

УДК 575.16:618.33

DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-4

О.А. Ефремова

Изучение ассоциации полиморфных локусов генов
фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста
плода 2-3 степени

Харьковский национальный медицинский университет,
пр. Науки, д. 4, г. Харьков, 61022, Украина
Автор для переписки: О.А. Ефремова (efremovaolesya@gmail.com)

Аннотация

Актуальность: Ферменты фолатного цикла регулируют ключевые реакции в фолат-опосредованном одноуглеродном метаболизме. Нарушения фолатного цикла могут быть связаны с возникновением плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода (СЗРП) у беременных, однако на сегодняшний день связь полиморфизма генов фолатного цикла с развитием патологии течения беременности изучена недостаточно. **Цель исследования:** Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием СЗРП 2-3 степени. **Материалы и методы:** Выборку для исследования составили 112 беременных с СЗРП 2-3 степени и 243 беременных с нормальным весом новорожденного. Изучались полиморфные локусы генов фолатного цикла rs1805087 гена *MTR*, rs1801394 гена *MTRR*, rs1979277 гена *SHMT1*, rs699517 гена *TYMS*, rs2790 гена *TYMS*. Исследование проводили методом ПЦР с использованием соответствующих олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующим анализом полиморфизмов методом детекции TaqMan зондов (real-time ПЦР). Анализ ассоциаций проводился с использованием программного обеспечения gPLINK v2.050. Межгенные взаимодействия в двух- и трехлокусных моделях анализировали с помощью метода MDR и его модификации GMDR. **Результаты:** Показано, что аллель Т rs1979277 гена *SHMT1* ассоциирован с развитием СЗРП 2-3 степени в рамках аддитивной (OR=1,56, 95%CI 1,10-2,22, p=0,012, p_{perm}=0,011) и рецессивной (OR=2,55, 95%CI 1,24-5,22, p=0,011, p_{perm}=0,007) моделей. Выявлена ассоциация аллеля G rs1805087 гена *MTR* с формированием СЗРП 2-3 степени в соответствии с рецессивной моделью (OR=3,28, 95%CI 1,14-9,47, p=0,028, p_{perm}=0,014). Выявлены две 2-х локусных и одна трехлокусная модели SNP x SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени. В состав значимых моделей входят три полиморфных локуса - rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR*. Парное взаимодействие rs1801394 *MTRR* x rs1979277 *SHMT1* является основой двух наиболее значимых моделей ген-генных взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени. **Заключение:** Полиморфные локусы rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR* ассоциированы с развитием СЗРП 2-3 степени.

Ключевые слова: полиморфизм; ассоциации; SNPxSNP взаимодействия; плацентарная недостаточность; синдром задержки роста плода; беременность; фолатный цикл

Для цитирования: Ефремова О.А. Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(1):37-50. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-4

Olesya A. Efremova

The study of the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of the 2-3-degree fetal growth restriction syndrome

Kharkiv National Medical University,
4 Nauki Ave., Kharkiv, 61022, Ukraine

Corresponding author: Olesya A. Efremova (efremovaolesya@gmail.com)

Abstract

Background: Folate cycle enzymes regulate key reactions in folate-mediated single-carbon metabolism. The folate cycle disturbances may be associated with the occurrence of placental insufficiency with fetal growth restriction syndrome (FGRS) in pregnant women, however, to date, the relationship of polymorphism of the folate cycle genes with the development of pregnancy pathology has not been examined in sufficient detail. **The aim of the study:** To study the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of 2-3-degree FGRS. **Materials and methods:** The sample for the study included 112 pregnant women with 2-3-degree FGRS and 243 pregnant women with normal birth weight. The polymorphic loci of the folate cycle gene rs1805087 of the *MTR* gene were studied, rs1801394 of the *MTRR* gene, rs1979277 of the *SHMT1* gene, rs699517 of the *TYMS* gene, rs2790 of the *TYMS* gene involved in the formation of placental insufficiency and FGRS of the 2nd or 3rd degrees. The study was carried out by PCR using the appropriate oligonucleotide primers and probes, followed by analysis of polymorphisms by the detection method of TaqMan probes (real-time PCR). Association analysis was performed using gPLINK v2.050 software. Intergenic interactions in two- and three-locus models were analyzed using MDR method and its GMDR modifications. **Results:** It was shown that the T allele rs1979277 of the *SHMT1* gene is associated with the development of 2-3-degree FGRS in the framework of additive (OR = 1.56, 95% CI 1.10 - 2.22, $p = 0.012$, $p_{perm} = 0.011$) and recessive (OR = 2.55, 95% CI 1.24-5.22, $p = 0.011$, $p_{perm} = 0.007$) models. The association of the G rs1805087 allele of the *MTR* gene with the formation of 2-3-degree FGRS was revealed in accordance with the recessive model (OR = 3.28, 95% CI 1.14-9.47, $p = 0.028$, $p_{perm} = 0.014$). Two 2-locus and one three-locus models of SNPxSNP interactions associated with the development of FGRS 2-3 degrees were identified. Significant models include three polymorphic loci – rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR*, and rs1801394 *MTRR*. Pairwise interaction rs1801394 *MTRR* x rs1979277 *SHMT1* is the basis of the two most significant models of gene-gene interactions associated with the development of FGRS of 2-3 degrees. **Conclusion:** Polymorphic loci rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* and rs1801394 *MTRR* are associated with the development of FGRS of 2-3 degrees.

