

УДК: 618.39-07:575

ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ: БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

© О. Н. Беспалова

ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

■ Известно, что повышенный уровень гомоцистеина в крови является одним из важных маркеров возникновения различной акушерской патологии. В результате гипергомоцистеинемии нарушаются процессы микроциркуляции в плаценте. Это, в свою очередь, может приводить к дефектам имплантации, результатом чего является НБ. Одним из факторов, способствующих повышению уровня гомоцистеина в крови, является наследственная предрасположенность.

■ **Ключевые слова:** невынашивание беременности; гомоцистеин; гипергомоцистеинемия; гены *MTHFR* и *MTRR*.

HYPERHOMOCYSTEINEMIA IN MISCARRIAGE: BIOCHEMICAL AND GENETIC ASPECTS

© O. N. Bepalova

D. O. Ott Research Institute for Obstetrics and Gynecology, Saint Petersburg, Russia

■ Elevated levels of homocysteine in the blood is an important marker of the occurrence of various obstetric pathology. As a result of hyperhomocysteinemia impairs processes of microcirculation in the placenta. This in turn can lead to defects of implantation resulting in miscarriage. One of the factors contributing to the increase in the level of homocysteine in the blood is a hereditary predisposition. The purpose of this study is to analyze the influence of gender, age, number of spontaneous miscarriages, the genotype of *MTHFR* and *MTRR* genes with folate cycle homocysteine in the blood, the couple with miscarriages.

■ **Key words:** hyperhomocysteinemia; spontaneous miscarriage; *MTHFR* and *MTRR* genes.

Введение

Проблема невынашивания беременности (НБ) занимает одно из ведущих мест в современном акушерстве. Частота данной патологии достигает 20–25% от числа всех беременностей [5, 9, 10]. В последние годы широко дискутируется вопрос о роли гипергомоцистеинемии (ГГЦ) в патогенезе привычной потери плода [33].

Гомоцистеин (ГЦ) — незаменимая аминокислота, которая была синтезирована еще в начале XX века (De Vigneaud, 1932). В 1962 году Carson et al. впервые опубликовали данные о нарушениях обмена ГЦ у пациентов с умственной отсталостью. С этого момента началась «эра гомоцистеина». В 1969 году Mudd et al. установил генетическую причину повышения ГЦ. В 1975 году Kilmer McCully подтвердил связь ГГЦ с развитием тяжелых сосудистых заболеваний. Эти исследования послужили основой предложенной им гомоцистеиновой теории атеросклероза. Исследования последних 20 лет расширили представления о роли ГГЦ в развитии сосудистых нарушений при различных заболеваниях: тромбоза артерий, болезни Крона, эпилепсии, болезни Паркинсона и др. [26, 32].

Имеются данные о связи ГГЦ с развитием синдрома Дауна [30].

Известно, что ГГЦ негативно влияет на репродуктивную функцию как женщин, так и мужчин и, как следствие, на течение беременности [34]. *In vitro* было доказано, что высокий уровень ГЦ, оказывает прямое токсическое действие на эндотелий, при этом увеличиваются тромбоцитарная адгезия, отложение липопротеидов низкой плотности в артериальной стенке, активация коагуляционного каскада, нарушение нормального баланса окислительно-восстановительных реакций [18]. Доказана фундаментальная роль ГЦ в процессах деления клеток и развивающемся эмбрионе. Свободно проникая через фетоплацентарный барьер, ГЦ может приводить к развитию вторичных аутоиммунных реакций, тем самым провоцируя возникновение различных осложнений беременности, включая привычные выкидыши, гестозы, преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты, дефекты нервной трубки у плода, плацентарную недостаточность, задержку внутриутробного разви-

тия плода [14, 17, 27, 28]. ГЦ относится к основным маркерам фертильности супружеской пары [25, 35].

Причины ГЦ многочисленны и разнообразны. В более половины случаев имеется сочетание нескольких факторов, приводящих к повышению уровня ГЦ в крови. Причины нарушения обмена ГЦ делят на врожденные и приобретенные. К врожденным относят генетические дефекты (30%), которые приводят к неполноценности ферментов, ответственных за метаболизм этой кислоты. К приобретенным причинам ГЦ (70%) относят недостаток поступления с пищей витаминов группы В, наличие вредных привычек, экстрагенитальной патологии, прием лекарственных препаратов и т. д.

Цель настоящей работы: проанализировать влияние пола, числа самопроизвольных выкидышей, генотипа по генам фолатного цикла *MTHFR* и *MTRR* на уровень гомоцистеина в крови в парах с невынашиванием беременности (НБ).

Материалы и методы

Молекулярно-биологическое исследование полиморфных аллелей генов MTHFR и MTRR

Молекулярно-биологические исследования полиморфизмов 2 генов выполнялись в лаборатории пренатальной диагностики наследственных болезней НИИАГиР им. Д. О. Отта. Проведено исследование 218 образцов ДНК супругов с различными формами НБ в анамнезе (136 женщин и 82 мужчины) (табл. 1).

Материалом для анализа служили образцы венозной крови, полученные путем пункции локтевой вены, самотеком в одноразовые пластиковые пробирки с консервантом. В качестве консерванта использовали 2,5%-й раствор ЭДТА (в соотношении 1 : 10).

Определение уровня гомоцистеина

У 136 женщин (вне беременности) и у 82 мужчин из пар с НБ в анамнезе был определен уровень ГЦ в крови. Данное исследование проводилось в Городском медико-генетическом центре, в Российском НИИ гематологии и трансфузиологии, в лаборатории биохимии НИИАГиР им. Д. О. Отта.

Материалом для исследования служила венозная кровь. Образцы крови получали в утреннее время путем пункции локтевой вены, самотеком.

Уровень ГЦ в сыворотке крови определяли методом жидкостной хроматографии на колонке под высоким давлением (ЖКВД). Определяли количество общего гомоцистеина плазмы (т. е. суммарное содержание всех его форм). Анализ проб осуществлялся на флуоресцентном спектрофотометре. Содержание ГЦ рассчитывали по калибровочной кривой.

За возрастные нормы ГЦ были взяты следующие показатели: вне беременности для женщин ≤ 30 лет — 4,6–8,1 мкмоль/л, для женщин старше 30 лет — 4,5–8,0 мкмоль/л и для мужчин — 4,6–11,2 мкмоль/л (данные Российского НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург).

