, написание текста, составление списка литературы. Ю.В. Мякишева – концепция и дизайн исследования, редактирование текста. А.А. Усольцева – статистическая обработка данных. И.Е. Повереннова – редактирование текста. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.	Contribution of individual authors. A.V. Yakunina, V.A. Kalinin – scientific data collection, systematization and analysis, writing of the first draft of the manuscript. Yu.V. Myakisheva – development of the study concept, detailed manuscript editing and revision. A.A. Usoltseva – statistical data processing. I.E. Poverennova – detailed manuscript editing and revision. All authors gave their final approval of the manuscript for submission, and agreed to be accountable for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Karlov VA, Vlasov PN, Petrukhin VA, et al. Chapter 32. Female epilepsy. In: *Epilepsy in children and adults females and males. Physicians' manual*. M., 2019:672-691. (In Russ.). [Карлов В.А., Власов П.Н., Петрухин В.А., Жидкова И.А., Адамян Л.В. Глава 32. Эпилепсия у женщин. В кн.: *Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. Руководство для врачей*. М., 2019:672-691]. ISBN 975-5-6042641-0-2
- Meador KJ. Effects of Maternal Use of Antiseizure Medications on Child Development. *Neurol Clin*. 2022;40(4):755-768. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2022.03.006>
- Holmes LB, Quinn M, Conant S, et al. Ascertainment of malformations in pregnancy registries: Lessons learned in the North American AED Pregnancy Registry. *Birth Defects Res*. 2023;115(14):1274-1283. DOI: <https://doi.org/10.1002/bdr2.2188>
- Lagana AS, Triolo O, D'Amico V, et al. Management of women with epilepsy: from preconception to post-partum. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293(3):493-503. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3968-7>
- Dmitrenko DV, Shnayder NA, Egorova AT. *Epilepsy and pregnancy*. M., 2014. (In Russ.). [Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А., Егорова А.Т. *Эпилепсия и беременность*. М., 2014]. ISBN 978-5-98495-025-1
- Keni RR, Jose M, Sarma PS, Thomas SV. Kerala Registry of Epilepsy and Pregnancy Study Group. Teratogenicity of antiepileptic dual therapy: Dose-dependent, drug-specific, or both? *Neurology*. 2018;90(9):e790-e796. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005031>
- Cohen JM, Alvestad S, Cesta CE, et al. Comparative Safety of Antiseizure Medication Monotherapy for Major Malformations. *Ann Neurol*. 2023;93(3):551-562. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.26561>
- Dmitrenko DV, Shnayder NA, Strotskaya IG, et al. Mechanisms of valproate-induced teratogenesis. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017;1S:89-96. (In Russ.). [Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А., Строчкая И.Г., и др. Механизмы вальпроат-индуцированного тератогенеза. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017;специальный выпуск 1:89-96]. DOI: <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2017-1S-89-96>
- Shengelia MO, Bepalova ON, Shengelia ND, et al. Folate-dependent congenital malformations of the fetus. *Womens health and reproduction*. 2022;1(52):49-57. (In Russ.). [Шенгелия М.О., Беспалова О.Н., Шенгелия Н.Д., Балдин А.В. Фолатзависимые врожденные пороки развития плода. *Женское здоровье и репродукция*. 2022;1(52):49-57]. URL: <https://whfordoctors.ru/statyi/folat-zavisimye-vrozhdjonnnye-poroki-razvitiya-ploda/>
- Sijlmasi O, Del Río Sevilla A, Maldonado Bautista E, Barrio Asensio MDC. Gestational folic acid deficiency alters embryonic eye development: Possible role of basement membrane proteins in eye malformations. *Nutrition*. 2021;90:111250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111250>
- Almekkawi AK, Al Jardali MW, Daadaa HM, et al. Folate Pathway Gene Single Nucleotide Polymorphisms and Neural Tube Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Pers Med*. 2022;12(10):1609. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm12101609>
- Liew SC, Gupta ED. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European journal of medical genetics*. 2015;58(1):1-10.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.10.004>

- Levin BL, Varga E. MTHFR: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature. *J Genet Couns*. 2016;25(5):901-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10897-016-9956-7>

- Kokh NV, Slepukhina AA, Lifshits GI. Folate cycle: review and practical recommendations for the interpretation of the genetic tests. *Medical genetics*. 2015;11:3-8. (In Russ.). [Кох Н.В., Слепыхина А.А., Лившиц Г.И. Фолатный цикл: обзор и практические рекомендации по интерпретации генетических тестов. *Медицинская генетика*. 2015;11:3-8]. DOI: <https://doi.org/10.1234/XXXX-XXXX-2015-11-3-8>

- Findley TO, Tenpenny JC, O'Byrne MR, et al. Mutations in folate transporter genes and risk for human myelomeningocele. *Am J Med Genet A*. 2017;173(11):2973-2984. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38472>

- Taiwo ET, Cao X, Cabrera RM, et al. Approaches to studying the genomic architecture of complex birth defects. *Prenat Diagn*. 2020;40(9):1047-1055. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.5760>

- Dewelle WK, Melka DS, Aklilu AT, et al. Polymorphisms in Maternal Selected Folate Metabolism-Related Genes in Neural Tube Defect-Affected Pregnancy. *Adv Biomed Res*. 2023;12:160. DOI: https://doi.org/10.4103/abr.abr_103_22

- Godbole K, Gayathri P, Ghule S, et al. Maternal one-carbon metabolism, MTHFR and TCN2 genotypes and neural tube defects in India. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011;91:848-56. DOI: <https://doi.org/10.1002/bdra.20841>

- Ouyang S, Li Y, Liu Z, Chang H, Wu J. Association between MTR A2756G and MTRR A66G polymorphisms and maternal risk for neural tube defects: A meta-analysis. *Gene*. 2013;515:308-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.11.070>

- Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An expanded view of complex traits: from polygenic to omnigenic. *Cell*. 2017;169(7):1177-1186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.038>

- Finnell RH, Caiiffa CD, Kim SE, et al. Gene environment interactions in the etiology of neural tube defects. *Front Genet*. 2021;10:12:659612. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.659612>

- Choi SW, Mak TS, O'Reilly P.F. Tutorial: a guide to performing polygenic risk score analyses. *Nat Protoc*. 2020;15(9):2759-2772. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0353-1>