Keywords: polymorphism; associations; SNPxSNP interactions; placental insufficiency; fetal growth restriction syndrome; pregnancy; folate cycle

For citation: Efremova OA. The study of the association of polymorphic loci of the folate cycle genes with the development of the 2-3-degree fetal growth restriction

syndrome. Research Results in Biomedicine. 2020;6(1):37-50. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-4

Введение. Задержка роста плода (ЗРП) – это не самостоятельное нозологическое заболевание, а синдром, возникающий вследствие развития различных патологических процессов, которые по тем или иным причинам развиваются в системе мать-плацента-плод. Одной из причин синдрома ЗРП (СЗРП) может быть плацентарная недостаточность (ПН). Следствием данного осложнения беременности, является рождение ребенка со сниженными массо-ростовыми показателями (менее 10-го перцентиля) [1, 2]. Абсолютное или относительное уменьшение плацентарной массы влияет на количество питательных веществ, которые получает плод, на характер газообмена, на эндокринную и метаболическую функцию плаценты, все это способствует формированию СЗРП [2-4]. Так как, эта патология имеет большой удельный вес в структуре перинатальных потерь и неонатальных заболеваний, а также ведет к неблагоприятным медико-биологическим и социальным прогнозам, изучение факторов, влияющих на развитие ПН и СЗРП имеет большое значение.

Известно, что частота перинатальной смертности при СЗРП выше в 7-10 раз по сравнению с нормально протекающей беременностью. За последние десятилетия частота плацентарной дисфункции (ПД), задержки развития плода и плацентарной недостаточности (ПН) не только не имеет тенденции к снижению, но и растет во всех странах мира [3, 4]. Кроме этого, практически у 50% детей, которые родились с признаками СЗРП, в дальнейшем выявляют острые и хронические заболевания [5, 6]. Приведенные негативные обстоятельства свидетельствуют о важности своевременного выявления СЗРП еще на этапе пренатального наблюдения, оптимизации условий развития плода, планирования и ведения родов, обеспечения рационального ухода в послеродовом периоде.

С акушерской точки зрения, ПД – это гестационное осложнение многофакторной этиологии, имеет тяжелые последствия для организма матери, плода и может быть, как причиной, так и реализацией осложненного течения беременности и соматической патологии [6]. Патогенез ПН заключается в нарушении децидуальной перфузии, ферментативной недостаточности децидуальной ткани [2, 4]. Происходят структурно-функциональные изменения плаценты, усиление вариабельности ядер симпластотрофобластов, уменьшение количества мелких ворсинок хориона, снижение интенсивности васкуляризации, инволютивных изменений, процессов имплантации, плацентации, плацентарной гемоциркуляции, циркуляторных поражений плаценты и т.д. Реакции сосудов терминальных ворсинок имеют компенсаторные резервы, при их истощении отсутствуют возможности развития дополнительной сосудистой сетки, все это является началом инволютивно-дистрофических изменений с формированием ПН и задержки роста плода, антенатальной потери плода, преждевременной отслойкой нормально и низко расположенной плаценты [2, 4, 6].

Одной из причин ПН и СЗРП являются изменения фоллатного цикла, обусловленные разнообразными факторами риска. К внешне средовым факторам риска можно отнести: низкое употребление микроэлементов, витаминов, вредные привычки (курение, алкоголь) и др. [7, 8]. Большое значение имеют определенные особенности генома, полиморфизмы генов, участвующих в метаболизме фолиевой кислоты. Нарушение обмена фолиевой кислоты, может вызывать целую группу причин, осложняющих течение беременности, в том числе приводящих к СЗРП [7, 8, 9].

Известно, что фолиевая кислота участвует в формировании сосудистого русла. Нарушение ангиогенеза может вызывать плацентарную дисфункцию, что ассоциировано с патогенезом фетоплацентарной недостаточности и СЗРП и может приводить к антенатальной гибели плода [10, 11].

Метаболизм фолиевой кислоты осуществляется с помощью сложного каскадного процесса, сопровождающегося генетически детерминированными ферментативными реакциями. Понимание роли полиморфизма генов-кандидатов, вовлеченных в процесс формирования задержки внутриутробного развития плода, имеет важное значение для разработки эффективных методов диагностики и профилактики этого осложнения беременности.

Цель исследования. Изучение ассоциации полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находилось 355 беременных женщин в третьем триместре беременности, у которых были собраны анамнестические данные, исследовались общеклинические и биохимические показатели. Выборку для исследования составили 112 беременных с СЗРП 2-3 степени и 243 беременных с нормальным весом новорожденного. Группы были репрезентативны по возрасту, росту и акушерскому анамнезу.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной из цельной венозной крови. Изучались следующие полиморфные локусы генов

фолатного цикла rs1805087 гена *MTR*, rs1801394 гена *MTRR*, rs1979277 гена *SHMT1*, rs699517 гена *TYMS*, rs2790 гена *TYMS*. Исследование проводили методом ПЦР с использованием соответствующих олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующим анализом полиморфизмов методом детекции TaqMan зондов (real-time ПЦР).

Статистические расчеты осуществлялись с использованием программного обеспечения gPLINK v2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). Для коррекции множественных сравнений использовали пермутационный тест. Для исследования ген-генных взаимодействий использовался метод снижения размерности MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) в модификации Model-Based-MDR (MB-MDR) (Calle M.L. et al., 2010).

Результаты и их обсуждение. По всем изученным SNPs как в группе беременных с СЗРП 2-3 степени, так и в группе контроля частоты минорных аллелей (MAF) были выше 5%. Анализ наблюдаемого распределения генотипов не выявил отклонения от ожидаемого распределения в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга (HWE) по всем рассматриваемым локусам как среди беременных с СЗРП 2-3 степени (табл. 1), так и в контрольной группе (табл. 2).

Анализ ассоциации аллелей полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием СЗРП 2-3 ст. (табл. 3) показал что аллель T rs1979277 гена *SHMT1* достоверно связан с развитием СЗРП 2-3 степени (OR=1,57, 95%CI 1,11-2,23, p=0,011, p_{perm}=0,012, N_{perm}=1596).