Все полученные результаты подвергали статистической обработке на персональном компьютере IP-166 MMX с помощью программ «Excel» v.6.0. и «STATISTICA v.5.5a».

Для вычисления и сравнения средних величин цифровых данных, а также для оценки достоверности полученных результатов пользовались методами оценки разности между долями, анализа средних тенденций (t-критерий Стьюдента), корреляционным анализом. За достоверность различий принимался уровень $p < 0,05$.

Результаты

Вне беременности у 136 женщин и у 82 мужчин из пар с НБ в анамнезе был определен уровень ГЦ в крови. Средний уровень ГЦ в крови у женщин с НБ составил $7,82 \pm 0,34$ мкмоль/л и был достоверно ниже, чем у мужчин — $9,14 \pm 0,63$ мкмоль/л ($p < 0,05$) (рис. 1). При сравнительном анализе

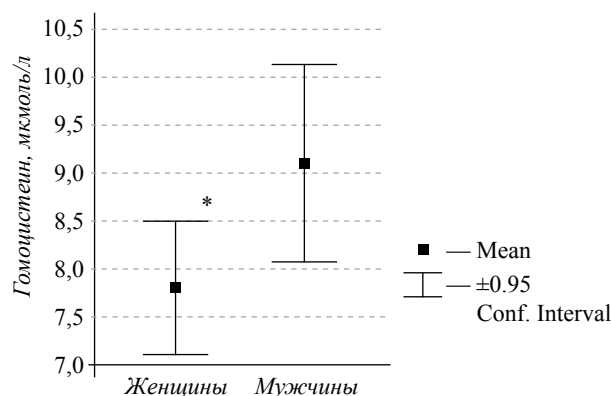


Рис. 1. Уровень гомоцистеина в крови у женщин и мужчин из пар с невынашиванием беременности (* — $p < 0,05$)

Таблица 1

Изученные гены и полиморфизмы у пациентов с НБ в анамнезе

Ген	Локус	Белковый продукт	Полиморфизм. Мутация
<i>MTHFR</i>	1p36.3	Метилентетрагидрофолатредуктаза	677 C-T
<i>MTRR</i>	5 p 15.3-p15.2	Метионинсинтетазаредуктаза	66 A-G

Таблица 2

Распределение в парах с НБ женщин и мужчин в зависимости от уровня гомоцистеина

Уровень гомоцистеина	Женщины N=136		Мужчины N=82	
	n	M±m,%	n	M±m,%
Ниже нормы	18	13,2±2,9***	1	1,2±1,2
Норма	72	52,9±4,3***	64	78,0±4,6
Выше нормы	46	33,8±4,0*	17	20,7±4,5

* — $p<0,05$, ** — $p<0,01$, *** — $p<0,001$

Таблица 3

Уровень гомоцистеина в крови у женщин и мужчин в зависимости от количества самопроизвольных выкидышей в анамнезе

Группы	Женщины		Мужчины	
	N	M±m, мкмоль/л	N	M±m, мкмоль/л
1 самопроизвольный выкидыш	42	7,1±0,40	32	9,6±1,16*
2 самопроизвольных выкидыша	54	8,6±0,60♥	27	9,5±0,64
≥3 самопроизвольных выкидыша	40	7,5±0,44	23	8,1±0,59

* — $p<0,05$ между группами, ♥ — $p<0,05$ внутри групп

числа пациентов (женщин и мужчин) с разными уровнями ГЦ в крови были выявлены статистически значимые различия (табл. 2). Так, у 13,2±2,9% женщин с выкидышами уровень ГЦ был меньше нижней границы нормы (3,98±0,12 мкмоль/л). Число таких мужчин из супружеских пар с НБ оказалось в 10 раз меньше и составило 1,2±1,2% ($p<0,001$). Содержание ГЦ в пределах нормы выявлено у 78,0±4,6% мужчин, что достоверно больше по сравнению с 52,9±4,3% женщин ($p<0,001$). Средний уровень повышенного ГЦ у мужчин составлял 16,22±1,47 мкмоль/л, а у женщин он был достоверно ниже: 11,93±0,59 мкмоль/л ($p<0,01$).

В 82 парах у обоих супругов был определен уровень ГЦ в крови. У 8 пар (9,7±3,3%) оба супруга имели повышенный уровень ГЦ, у 15 пар (18,3±4,3%) только женщины и у 9 пар (11,0±3,4%) только мужчины.

При анализе уровня ГЦ у женщин и у мужчин в зависимости от числа самопроизвольных аборт (табл. 3) выявлено: у женщин с 1 выкидышем средний уровень ГЦ составил 7,1±0,4 мкмоль/л, что достоверно ниже такового у мужчин из пар с единственным выкидышем (9,6±1,16 мкмоль/л, $p<0,05$) и у женщин с 2 выкидышами (8,6±0,6 мкмоль/л, $p<0,05$).

Согласно полученным данным (рис. 2–5) у женщин с генотипами C/C, C/T и T/T по гену MTHFR содержание ГЦ статистически не отличалось и составляло 7,85±0,53, 7,83±0,62 и 7,37±0,47 мкмоль/л. У мужчин с генотипом C/C по гену MTHFR средний уровень ГЦ был самым низким (7,32±0,37 мкмоль/л) по сравнению с носителями генотипа C/T (9,51±0,66 мкмоль/л, $p<0,05$) и генотипа T/T (17,66±5,05 мкмоль/л, $p<0,01$).