Таблица 1

Распределение 5 полиморфных локусов генов фолатного цикла в группе беременных с СЗРП 2 - 3 степени

Table 1

Distribution of 5 polymorphic loci of the folate cycle genes in the group of pregnant women with FGRS of 2-3 degrees

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель	Частый аллель	Частота минорного аллеля	Число изученных хромосом	Распределение генотипов*	Наблюдаемая гетерозиготность H ₀	Ожидаемая гетерозиготность H _e	P
1	rs1805087	<i>MTR</i>	G	A	0,230	674	9/35/66	0,318	0,366	0,191
5	rs1801394	<i>MTRR</i>	A	G	0,428	706	20/53/37	0,482	0,488	1,000
17	rs1979277	<i>SHMT1</i>	T	C	0,312	664	17/43/41	0,426	0,472	0,398
18	rs699517	<i>TYMS</i>	T	C	0,287	690	10/40/60	0,366	0,397	0,469
18	rs2790	<i>TYMS</i>	G	A	0,172	704	3/34/73	0,309	0,297	1,000

Примечание: * - количество гомозигот по минорному аллелю / гетерозигот / гомозигот по частому аллелю.

Note: * - count of homozygotes for the minor allele / heterozygotes / homozygotes for the frequent allele.

Таблица 2

Распределение 5 полиморфных локусов генов фолатного цикла в контрольной группе

Table 2

Distribution of 5 polymorphic loci of the folate cycle genes in the control group

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель	Частый аллель	Частота минорного аллеля	Число изученных хромосом	Распределение генотипов*	Наблюдаемая гетерозиготность	Ожидаемая гетерозиготность	P
1	rs1805087	<i>MTR</i>	G	A	0,224	454	6/90/131	0,396	0,348	0,055
5	rs1801394	<i>MTRR</i>	A	G	0,43	486	44/121/78	0,498	0,490	0,896
17	rs1979277	<i>SHMT1</i>	T	C	0,281	462	17/96/118	0,416	0,404	0,747
18	rs699517	<i>TYMS</i>	T	C	0,293	470	18/102/115	0,434	0,415	0,532
18	rs2790	<i>TYMS</i>	G	A	0,167	484	7/67/168	0,277	0,279	0,821

Примечание: * - количество гомозигот по минорному аллелю / гетерозигот / гомозигот по частому аллелю.

Note: * - count of homozygotes for the minor allele / heterozygotes / homozygotes for the frequent allele.

Таблица 3

Ассоциации аллелей 5 полиморфных локусов генов фолатного цикла с СЗРП 2-3 ст. у беременных

Table 3

Associations of alleles of 5 polymorphic loci of the folate cycle genes with 2-3-degree FGRS in pregnant women

CHR	SNP	Ген	Минорный аллель (MAF)	MAF у беременных с СЗРП 2-3 ст.	MAF в контроле	OR	L95	U95	P
1	rs1805087	<i>MTR</i>	G	0,241	0,225	1,09	0,75	1,60	0,638
5	rs1801394	<i>MTRR</i>	A	0,423	0,430	0,97	0,70	1,34	0,086
17	rs1979277	<i>SHMT1</i>	T	0,381	0,281	1,57	1,11	2,23	0,011
18	rs699517	<i>TYMS</i>	T	0,273	0,294	0,90	0,63	1,29	0,572
18	rs2790	<i>TYMS</i>	G	0,182	0,167	1,11	0,73	1,68	0,637

Примечание: OR – отношение шансов (L95 – нижняя граница, U95 – верхняя граница), p – уровень значимости.

Note: OR is the odds ratio (L95 - lower limit, U95 - upper limit), p - significance level.

Таблица 4

Результаты логистического регрессионного анализа ассоциаций 5 SNPs генов фолатного цикла с формированием СЗРП 2-3 степени в рамках аддитивной, доминантной и рецессивной моделей

Table 4

Results of logistic regression analysis of 5 SNPs associations of the folate cycle genes with the formation of 2-3-degree FGRS in scope of additive, dominant and recessive models

Chr	SNP	Ген	n	Аддитивная модель			Доминантная модель			Рецессивная модель					
				OR	95%CI		P	OR	95%CI		P	OR	95%CI		P
					L95	U95			L95	U95			L95	U95	
1	rs1805087	<i>MTR</i>	337	1,10	0,74	1,62	0,630	0,91	0,57	1,45	0,689	3,28	1,14	9,47	0,028
5	rs1801394	<i>MTRR</i>	353	0,97	0,70	1,34	0,855	0,93	0,58	1,50	0,775	1,00	0,56	1,80	0,986
17	rs1979277	<i>SHMT1</i>	332	1,56	1,10	2,22	0,012	1,53	0,95	2,45	0,079	2,55	1,24	5,22	0,011
18	rs699517	<i>TYMS</i>	345	0,90	0,63	1,29	0,571	0,8	0,51	1,26	0,332	1,21	0,54	2,71	0,650
18	rs2790	<i>TYMS</i>	352	1,11	0,73	1,68	0,636	1,15	0,71	1,86	0,567	0,94	0,24	1,71	0,931

Примечание: – выделены статистически значимые результаты с учетом адаптивного пермутационного теста, OR – отношение шансов, 95%CI – 95% доверительный интервал (L95 – нижняя граница, U95 – верхняя граница), p – уровень значимости.

Note: – statistically significant results were selected taking into account the adaptive permutation test, - OR – odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval (L95 – lower limit, U95 – upper limit), p – significance level.