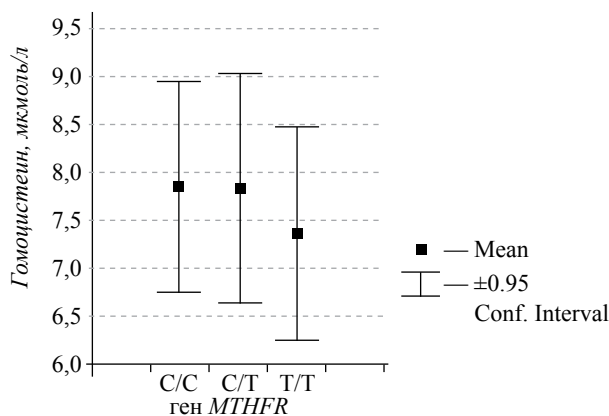


Рис. 2. Уровень гомоцистеина в крови у женщин с различными генотипами по гену MTHFR (C/T полиморфизм)

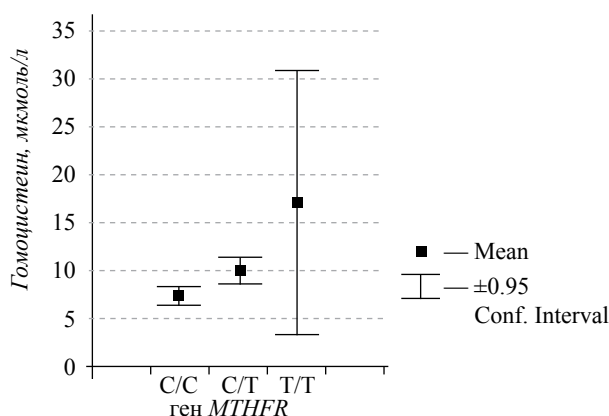


Рис. 3. Уровень гомоцистеина в крови у мужчин с различными генотипами по гену MTHFR (C/T полиморфизм)

Установлено также, что у женщин и мужчин с генотипом C/C по гену MTHFR уровень ГЦ в крови был практически одинаковым (7,85±0,53 и 7,32±0,37 мкмоль/л соответственно). А у мужчин с генотипами C/T и T/T содержа-

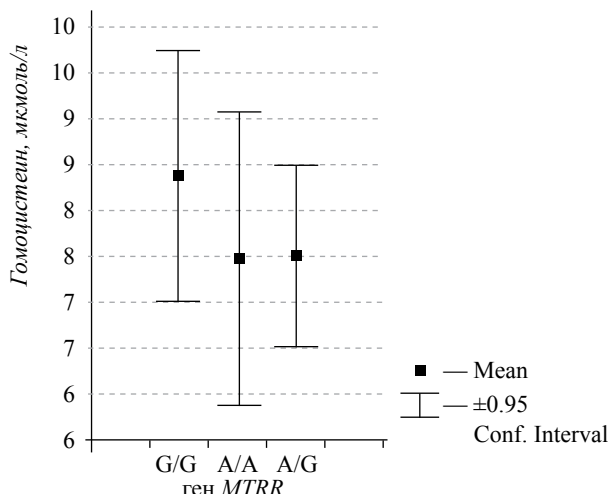


Рис. 4. Уровень гомоцистеина в крови у женщин с различными генотипами по гену MTRR (A/G полиморфизм)

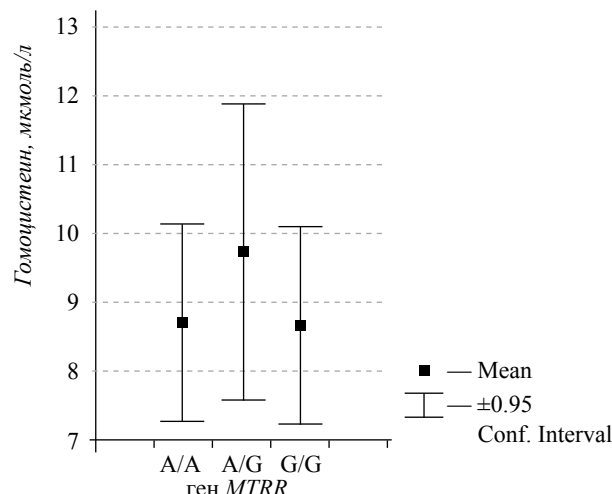


Рис. 5. Уровень гомоцистеина в крови у мужчин с различными генотипами по гену MTRR (A/G полиморфизм)

ние ГЦ в крови было достоверно выше ($9,51 \pm 0,66$ и $17,66 \pm 5,05$ мкмоль/л) по сравнению с женщинами ($7,83 \pm 0,62$ и $7,37 \pm 0,47$ мкмоль/л, $p < 0,05$).

На рисунках 4 и 5 показан средний уровень ГЦ в крови у женщин и у мужчин в зависимости от генотипов гена MTRR. У женщин с генотипами A/A, A/G и G/G по гену MTRR содержание ГЦ в крови статистически не отличалось и составляло $7,51 \pm 0,76$, $7,50 \pm 0,51$ и $8,38 \pm 0,68$ мкмоль/л. У мужчин с генотипами A/A и A/G средний уровень ГЦ оказался несколько ниже ($8,72 \pm 0,37$ и $8,70 \pm 0,71$ мкмоль/л) по сравнению с носителями G/G генотипа ($9,80 \pm 1,05$ мкмоль/л).

При этом у женщин и у мужчин с генотипом A/A или G/G уровень ГЦ в крови практически не отличался. А у мужчин с генотипом A/G содержание ГЦ в крови было достоверно выше

($9,80 \pm 1,05$ мкмоль/л) по сравнению с женщинами ($7,5 \pm 0,51$ мкмоль/л, $p < 0,05$).

На рисунке 6 показана частота женщин и мужчин с повышенным уровнем ГЦ в зависимости от генотипов гена MTHFR и MTRR. Повышенный уровень ГЦ в крови встречался с одинаковой частотой у женщин с разными генотипами MTHFR: у 37,9% с генотипом C/C, у 28% с генотипом C/T и у 33,3% женщин с генотипом T/T.

В отличие от этого высокий уровень ГЦ был характерен для 80% мужчин с генотипом T/T. В 3 раза реже высокий уровень ГЦ регистрировался у мужчин с генотипом C/T (28,2%, $p < 0,01$) и почти в 11 раз реже у мужчин с генотипом C/C (7,4%, $p < 0,001$).