Установлено, что аллель T rs1979277 гена *SHMT1* ассоциирован с развитием СЗРП 2-3 степени в рамках аддитивной (OR=1,56, 95%CI 1,10-2,22, p=0,012, p_{perm}=0,011, N_{perm}=1792) и рецессивной (OR=2,55, 95%CI 1,24-5,22, p=0,011, p_{perm}=0,007, N_{perm}=2961) моделей (табл. 4). Также выявлена ассоциация аллеля G rs1805087 гена *MTR* с формированием СЗРП 2-3 степени в соответствии с рецессивной моделью (OR=3,28, 95%CI 1,14-9,47, p=0,028, p_{perm}=0,014, N_{perm}=1364).

При анализе ассоциаций гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* с развитием СЗРП 2-3 степени у беременных достоверных данных не выявлено (табл. 5).

С использованием метода MB-MDR выявлено 3 значимые модели SNP×SNP взаимодействий генов фолатного цикла, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени: 2 модели двухлокусного взаимодействия, 1 – трехлокусного (p_{perm}≤0,05) (табл. 6).

Проведенный анализ показал, что в состав 3 наиболее значимых моделей межгенных взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени, входят 3 полиморфных локуса из 5 рассматриваемых SNPs: rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR* и rs1979277 *SHMT1*. Следует отметить, что каждый из этих трех «значимых» SNPs входит, как правило, в состав двух моделей. При этом, полиморфный локус rs1805087 *MTR* участвует в формировании

наиболее значимых моделей ген-генных взаимодействий всех уровней (2-х и 3-х локусных). Также, парное SNP×SNP взаимодействие rs1805087 *MTR* x rs1979277 *SHMT1* является основой двух наиболее значимых моделей межгенных взаимодействий – одной 2-х локусной и одной 3-х локусной моделей. Ассоциации отдельных комбинаций генотипов с развитием СЗРП 2-3 степени в рамках 3 наиболее значимых моделей SNP×SNP взаимодействий представлены в таблице 7. Наиболее значимую ассоциацию с СЗРП 2-3 степени имеет двухлокусная комбинация генотипов AG rs1801394 *MTRR* x GG rs1805087 *MTR* (beta =0,47, p=0,002).

С помощью метода MDR выполнен анализ межгенных взаимодействий трех SNPs rs1801394 *MTRR* x rs1805087 *MTR* x rs1979277 *SHMT1*, связанных с развитием СЗРП 2-3 степени. Полученные результаты представлены на рисунке 1 в виде дендрограммы (А) и графа (Б). Следует отметить, что наибольший вклад в формирование СЗРП 2-3 стадии вносят полиморфные локусы rs1979277 *SHMT1* (1,19% энтропии), rs1805087 *MTR* (1,19% энтропии) и парное межгенное взаимодействие rs1801394 *MTRR* x rs1805087 *MTR* (-0,40% энтропии).

Таким образом, проведенное исследование установило ассоциации трех из пяти изученных полиморфных локусов генов фолатного цикла с развитием СЗРП 2-3 степени: rs1805087 гена *MTR*, rs1979277 гена *SHMT1* и rs1801394 гена *MTRR*.

Таблица 5

Ассоциации гаплотипов полиморфных локусов rs699517 и rs2790 гена *TYMS* с развитием СЗРП 2-3 степени

Table 5

Associations of haplotypes of polymorphic loci rs699517 and rs2790 of the *TYMS* gene with the development of 2-3-degree FGRS

SNPs	Гаплотип	Частота гаплотипа		OR	P
		Беременные с СЗРП (n=112)	Контроль (n=243)		
rs699517 rs2790	TG	0,153	0,162	0,93	0,743
rs699517 rs2790	CG	0,029	0,008	3,50	0,038
rs699517 rs2790	TA	0,120	0,132	0,89	0,652

Примечание: результаты получены методом логистической регрессии. OR – отношение шансов, p – уровень значимости.

Note: the results were obtained by the method of logistic regression. OR is the odds ratio, p is the significance level.

Таблица 6

Наиболее значимые модели SNP x SNP взаимодействий генов фолатного цикла, ассоциированные с развитием СЗРП 2-3 степени

Table 6

The most significant models of SNP x SNP folate cycle gene interactions associated with the development 2-3-degree FGRS

N	Модели SNP x SNP взаимодействий	NH	betaH	WH	NL	betaL	WL	P _{perm}
Двухлокусные модели ($p < 2,7 * 10^{-3}$)								
1	rs1801394 <i>MTRR</i> x rs1805087 <i>MTR</i>	1	0,475	9,38	0	NA	NA	0,042
2	rs1805087 <i>MTR</i> x rs1979277 <i>SHMT1</i>	2	0,283	9,13	1	-0,113	2,922	0,049
Трехлокусные модели ($p < 1,4 * 10^{-5}$)								
1	rs1801394 <i>MTRR</i> x rs1805087 <i>MTR</i> x rs1979277 <i>SHMT1</i>	4	0,440	19,43	0	NA	NA	0,013

Примечание: получены методом MB-MDR;

NH – количество значимых сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском развития СЗРП 2-3 степени;

beta H – коэффициент линейной регрессии для сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском развития СЗРП 2-3 степени;

WH – статистика Вальда для сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском развития СЗРП 2-3 степени;

NL – число значимых сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском развития СЗРП 2-3 степени;

beta L – коэффициент линейной регрессии для сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском развития СЗРП 2-3 степени;

WL – статистика Вальда для сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском развития СЗРП 2-3 степени;

P_{perm} – уровень значимости моделей после проведенного пермутационного теста (выполнено 1000 пермутаций).

Note: obtained by MB-MDR;

NH - the number of significant combinations of genotypes associated with an increased risk of FGRS of 2–3 degrees;

beta H - linear regression coefficient for combinations of genotypes associated with an increased risk of FGRS of 2–3 degrees;

WH - Wald statistics for combinations of genotypes associated with an increased risk of developing FGRS of 2–3 degrees;

NL - the number of significant combinations of genotypes associated with a reduced risk of developing FGRS of 2–3 degrees;

beta L is the linear regression coefficient for combinations of genotypes associated with a reduced risk of FGRS of 2–3 degrees;

WL - Wald statistics for combinations of genotypes associated with a reduced risk of developing FGRS of 2–3 degrees;

P_{perm} - significance level of the models after the permutation test (1000 permutations were performed).

Таблица 7

Ассоциации комбинаций генотипов фолатного цикла, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени

Table 7

Associations of combinations of the folate cycle genotypes associated with the development of 2-3-degree FGRS

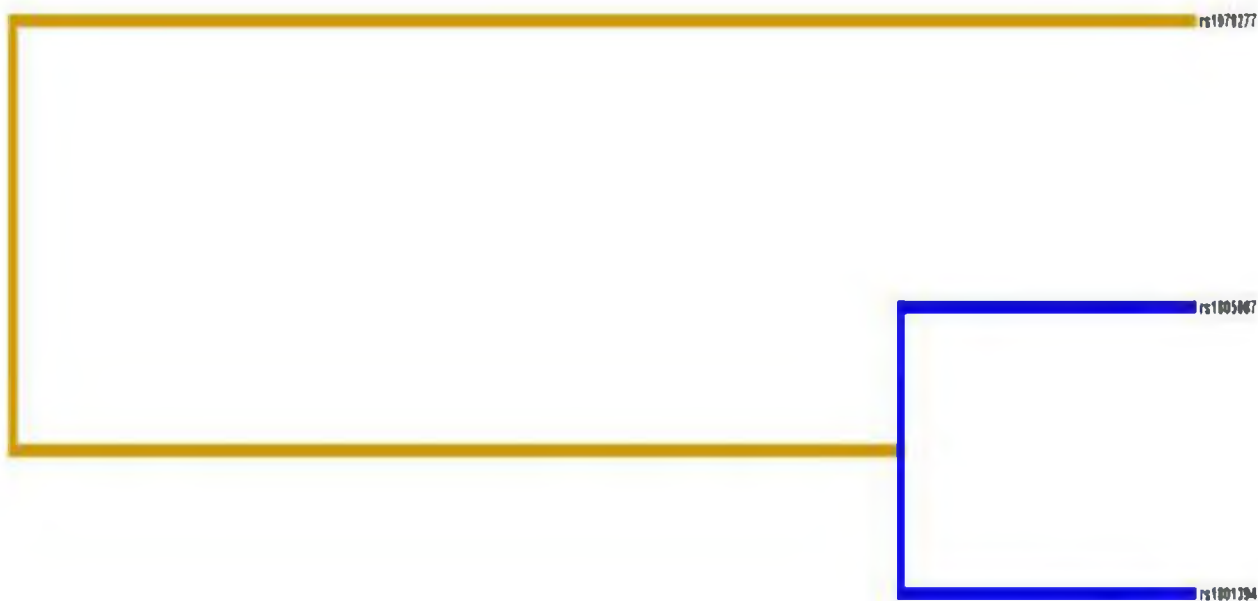
N модели	N комбинации	Комбинации генотипов	<i>beta</i>	P	Риск
Двухлокусные модели					
1	1	rs1801394 AG x rs1805087 GG	0,47	0,002	H
2	2	rs1805087 AA x rs1979277 TT	0,25	0,019	H
Трехлокусные модели					
3	3	rs1801394 AG x rs1805087 GG x rs1979277 CC	0,44	0,059	H
	4	rs1801394 AG x rs1805087 GG x rs1979277 CT	0,49	0,018	H
	5	rs1801394 AA x rs1805087 AA x rs1979277 TT	0,49	0,018	H
	6	rs1801394 AG x rs1805087 AG x rs1979277 TT	0,32	0,056	H

Примечание: получены методом MB-MDR; *beta* – коэффициенты логистической регрессии для сочетаний генотипов;

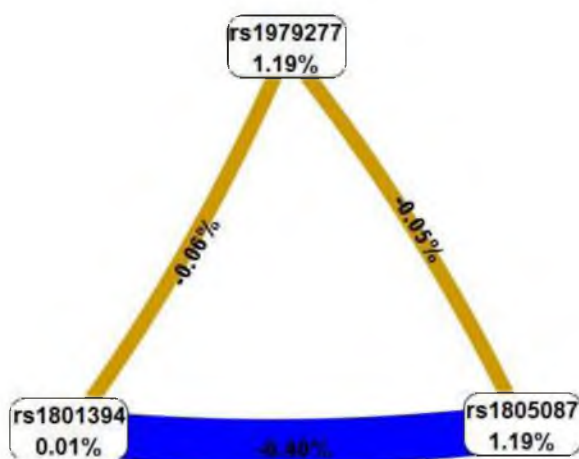
p – уровень значимости (жирным выделена наиболее значимая ассоциация); H – высокий риск.

Note: obtained by MB-MDR; *beta* - logistic regression coefficients for combinations of genotypes;

p – significance level (the most significant association is highlighted in bold); H – high risk.



A.



Б.

Рис. 1. Дендрограмма (А) и граф (Б) наиболее значимых SNP×SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени (получены методом MDR). Характеризуют силу и направленность влияния полиморфных локусов и их сочетаний на развитие СЗРП 2-3 степени (% энтропии). При обозначении полиморфизма указаны хромосома и rs SNP. Коричневый цвет - умеренный синергизм, синий – выраженный синергизм в SNP×SNP взаимодействиях соответственно.

Fig. 1. Dendrogram (A) and graph (B) of the most significant SNP × SNP interactions associated with the development of 2-3-degree FGRS (obtained by the MDR method). Characterize the strength and orientation of the influence of polymorphic loci and their combinations on the development of 2-3-degree FGRS (% of entropy). When designating polymorphism, the chromosome and rs SNP are indicated. Brown is moderate synergism, blue is pronounced synergism in SNP × SNP interactions, respectively.