Среди женщин с разными генотипами по гену MTRR повышенный уровень ГЦ в крови досто-

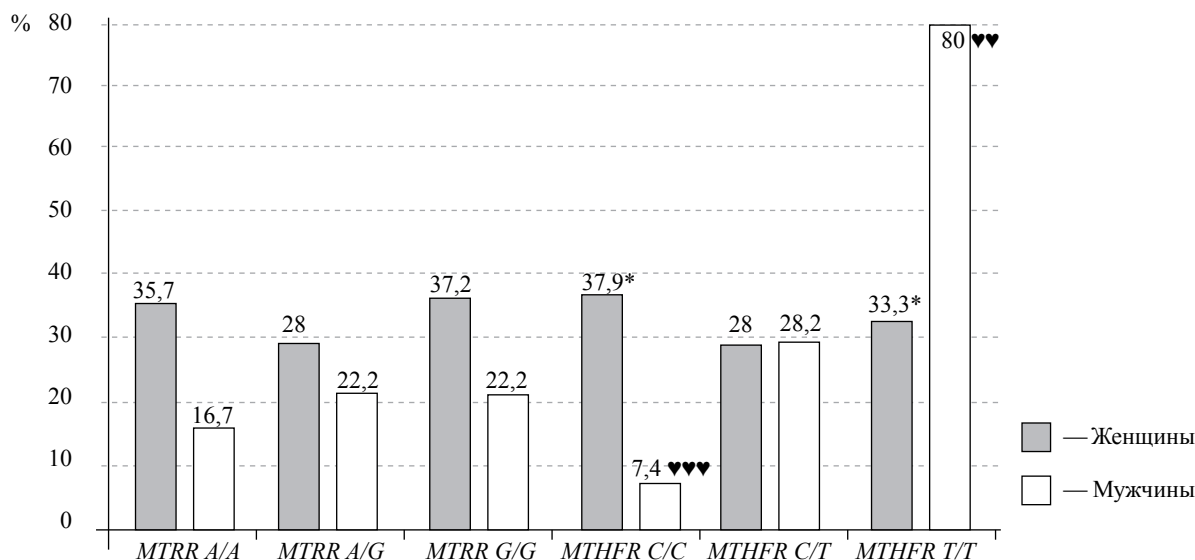


Рис. 6. Гипергомоцистеинемия у женщин и мужчин из пар с НБ в зависимости от генотипов генов MTHFR и MTRR (* — $p < 0,05$ между группами, ♥♥ — $p < 0,01$, ♥♥♥ — $p < 0,001$ внутри группы)

Таблица 4

Уровень гомоцистеина у женщин и у мужчин из пар с невынашиванием беременности в зависимости от сочетания генотипов генов *MTHFR* и *MTRR*

Генотипы	Женщины		Мужчины	
	N	М±m, мкмоль/л	N	М±m, мкмоль/л
<i>MTHFR C/C MTRR A/A</i>	6	5,82±1,14	4	8,35±1,32
<i>MTHFR C/C MTRR G/-</i>	53	8,22±0,47♥	17	7,89±0,64
<i>MTHFR C/T MTRR A/A</i>	5	7,22±0,82	7	9,29±1,26
<i>MTHFR C/T MTRR G/-</i>	40	8,66±0,81♥	20	9,48±1,06
<i>MTHFR T/T MTRR A/A</i>	0	0	0	0
<i>MTHFR T/T MTRR G/-</i>	8	7,02±0,48*	4	19,50±6,12

* — $p < 0,05$ между группами, ♥ — $p < 0,05$ внутри группы

верно не отличался. В случае генотипа *A/A* высокий уровень найден у 35,7% женщин, при генотипе *A/G* — у 28%, а генотипе *G/G* — у 33,3%. Достоверных различий в уровне ГЦ не выявлено и у мужчин с разными генотипами гена *MTRR*.

Анализ уровня ГЦ в крови у женщин и мужчин в зависимости от сочетания генотипов по двум генам *MTHFR* и *MTRR* выявил статистически значимые особенности (табл. 4).

Так, у женщин с НБ при сочетании генотипов *MTHFR C/C MTRR A/A* был выявлен самый низкий уровень ГЦ в крови (5,82±1,14 мкмоль/л), который оказался достоверно ниже содержания ГЦ у носительниц с сочетанными генотипами *MTHFR C/C MTRR G/-* (где «-» — аллели *A* или *G*) и *MTHFR C/T MTRR G/-* (8,22±0,47 и 8,66±0,81 мкмоль/л, $p < 0,05$). Следует отметить, что у женщин с генотипами *MTHFR T/T MTRR G/-* содержание ГЦ в крови также было низким (7,02±0,48 мкмоль/л).

Согласно полученным данным у мужчин из пар с НБ при различных сочетаниях генотипов генов *MTHFR* и *MTRR* содержание ГЦ в крови статистически не отличалось. При этом уровень ГЦ у мужчин с генотипом *MTHFR C/C MTRR A/A* был выше, чем у женщин с таким же сочетанием (5,82±1,14 и 8,35±1,32 мкмоль/л соответственно). У мужчин носителей генотипов *MTHFR T/T MTRR G/-* средний уровень ГЦ в крови равнялся 19,5±6,12 мкмоль/л, что достоверно выше аналогичного показателя у женщин (7,02±0,48 мкмоль/л, $p < 0,05$).

Обсуждение

Известно, что к выкидышам на ранних сроках у физически здоровой матери может приводить дефицит витамина B_9 . [6,10]. Так, ежегодно в РФ повторно прерываются до 170–200 тысяч случаев желательной беременности, и из их числа значительная доля случаев вызвана именно дефицитом витамина B_9 .

Фолатный цикл является сложным каскадным процессом, в котором задействовано много различных ферментов и необходимо наличие фолиевой кислоты и витаминов группы В, прежде всего витамина B_{12} .

Основным метаболическим процессом цикла является перенос метильных групп с помощью фермента метилентетрагидрофолатредуктазы на ГЦ с образованием важной незаменимой аминокислоты — метионина. Метионин, в свою очередь, после превращения в *S*-аденозилметионин, является в клетке основным донором метильных групп, необходимых для синтеза тимидина и метилирования ДНК, РНК, белков и фосфолипидов.

Дефицит фолиевой кислоты и витаминов группы В, связанный с особенностями диеты или с недостаточным их усваиванием организмом, а также дефекты в генах фолатного обмена приводят к избыточному накоплению ГЦ в крови и нарушению процессов метилирования в клетке [6].

ГЦ обладает выраженным токсическим действием, при этом негативные воздействия ГЦ, очень разнообразны.

- ГЦ вызывает повреждение эндотелиальной выстилки сосудов и запускает процессы коагуляции. В результате этого образуются тромбы и происходит нарушение микроциркуляции в тканях, в том числе в стенке матки и плаценте, что приводит к целому ряду акушерских осложнений как на ранних (дефекты имплантации эмбриона, привычное невынашивание беременности), так и на поздних сроках беременности (гестоз, хроническая плацентарная недостаточность, задержка роста плода, гибель плода) [12, 27, 28, 35].
- ГЦ является фактором риска развития аутоиммунных процессов и антифосфолипидного синдрома, также нарушающих нормальное развитие беременности [37].