Полученные результаты согласуются с литературными данными о медико-биологических эффектах исследуемых генов в организме человека. Нормальное развитие плода требует адекватного уровня фолиевой кислоты во время беременности. Фолат способствует делению и росту клеток, а метаболизм фолата участвует в большом количестве физиологических и патофизиологических процессов в развитии человека [8, 10]. Поэтому полиморфизм генов, ответственных за обмен фолиевой кислоты, может негативно сказываться на росте и делении клеток плода и плаценты.

При сочетании неполноценных функционально ослабленных аллелей на фоне действия неблагоприятных (провоцирующих) факторов внешней среды такие полиморфизмы могут играть важную роль в патологии беременности и нарушении эмбрионального развития [9, 10, 12].

Метаболические ферменты фолатного цикла играют важную роль в поддержании нормального развития плода. Так, серин-гидроксиметилтрансфераза (*SHMT1*), пиридоксаль-фосфат-зависимый фермент, катализирующий взаимопревращение серина и глицина, обеспечивает фолат-зависимый одноуглеродный метаболизм, необходимый для синтеза пуринов и тимидилата, а также для превращения гомоцистеина в метионин. Метионин впоследствии аденилируется в S-аденозилметионин (SAM), кофактор, который метилирует ДНК, РНК, белки и многие метаболиты [9, 10]. Авторы указывают, что митохондриальные SHMT-производные одноуглеродные единицы необходимы для опосредованного фолатом одноуглеродного метаболизма в цитоплазме [11, 12]. Связь полиморфизма гена *SHMT1* с нарушением течения беременности и развитием плода показана в работе Katalin Fekete с соавторами [13]. Также проводились работы по изучению ассоциаций серин-гидроксиметилтрансферазы (*SHMT1*) с развитием острого лимфобластного лейкоза, склероза, дефекта нервной трубки [14-17].

Метионинсинтаза (*METH*, то есть *MTR*) является ключевым ферментом в пути фолата, который играет критическую роль в синтезе, репарации и метилировании ДНК. Метионинсинтаза является В₁₂-зависимым ферментом, и недостаток витамина В₁₂ может нарушить метилирование гомоцистеина и привести к его накоплению. Деметилирование метионина в процессе метаболизма приводит к образованию гомоцистеина, а для его метилирования требуется фолат и кобаламин. Низкие концентрации фолиевой кислоты связаны с сосудистыми осложнениями беременности. Предыдущие экспериментальные и теоретические исследования показали, что кофакторы фолата ограничивают цитоплазматические фолатзависимые реакции [17, 18].

В ряде работ показана связь метионинсинтазаредуктазы (*MTR*) с внутриутробной задержкой роста плода [12, 13, 19]. Предыдущие *in vitro* исследования выявили, что этот фермент регулирует распределение метилентетрагидрофолата между путями метаболизма тимидилата и гомоцистеина. [12]. Sung Hwan Cho с соавторами выявили ассоциации генетических полиморфизмов метионинсинтазы (*MTRR*) и метионинсинтазаредуктазы (*MTR*) с рецидивирующим нарушением имплантации плода [21]. Имеются работы, демонстрирующие ассоциации полиморфизма генов *MTRR* и *MTR* с инициацией онкогенеза и опухолевой прогрессии, с риском развития сердечно-сосудистой патологии [22-27].

Закключение. В результате проведенного исследования установлена ассоциация полиморфных локусов генов фолатного цикла rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR* с развитием синдрома задержки роста плода 2-3 степени. Аллели T rs1979277 гена *SHMT1* и G rs1805087 гена *MTR* являются факторами риска развития данного осложнения беременности (OR=1,56 - 2,55 и OR=3,28 соответственно). Установлены три модели SNPxSNP взаимодействий генов фолатного цикла, ассоциированных с СЗРП 2-3 степени (p<0,05). В состав значимых моделей вхо-