- ГЦ свободно переходит через плаценту и может оказывать прямое эмбриотоксическое действие. Было показано, что ГЦ вызывает такие тяжелые, нередко летальные нарушения эмбриогенеза, как незаращение нервной трубки (*spina bifida*) и анэнцефалия, незаращение верхней губы и нёба [14, 17].
- Снижение метилирования в клетке, связанное с недостаточной активностью ферментов фолатного обмена или с дефицитом метильных групп приводит к изменению метилирования центромерных районов хромосом, нарушению расхождения хромосом в оогенезе и повышает риск рождения ребенка с хромосомными болезнями [13, 30].
- В быстро делящихся клетках плода дефицит метильных групп приводит к повышенному включению dUMP вместо dTMP в синтезируемую цепь ДНК, что влечет за собой вырезание нуклеотидных пар, разрывы цепей ДНК и запускание механизмов апоптоза. Таким образом, фолиевая кислота, витамины группы В и ГЦ играют фундаментальную роль в делящихся клетках и развивающемся эмбрионе [36].

Уровень ГЦ зависит от многих факторов. Было установлено: уровень ГЦ не имеет постоянного показателя, на протяжении жизни человека его количество и концентрация изменяется. С возрастом концентрация ГЦ постепенно возрастает, причем у женщин скорость нарастания выше, чем у мужчин. У взрослых (16–65 лет) уровень ГЦ колеблется в районе 5–12 мкмоль/л, у мужчин этот показатель обычно выше на 1–2 мкмоль/л, чем у женщин. Более высокие уровни ГЦ у мужчин связаны с большей мышечной массой, различиями в гормональном и витаминном статусе.

В нашем исследовании было показано, что уровень ГЦ в крови отличается между мужчинами и женщинами в парах с НБ в анамнезе. У мужчин выявлено достоверное увеличение среднего уровня ГЦ в крови по сравнению с женщинами на 1,3 ммоль/л.

Было установлено, что у 35% женщин вне беременности с повторными выкидышами в анамнезе, уровень ГЦ был выше показателей нормы, однако только у 20% мужчин из пар диагностирована ГГЦ ($p < 0,001$). При этом средний уровень повышенного ГЦ у мужчин составлял $16,22 \pm 1,47$ мкмоль/л, а у женщин он был достоверно ниже $11,93 \pm 0,59$ мкмоль/л ($p < 0,01$). В каждой десятой паре с НБ (9,7±3,3%) оба супруга имели повышенный уровень ГЦ. Таким образом, вне беременности ГГЦ была выявлена у 65% пар с НБ в анамнезе.

Выявлена зависимость уровня ГЦ от числа самопроизвольных выкидышей в анамнезе. Так,

у женщин с двумя и более выкидышами достоверно уровень ГЦ выше по сравнению с одним выкидышем. Однако у мужчин из пар с разным числом выкидышей не было статистически значимых различий. При этом следует отметить достоверное увеличение уровня ГЦ у мужчин из пар с единственным выкидышем по сравнению с их супругами.

Одним из важных факторов, способствующих увеличению уровня ГЦ в крови, является наследственная предрасположенность [1, 3, 4]. На сегодняшний день описаны 8 генов фолатного обмена. Наиболее изучен полиморфизм двух генов: *MTHFR* и *MTRR*.

Существует несколько аллельных вариантов гена *MTHFR*, приводящих к появлению функционально ослабленных форм фермента. Наиболее изученный полиморфизм *C677T*, следствием которого является замена в молекуле фермента аминокислоты аланина на валин, что *in vitro* приводит к снижению на 60% активности фермента у гомозигот по полиморфному аллелю и на 30% у гетерозигот [29].

При снижении активности фермента *MTHFR* может не хватать для эффективного перевода гомоцистеина в метионин, и гомоцистеин начинает накапливаться в организме. Гомозиготная недостаточность этого фермента встречается в 10% среди популяции, а гетерозиготная форма генетического дефекта у 40% людей.

Другой фермент фолатного цикла, метионинсинтезредуктаза, контролируется геном *MTRR*. Полиморфизм *A66G* в гене *MTRR* в 4 раза снижает активность фермента и может приводить к развитию патологии, вызванной накоплением ГЦ в плазме.

Гомозиготные формы генетических дефектов выявляются достаточно редко, могут быть связаны с другими врожденными аномалиями и сопровождаются сильно выраженной ГГЦ.

Продукты этих генов — ферменты — задействованы в одном каскаде метаболизма. Рядом исследователей было отмечено значительное увеличение риска развития акушерской патологии, связанной с повышенным уровнем ГЦ в крови, при наличии полиморфных аллелей в нескольких генах фолатного цикла [8, 20, 22].

Несмотря на большое число работ, в которых изучали *C/T* полиморфизм гена *MTHFR* у пациентов с НБ в анамнезе, единого мнения о наличии таковой ассоциации до настоящего времени нет.

Так, в исследованиях из разных стран Европы, Азии, Америки подтверждено, что наличие аллеля *T* гена *MTHFR* повышает риск привычной потери плода в 4–10 раз [23]. Более того, в одном из последних исследований продемонстрирована

ассоциация *C/T* полиморфизма гена *MTHFR* даже с одним самопроизвольным выкидышем раннего срока в анамнезе.

Согласно некоторым данным, большое значение при НБ имеет не только материнский генотип, но и генотип плода [24]. Так, в работе на абортном материале показано значительное повышение риска НБ (в 14 раз) при наличии у эмбриона аллелей гена *MTHFR* *677 T* и/или *1298 C* в гомо- или гетерозиготном состоянии [38]. Учитывая важную роль фолиевой кислоты в метаболизме нуклеиновых кислот, а следовательно, и в процессах пролиферации и дифференциации, нарушение работы ферментов фолатного цикла крайне опасно для быстроделящихся клеток эмбриона.

Повышение уровня ГЦ может сопровождаться развитием вторичных аутоиммунных реакций и в настоящее время рассматривается как одна из возможных причин развития антифосфолипидного синдрома [37]. Так, у женщин с ПНБ в анамнезе и наличием антифосфолипидного синдрома частота аллеля *677 T* (40,3%) достоверно выше, чем в контроле. При ПНБ этот аллель рассматривается в качестве фактора, предрасполагающего к тромбозам [15].

Показана ассоциация другого полиморфизма гена *MTHFR* *A1298C* с ПНБ. Повышенная частота генотипов *A/C* и *C/C* гена *MTHFR* была зарегистрирована у женщин с повторными выкидышами раннего срока в анамнезе [39]. Примечательно, что в изученных группах ни в одном случае не было обнаружено одновременно двух полиморфных вариантов гена *MTHFR* на одной хромосоме. Это свидетельствует о независимом возникновении полиморфизмов *C677 T* и *A1298 C*. Не исключено, что наличие сразу двух замен в гене *MTHFR* в одной хромосоме летально. Именно такие аномальные генотипы наблюдал Isolato P. A. et al., (2000) в своей работе на абортном плодном материале [21].

Найдена ассоциация полиморфизма двух генов *MTRR* (*A66G*) и *MTR* (*A2756G*) с ПНБ. Так, показано увеличение частоты аллеля *66 A* гена *MTRR* и аллеля *2756G* гена *MTR* у женщин с преждевременными родами в анамнезе (после 22 недели беременности) [16].

Показана выраженная ассоциация этих полиморфизмов с ПНБ, а также с синдромом Дауна и *spina bifida* [13, 19].

Согласно данным А. Д. Макария (2001) мутация *MTHFR* и сопровождающая ее ГЦ были обнаружены у 45% обследованных женщин с привычной потерей беременности. У пациенток с беременностью, осложненной плацентарной недостаточностью, ЗВУР, антенатальной гибелью плода — ГЦ определяется в 22% случаев [7].

В нашей работе установлено, что у пациентов с НБ в анамнезе при различных сочетаниях генотипов по 2-м генам *MTHFR* и *MTRR* вне беременности уровень ГЦ в крови статистически отличался. Так, у мужчин из пар с НБ с генотипами *C/T* и *T/T* *MTHFR* уровень ГЦ был достоверно выше, чем с генотипом *C/C*. У женщин не было установлено такой зависимости. Не было найдено достоверных различий уровня ГЦ в зависимости от генотипов только по одному гену *MTRR* как у женщин, так и мужчин.

При этом повышенный уровень ГЦ в крови встречался с одинаковой частотой у женщин с разными генотипами *MTHFR*. И наоборот, у 80% мужчин с генотипом *T/T* гена *MTHFR* отмечался высокий уровень ГЦ, что в 3 раза чаще по сравнению с носителями генотипов *C/T* и почти в 11 раз чаще, чем у мужчин с генотипом *C/C*. Кроме того, женщины с генотипом *C/C* достоверно чаще имели высокий уровень ГЦ по сравнению с мужчинами и, наоборот, у мужчин с генотипом *T/T* достоверно чаще диагностировался повышенный уровень ГЦ.

Нами был проведен анализ уровня ГЦ в крови у женщин и мужчин в зависимости от сочетания генотипов двух генов: *MTHFR* и *MTRR*.

У женщин с НБ и сочетанным генотипом *MTHFR* *C/C* *MTRR* *A/A* (норма) был выявлен самый низкий уровень ГЦ. Содержание ГЦ у них было достоверно ниже, чем у носительниц «неблагоприятных» сочетанных генотипов *MTHFR* *C/C* *MTRR* *G/-* и *MTHFR* *C/T* *MTRR* *G/-*. У мужчин из пар с НБ при различных сочетаниях генотипов генов *MTHFR* и *MTRR* содержание ГЦ в крови статистически не отличалось. Однако уровень ГЦ у мужчин с генотипами *MTHFR* *C/C* *MTRR* *A/A* и *MTHFR* *T/T* *MTRR* *G/-* оказался даже выше, чем у женщин с таким же сочетанием генотипов.

Результаты нашего исследования не согласуются с данными других авторов, согласно которым у женщин с привычным невынашиванием беременности выявляется прямая корреляция уровня ГЦ с «дозой» аллеля *677 T* гена *MTHFR* [2, 11]. Нами было показано, что на уровень ГЦ оказывает влияние совокупность факторов, в том числе и генетических.

Уровень ГЦ в крови у пациентов с НБ в анамнезе является более сложным интегральным показателем и зависит от пола, числа выкидышей и от генотипов каждого из генов фолатного обмена *MTHFR* и *MTRR*, а также и их сочетаний.

Учитывая высокую частоту ГЦ как в популяции (до 14%), так в парах с синдромом потери плода (до 65–90%), показано в предгравидарном периоде всем супружеским парам с невынаши-

ванием беременности (вне зависимости от сроков прерывания и числа выкидышей) определять уровень гомоцистеина. Определение уровня ГЦ показано всем супружеским парам с самопроизвольными выкидышами в анамнезе (в том числе и с одним выкидышем). В комплексное обследование также необходимо включать генетическое тестирование полиморфизма двух генов фолатного цикла (*MTHFR* и *MTRR*) для выяснения наличия или отсутствия наследственной предрасположенности к ГЦ [1]. В результате биохимического и генетического скрининга ГЦ возможно формирование групп риска по развитию акушерской патологии, а также назначение адекватных профилактических или лечебных доз фолиевой кислоты до и во время беременности.

Статья представлена Е.В. Мозговой,
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта»,
Санкт-Петербург