дят три полиморфных локуса rs1979277 *SHMT1*, rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR*. Парное взаимодействие rs1801394 *MTRR* x rs1979277 *SHMT1* является основой двух наиболее значимых моделей ген-генных взаимодействий, ассоциированных с развитием СЗРП 2-3 степени.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Human Placental Arterial Distensibility, Birth Weight, and Body Size Are Positively Related to Fetal Homocysteine Concentration / S.W. D'Souza [et al.] // *Reprod Sci.* 2017. Vol. 24(7). P. 1070-1078. DOI: 10.1177/1933719116678694
2. Birth-weight differences at term are explained by placental dysfunction and not by maternal ethnicity / J. Morales-Roselló [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018. Vol. 52(4). P. 488-493. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.19025>
3. Placental adaptations in growth restriction / S. Zhang [et al.] // *Nutrients.* 2015. Vol. 7. P. 360-389. DOI: 10.3390/nu7010360
4. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction / Salavati N. [et al.] // *Front. Physiol.* 2019. Vol. 9. P. 1884. DOI: 10.3389/fphys.2018.01884
5. Gordijn S.J., Beune I.M., Ganzevoort W. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2018. Vol. 49. P. 117-126. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.002
6. Fetal growth restriction: current knowledge / L.M.M. Nardoza [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017. Vol. 295. P. 1061-1077. DOI: 10.1007/s00404-017-4341-9
7. Methionine metabolism in human pregnancy / J. Dasarathy [et al.] // *Am J Clin Nutr.* 2010. Vol. 91(2). P. 357-365. DOI: 10.3945/ajcn.2009.28457
8. Патогенетические аспекты нарушения обмена фолиевой кислоты при задержке внутриутробного развития плода [Электронный ресурс] / А.Н. Ни [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* 2016. N 2. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24187> (дата обращения: 20.02.2020).
9. Частота генетических маркеров фолатного цикла у новорожденных с задержкой внутриутробного развития / А.Н. Ни [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2015. N 3. С. 63-66.
10. Ларина Т.Н., Супрун С.В. Фолатный цикл: патогенетические механизмы осложненной беременности // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2018. N 70. С. 113-120.
11. Association Study of Polymorphisms in Genes Relevant to Vitamin B12 and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population / Z. Zhang [et al.] // *Med Sci Monit.* 2018. Vol. 24. P. 370-376. DOI: 10.12659/MSM.905567
12. Полиморфизмы генов фолатного цикла, ассоциированные с угрозой раннего прерывания беременности у жительниц республики Адыгея / Д.Д. Мамий [и др.] // *Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки.* 2018. N 1(212). С. 103-111.
13. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters / K. Fekete [et al.] // *Maternal and Child Nutrition.* 2010. Vol. 6(s2). P. 23-38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2010.00261.x>
14. Association of *SHMT1* gene polymorphisms with the risk of childhood acute lymphoblastic / G. Bahari [et al.] // *Cell. Mol. Biol.* 2016. Vol. 62(2). P. 45-51.
15. Correlations between the polymorphisms of serine hydroxymethyl-transferase 1 gene and the adverse reactions of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia / H. Ding [et al.] // *Chinese Journal of Clinical Oncology.* 2014. Vol. 3. P. 162-165. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.20131420
16. Association of *SHMT1*, *MAZ*, *ERG*, and *L3MBTL3* gene polymorphisms with susceptibility to multiple sclerosis / S.Z.N. Mehrabani [et al.] // *Biochemical genetics.* 2019. Vol. 3(57). P. 355-370. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-018-9894-1>
17. Interaction between Maternal and Paternal *SHMT1* C1420T Predisposes to Neural Tube Defects in the Fetus: Evidence from Case-Control and Family-Based Triad Approaches / P.K. Rebekah [et al.] // *Birth Defects Research.* 2017. Vol. 109(13). P. 1020-1029. DOI: 10.1002/bdr2.23623
18. Association of Polymorphisms in Genes Involved in One-Carbon Metabolism with *MTHFR* Methylation Levels / F. Coppedè [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20(15). P. 3754. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20153754>

19. Tian D.D., Zhang C.D., Wang L.K. Relation between *MTHFR* and *MTR* gene polymorphisms and the efficacy of oral folic acid therapy for hyperhomocysteinemia // Chinese General Practice. 2016. Vol. 19(12). P. 1396-1407.
20. Фетисова И.Н., Малышкина А.И., Фетисов Н.С. Полиморфизм генов фолатного цикла у женщин с невынашиванием беременности // Вестник Ивановской медицинской академии. 2019. Т. 24, N 1. С. 33-36.
21. Association of methionine synthase (rs1805087), methionine synthase reductase (rs1801394), and methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 (rs2236225) genetic polymorphisms with recurrent implantation failure / S.H. Cho [et al.] // Human Fertility. 2019. P. 1-8. DOI: 10.1080/14647273.2019.1613679
22. Niu Z., Hou X., Zhao H. Association of *MTHFR*, *MTRR* and *MTR* polymorphisms with breast cancer risk: a study in Chinese females // International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2017. Vol. 10(6). С. 7059-7066.
23. Полиморфные варианты генов фолатного цикла у больных раком легкого / М.Л. Баканова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. 2019. Т. 18, N 2. С. 70-77.
24. Donor one carbon metabolism gene single nucleotide polymorphisms predict the susceptibility of cancer recurrence after liver transplantation / C. Wang [et al.] // Gene. 2019. Vol. 689. P. 97-101. DOI: 10.1016/j.gene.2018.11.035
25. Association of Two Single-Nucleotide Polymorphisms (rs1805087 and rs1801131) with Coronary Artery Disease in Golestan Population / F. Baghbani-Arani [et al.] // Ann Mil Health Sci Res. 2017. Vol. 15(1). P. e11473. DOI: 10.5812/amh.11473
26. Популяционно-генетическая структура и анализ распространенности генов-кандидатов ряда мультифакториальных заболеваний среди населения / М.И. Чурносков [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2008. N 6-2(46). С. 34-39.
27. Березина О.В., Поспелова Т.И. Гены метаболизма фолатов при диффузной крупноклеточной лимфоме // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2018. Т. 153, N 2. С. 9-13.
28. Fetal Homocysteine Concentration. Reprod Sci. 2017;24(7):1070-1078. DOI: 10.1177/1933719116678694
29. Morales- Roselló J, Dias T, Khalil A, et al. Birth-weight differences at term are explained by placental dysfunction and not by maternal ethnicity. Ultrasound Obstet Gynecol. 2018;52(4):488-493. DOI: 10.1002/uog.19025
30. Zhang S, Regnault T, Barker P, et al. Placental adaptations in growth restriction. Nutrients. 2015;7:360-389. DOI: 10.3390/nu7010360
31. Salavati N, Smies M, Ganzevoort W, et al. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction. Front. Physiol. 2019;9:1884. DOI: 10.3389/fphys.2018.01884
32. Gordijn SJ, Beune IM, Ganzevoort W. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018;49:117-126. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.002
33. Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamarian ACP, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. Arch. Gynecol. Obstet. 2017;295:1061-1077. DOI: 10.1007/s00404-017-4341-9
34. Dasarathy J, Gruca LL, Bennett C, et al. Methionine metabolism in human pregnancy. Am J Clin Nutr. 2010;91(2):357-365. DOI: 10.3945/ajcn.2009.28457
35. Ni AN, Fadeeva TJ, Vasileva TG, et al. [Pathogenetic aspects of folic acid exchange disorder in case of delay of intrauterine fetal development]. Modern problems of science and education [Internet]. 2016 [cited 2019 Feb 20];2. Available from: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24187>. Russian.
36. Ni AN, Fadeeva TJ, Vasileva TG, et al. [Frequency of genetic markers of the folate cycle in newborns with delay of intrauterine development]. Russian Journal of Perinatology and Pediatrics. 2015;3:63-66. Russian.
37. Larina TN, Suprun SV. [The Folate Cycle: Pathogenetic Mechanisms of Pregnancy Complications]. Bulletin of Physiology and Respiratory Pathology. 2018;70:113-120. Russian.
38. Zhang Z, Yu L, Li S, et al. Association Study of Polymorphisms in Genes Relevant to Vitamin B12 and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population. Med Sci Monit. 2018;24:370-376. DOI: 10.12659/MSM.905567
39. Mamiy DD, Tatarkova EA, Tuguz AR, et al. [Polymorphisms of folate cycle genes asso-