Литература

1. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Глотов А.С. и др. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации. СПб.: «Изд-во Н-Л»; 2009.
2. Бескоровайна Т.С. Влияние некоторых генетических факторов на нарушение репродукции у человека. Автореф. дис... канд. мед. наук. М., 2005.
3. Беспалова О.Н. Генетика невынашивания беременности. Журнал акушерства и женских болезней. 2007; 1: 81–95.
4. Беспалова О.Н. Генетические факторы риска невынашивания беременности. Автореф. дис... д-ра мед. наук. СПб.; 2009.
5. Кошелева Н.Г. Современная тактика лечения и профилактики невынашивания беременности с учетом этиопатогенеза. Проблемы репродукции. 1997; 3: 45–50.
6. Макацария А.Д., Белобородова Е.В., Баймурадова С.М., Бицадзе В.О. Гипергомоцистеинемия и осложнения беременности. М.: Триада-Х; 2005.
7. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. М.: «Russo»; 2001.
8. Малышева О.В., Баранов В.С., Беспалова О.Н., Иващенко Т.Э. Невынашивание беременности и полиморфизм генов системы свертывания крови. Журнал акушерства и женских болезней. 2007; 1: 21–7.
9. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. М.: Триада-Х; 2002.
10. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности. Руководство для практикующих врачей. М.: ООО «МИА», 2011.
11. Фетисова И.Н. Значение наследственных факторов при различных формах нарушения репродуктивной функции в супружеской паре. Автореф. дис... д-ра мед. наук. Иваново; 2007.
12. Arias F., Romero R., Joist H., Kraus F.T. Thrombophilia: a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. J. Matern. Fetal. Med. 1998; 7: 277–86.
13. Bosco P., Gueant-Rodriguez R.M., Anello G. et al. Methionine synthase (MTR) 2756 (A→G) polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are three factors for having a child with Down syndrome. Am. J. Med. Genet. A. 2003; 121 (3): 219–24.
14. Christensen B., Arbour L., Tran P., Leclerc D., Sabbaghian N., Platt R., Gilfix B.M., Rosenblatt D.S., Gravel R.A., Forbes P., Rozen R. Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects. Am. J. Med. Genet. 1999; 84: 151–7.
15. Couto E., Barini R., Zaccaria R. et al. Association of anticardiolipin antibody and C677T in methylenetetrahydrofolate reductase mutation in women with recurrent spontaneous abortions: a new path to thrombophilia. Hum. Genet. 2005; 45: 138–41.
16. Engel S.M., Olshan A.F., Siega-Riz A.M. Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small-for-gestational age birth. Am. J. Obstet. Gynecol. 2006; 195 (5): 1231–41.
17. Eskes T.K.A.B. Neural tube defects, vitamins and homocysteine. Europ. Journal Pediatrics. 1998; 157 (suppl.2): 139–41.
18. Guba S.C., Fonseca V., Fink L.M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. Seminars in thrombosis and haemostasis. 1999; 25 (3).
19. Hobbs C.A., Sherman S.L., Yi P. et al. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome. Am. J. Hum. Genet. 2000; 67: 623–30.
20. Holmes Z.R., Regan L., Chileott I., Cohen H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. Br. J. Haematol. 1999; 105 (1): 98–101.
21. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. Am. J. Hum. Genet. 2000; 67: 986–90.
22. Kumar K., Govindaiah V., Naushad S. 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.
23. 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.
24. Martinelli M., Scapoli L., Pezzetti F. et al. C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers. Am. J. Med. Genet. 200; 98: 357–60.
25. Picciano M.F. Is homocysteine a biomarker for identifying women at risk of complications and adverse pregnancy outcomes? Am. J. Clin. Nutrition. 2000; 71 (4): 857–8.

26. Pinto S., Fidalgo T., Marques D. et al. Hyperhomocysteinemia and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutations in patients with stroke. In: 16-th Congress on thrombosis and haemostasis. Porto; 2000.
27. Raijmakers M. T. M., Zusterzeel P. L. M., Steegers E. A. P. et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for preeclampsia? *Eur. J. Obst. Gynecol. Reprod. Biol.* 2001; 95: 226–8.
28. Rajkovic A., Catalano P. M., Malinov M. R. Elevated homocysteine level with preeclampsia. *Obst. Gynecol.* 1997; 90:168–71.
29. Rosen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *J. Thrombosis Haemostasis.* 1997; 78 (1): 523–7.
30. Rosenblatt D. S. Folate and homocysteine metabolism and gene polymorphisms in the etiology of Down syndrome. *Am. J. Clin. Nutrition.* 1999; 70 (4): 429–30.
31. Santoro R., Lannaccaro P., Sottillotta G. Prothrombotic gene mutations in women with recurrent abortions and intrauterine fetal death. *Minerva Ginecol.* 2005; 57 (4): 447–50.
32. Scazziotto A., Pons S., Raimondi R. et al. Is C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) a risk factor for arterial thrombosis? In: 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
33. Steegers-Theunissen R. P., Boers G. H., Blom H. J. et al. Hyperhomocysteinemia and recurrent spontaneous abortion or abruptio placentae. *Lancet.* 1992; 339: 1122–3.
34. Tamura T., Picciano M. F. Folate and human reproduction. *Am. J. Clin. Nutrition.* 2006; 83 (5): 993–1016.
35. Walker M. C., Smith G. N., Pirkins S. L. et al. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999; 180 (3, pt. 1): 660–4.
36. Wouters M. G., Boers G. H., Blom H. J. et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil. Steril.* 1993; 60: 820–5.
37. Yamada H., Atsumi T., Kato E. H. et al. Prevalence of diverse antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion. *Fertil. Steril.* 2003; 80: 1276–8.
38. Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphisms in human spontaneous abortion: biological and clinical implications. *Reprod. Biol. Endocr.* 2004; 2: 7.
39. Zetterberg H., Regland B., Palmer M. et al. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos. *Eur. J. Hum. Genet.* 2002; 10: 113–8.
- genetic factors to the violation of the reproduction in humans]. *Avtoref. dis... kand. med. nauk. M.*, 2005. (in Russian).
3. Bespalova O. N. Genetika nevnashivaniya beremennosti [Genetics miscarriage]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 2007; 1: 81–95. (in Russian).
4. Bespalova O. N. Geneticheskie faktory riska nevnashivaniya beremennosti [Genetic risk factors for miscarriage]. *Avtoref. dis... d-ra med. nauk. SPb.*; 2009. (in Russian).
5. Kosheleva N. G. Sovremennaja taktika lechenija i profilaktiki nevnashivaniya beremennosti s uchetom jetiopatogeneza [Modern Tactics of treatment and prevention of miscarriage, taking into account the pathogenesis]. *Problemy reprodukcii.* 1997; 3: 45–50. (in Russian).
6. Makacarija A. D., Beloborodova E. V., Bajmuradova S. M., Bicadze V. O. Gipergomocisteinemija i osloznenija beremennosti [Hyperhomocysteinemia and pregnancy complications]. *M.: Triada-H;* 2005. (in Russian).
7. Makacarija A. D., Bicadze V. O. Trombofilicheskie sostojanija v akusherskoj praktike [Thrombophilic states in obstetric practice]. *M.: "Russo";* 2001. (in Russian).
8. Malysheva O. V., Baranov V. S., Bespalova O. N., Ivashhenko T. Je. Nevynashivanie beremennosti i polimorfizm genov sistemy svertyvaniya krovi [Miscarriage and gene polymorphism of blood clotting]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 2007; 1: 21–7. (in Russian).
9. Sidel'nikova V. M. Privychnaja poterja beremennosti [The usual pregnancy loss]. *M.: Triada-H;* 2002. (in Russian).
10. Sidel'nikova V. M., Suhij G. T. Nevynashivanie beremennosti [miscarriage]. *Rukovodstvo dlja praktikujushhijh vrachej.* M.: OOO "MIA", 2011. (in Russian).
11. Fetisova I. N. Znachenie nasledstvennyh faktorov pri razlichnyh formah narushenija reproduktivnoj funkcii v supruzheskoj pare [Meaning of hereditary factors in various forms of reproductive disorders in a married couple]. *Avtoref. dis... d-ra med. nauk. Ivanovo;* 2007. (in Russian).
12. Arias F., Romero R., Joist H., Kraus F. T. Thrombophilia: a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. *J. Matern. Fetal. Med.* 1998; 7: 277–86.
13. Bosco P., Gueant-Rodriguez R. M., Anello G. et al. Methionine synthase (MTR) 2756 (A→G) polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are three factors for having a child with Down syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* 2003; 121 (3): 219–24.
14. Christensen B., Arbour L., Tran P., Leclerc D., Sabbaghian N., Platt R., Gilfix B. M., Rosenblatt D. S., Gravel R. A., Forbes P., Rozen R. Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects. *Am. J. Med. Genet.* 1999; 84: 151–7.
15. Couto E., Barini R., Zaccaria R. et al. Association of anticardiolipin antibody and C677T in methylenetetrahydrofolate reductase mutation in women with recurrent spontaneous abortions: a new path to thrombophilia. *Hum. Genet.* 2005; 45: 138–41.

References

1. Baranov V. S., Ivashhenko T. Je., Glotov A. S. i dr. Opredelenie nasledstvennoj predraspolzhenosti k nekotorym chastym zabolevanijam pri beremennosti. Geneticheskaja karta reproduktivnogo zdorov'ja: metodicheskie rekomendacii [Definition of hereditary predisposition to some diseases common in pregnancy. The genetic map of reproductive health]. *SPb.: "Izd-vo N-L";* 2009. (in Russian).
2. Beskorovajnaja T. S. Vlijanie nekotoryh geneticheskijh faktorov na narushenie reprodukcii u cheloveka [The influence of some

16. Engel S.M., Olshan A.F., Siega-Riz A.M. Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small-for-gestational age birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006; 195 (5): 1231–41.
17. Eskes T.K.A.B. Neural tube defects, vitamins and homocysteine. *Europ. Journal Pediatrics.* 1998; 157 (suppl.2): 139–41.
18. Guba S.C., Fonseca V., Fink L.M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Seminars in thrombosis and haemostasis.* 1999; 25 (3).
19. Hobbs C.A., Sherman S.L., Yi P. et al. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 67: 623–30.
20. Holmes Z.R., Regan L., Chileott I., Cohen H. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. *Br. J. Haematol.* 1999; 105 (1): 98–101.
21. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 67: 986–90.
22. Kumar K., Govindaiah V., Naushad S. 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.
23. 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.
24. Martinelli M., Scapoli L., Pezzetti F. et al. C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers. *Am. J. Med. Genet.* 200; 98: 357–60.
25. Picciano M.F. Is homocysteine a biomarker for identifying women at risk of complications and adverse pregnancy outcomes? *Am. J. Clin. Nutrition.* 2000; 71 (4): 857–8.
26. Pinto S., Fidalgo T., Marques D. et al. Hyperhomocysteinemia and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutations in patients with stroke. In: 16-th Congress on thrombosis and haemostasis. Porto; 2000.
27. Raijmakers M.T.M., Zusterzeel P.L.M., Steegers E.A.P. et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for preeclampsia? *Europ. J. Obst. Gynecol. Reprod. Biol.* 2001; 95: 226–8.
28. Rajkovic A., Catalano P.M., Malinov M.R. Elevated homocysteine level with preeclampsia. *Obst. Gynecol.* 1997; 90:168–71.
29. Rosen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *J. Thrombosis Haemostasis.* 1997; 78 (1): 523–3.
30. Rosenblatt D.S. Folate and homocysteine metabolism and gene polymorphisms in the etiology of Down syndrome. *Am. J. Clin. Nutrition.* 1999; 70 (4): 429–30.
31. Santoro R., Lannaccaro P., Sottilotta G. Prothrombotic gene mutations in women with recurrent abortions and intrauterine fetal death. *Minerva Ginecol.* 2005; 57 (4): 447–50.
32. Scazzioti A., Pons S., Raimondi R. et al. Is C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) a risk factor for arterial thrombosis? In: 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
33. Steegers-Theunissen R.P., Boers G.H., Blom H.J. et al. Hyperhomocysteinemia and recurrent spontaneous abortion or abruption placentae. *Lancet.* 1992; 339: 1122–3.
34. Tamura T., Picciano M.F. Folate and human reproduction. *Am. J. Clin. Nutrition.* 2006; 83 (5): 993–1016.
35. Walker M.C., Smith G.N., Pirkins S.L. et al. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999; 180 (3, pt. 1): 660–4.
36. Wouters M.G., Boers G.H., Blom H.J. et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil. Steril.* 1993; 60: 820–5.
37. Yamada H., Atsumi T., Kato E.H. et al. Prevalence of diverse antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion. *Fertil. Steril.* 2003; 80: 1276–8.
38. Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphisms in human spontaneous abortion: biological and clinical implications. *Reprod. Biol. Endocr.* 2004; 2: 7.
39. Zetterberg H., Regland B., Palmer M. et al. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos. *Eur. J. Hum. Genet.* 2002; 10: 113–8.

■ Адреса автора для переписки

Беспалова Олеся Николаевна — д. м. н., ведущий научный сотрудник I акушерского отделения патологии беременности. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. **E-mail:** shiggerra@mail.ru.

Bespalova Olesya Nikolaevna — MD, PhD, DMSc, Leading researcher of the 1st obstetric pregnancy pathology department. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3, Russia. **E-mail:** shiggerra@mail.ru.