ciated with the threat of early termination of pregnancy in residents of the Republic of Adygea]. Journal of Adygei State University. Series 4: Natural-mathematical and technical sciences. 2018;1(212):103-111. Russian.

13. Fekete K, Berti C, Cetin I, et al. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters. Maternal and Child Nutrition. 2010;6(s2):23-38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2010.00261.x>

14. Bahari G, Hashemi M, Naderi M, et al. Association of *SHMT1* gene polymorphisms with the risk of childhood acute lymphoblastic. Cell. Mol. Biol. 2016;62(2):45-51.

15. Hui D, Lijie Y, Jie Y, et al. Correlations between the polymorphisms of serine hydroxymethyl-transferase 1 gene and the adverse reactions of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia. Chinese Journal of Clinical Oncology. 2014;3:162-165. DOI: [10.3969/j.issn.1000-8179.2013.14.20](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-8179.2013.14.20)

16. Mehrabani SZN, Shushizadeh MH, Abazari MF, et al. Association of *SHMT1*, *MAZ*, *ERG*, and *L3MBTL3* gene polymorphisms with susceptibility to multiple sclerosis. Biochemical genetics. 2019;3(57):355-370. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-018-9894-1>

17. Rebekah PK, Tella S, Buragadda S, et al. Interaction between Maternal and Paternal *SHMT1* C1420T Predisposes to Neural Tube Defects in the Fetus: Evidence from Case-Control and Family-Based Triad Approaches. Birth Defects Research. 2017;109(13):1020-1029. DOI: [10.1002/bdr2.23623](https://doi.org/10.1002/bdr2.23623)

18. Coppedè F, Stoccoro A, Tannorella P, et al. Association of Polymorphisms in Genes Involved in One-Carbon Metabolism with *MTHFR* Methylation Levels. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(15):3754. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20153754>

19. Tian DD, Zhang CD, Wang LK. Relation between *MTHFR* and *MTR* gene polymorphisms and the efficacy of oral folic acid therapy for hyperhomocysteinemia. Chinese General Practice. 2016;19(12):1396-1407.

20. Fetisova IN, Kolchkin AI, Fetisov NS. [Polymorphism of folate cycle genes in women with non-pregnancy]. Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii. 2019;24(1):33-36. Russian.

21. Cho SH, Kim JH, An HJ, et al. Association of methionine synthase (rs1805087), methionine synthase reductase (rs1801394), and methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 (rs2236225) genetic polymorphisms with recur-

rent implantation failure. Human Fertility. 2019 May 17:1-8. DOI: [10.1080/14647273.2019.1613679](https://doi.org/10.1080/14647273.2019.1613679)

22. Niu Z, Hou X, Zhao H. Association of *MTHFR*, *MTRR* and *MTR* polymorphisms with breast cancer risk: a study in Chinese females. International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2017;10(6):7059-7066.

23. Bakanova ML, Minina VI, Savchenko YA, et al. [Polymorphic variants of folate cycle genes in lung cancer patients]. Siberian Journal of Oncology. 2019;18(2):70-77. Russian.

24. Wang C, Lu D, Ling Q, et al. Donor one-carbon metabolism gene single nucleotide polymorphisms predict the susceptibility of cancer recurrence after liver transplantation. Gene. 2019;689:97-101. DOI: [10.1016/j.gene.2018.11.035](https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.035)

25. Baghbani-Arani F, Telori MK, Asadi J, et al. Association of Two Single-Nucleotide Polymorphisms (rs1805087 and rs1801131) with Coronary Artery Disease in Golestan Population. Ann Mil Health Sci Res. 2017;15(1):e11473. DOI: [10.5812/amh.11473](https://doi.org/10.5812/amh.11473)

26. Churnosov MI, Necipelova EV, Tekunova TS, et al. [Population-genetic structure and analysis of the prevalence of candidate genes of a number of multi-factorial diseases among the population]. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2008;6-2(46):34-39. Russian.

27. Berezina OV, Pospelova TI. [Genes of folate metabolism in diffuse in-large-cell lymphoma]. Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2018;153(2):9-13. Russian.

Информация об авторе

Олеся Адамовна Ефремова, ассистент кафедры медицинской генетики, Харьковский национальный медицинский университет, E-mail: efremovaolesya@gmail.com, ORCID: [0000-0003-3710-9942](https://orcid.org/0000-0003-3710-9942).

Information about the author

Olesya A. Efremova, Assistance Lecturer of the Department of Medical Genetics, Kharkiv National Medical University, E-mail: efremovaolesya@gmail.com, ORCID: [0000-0003-3710-9942](https://orcid.org/0000-0003-3710-9942).

Статья поступила в редакцию 8 ноября 2019 г.
Receipt date 2019 November 8.

Статья принята к публикации 10 января 2020 г.
Accepted for publication 2020 January 10.