

В. С. УЧАЕВА¹, Ю. А. ВАСИЛЬЕВ², А. С. ГРАЧЕВА¹, О. В. ГУЛЕНКО², И. Г. УДИНА¹

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ SNP C677T ГЕНА MTHFR В РАЗВИТИИ ВРОЖДЕННЫХ ИЗОЛИРОВАННЫХ РАСЩЕЛИН ГУБЫ И НЕБА

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, ул. Губкина, д. 3, Москва, Россия, 119991.

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Седина, д. 4, Краснодар, Россия, 350063.

АННОТАЦИЯ

Цель. Проведено ассоциативное популяционно-генетическое исследование для рассмотрения роли SNP C677T гена MTHFR в формировании врожденных пороков развития челюстно-лицевой области (ВПР ЧЛО) – врожденных расщелин губы и/или неба (ВРГ, ВРН и ВРГН) в Краснодарском крае с целью установления ассоциаций между SNP C677T гена MTHFR и формированием врожденных расщелин губы и/или неба.

Материалы и методы. В Краснодарском крае изучены особенности распространения SNP C677T гена MTHFR у детей с врожденными расщелинами губы и/или неба (n=233) и их матерей (n=78) в сравнении с контрольной группой (n=124). Для детей с ВПР ЧЛО собраны генетико-демографические анкеты, информация о диагнозе получена из медицинских карт. У детей с патологией и их матерей собраны биологические образцы: кровь или соскобы слизистой оболочки рта, из которых выделена ДНК стандартными методами. У детей с ВРГ, ВРН и ВРГН, их матерей, а также в группе контроля проведено изучение особенностей распределения аллелей SNP C677T гена MTHFR с помощью методов ПЦР-ПДРФ с рестриктазой Hinf I или методом тетрапраймерной ПЦР. Статистическая обработка полученных данных произведена с помощью алгоритмов программы "Statistica".

Результаты. При сравнении профилей частот SNP C677T у детей с ВРГ, ВРН и ВРГН с контрольной группой не выявлено достоверных различий ни по частоте данного SNP, ни по особенностям распределения генотипов. Для матерей детей с ВРГ, ВРН и ВРГН установлено достоверное различие с контролем по особенностям распространения генотипов (G=19,5232, d.f.=1, p<0,001), а также объединенных генотипов (C/C и C/T) по отношению к T/T (G=10,4657, d.f.=1; p<0,001) и объединенных генотипов (C/T и T/T) по отношению к C/C (G=15,1896, d.f.=1, p<0,001).

Заключение. Установлена ассоциация SNP C677T гена MTHFR с развитием врожденных расщелин губы и / или неба: генотип T/T у матерей сопряжен с повышенным риском рождения детей с ВРГ, ВРН и ВРГН (по сравнению с матерями с генотипами C/C+C/T): odds ratio [OR]=16,63, 95% CI: 3,86-71,71; p=0,0003, а также для матерей с генотипами (C/T+T/T) по сравнению с матерями с генотипами C/C: OR=3,22, CI:1,71-6,08; p=0,0002. У детей с ВПР ЧЛО для генотипа T/T величина риска недостоверна, что позволяет сделать вывод о вкладе SNP C677T гена MTHFR в формирование ВРГ, ВРН и ВРГН только в генотипе матери.

Ключевые слова: врожденные расщелины губы и/или неба, C677T гена MTHFR, матери детей с врожденными расщелинами губы и/или неба, фолат, Краснодарский край

Для цитирования: Учаева В.С., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Гуленко О.В., Удина И.Г. Молекулярно-генетическое изучение роли SNP C677T гена MTHFR в развитии врожденных изолированных расщелин губы и неба. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2018; 25(5): 104-110. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-5-104-110

For citation: Uchaeva V.S., Vasiliev Yu. A., Gracheva A.S., Gulenko O.V., Udina I.G. Molecular genetic study of the impact of SNP C677T of the gene MTHFR in the development of congenital isolated cleft lip and palate. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2018; 2018; 25(5): 104-110. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-5-104-110

V. S. UCHAEVA¹, YU. A. VASILIEV², A. S. GRACHEVA¹, O. V. GULENKO², I. G. UDINA¹

MOLECULAR GENETIC STUDY OF THE IMPACT OF SNP C677T OF THE GENE MTHFR IN THE DEVELOPMENT OF CONGENITAL ISOLATED CLEFT LIP AND PALATE

¹Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Gubkin Str., 3, Moscow Russia, 119991.

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Kuban State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Sedina str., 4, Krasnodar, Russia, 350063.

ABSTRACT

Aim. This research was designed to conduct an associative population genetic study for the consideration of the impact of SNP *C677T* of the gene *MTHFR* in the congenital maxillofacial developmental anomalies (CMDA): congenital cleft lip (CCL), congenital cleft palate (CCP), congenital cleft lip and palate (CCLP) in the Krasnodar territory. The aim of the study is to establish the associations between SNP *C677T* of the gene *MTHFR* and the development of congenital cleft lip and/or palate.

Materials and methods. In this research, the peculiarities of distribution of SNP *C677T* of the gene *MTHFR* in children with congenital cleft lip and/or palate (n=223) and their mothers (n=78) in comparison with the control group (n=124) were studied in the Krasnodar territory. The genetic demographic questionnaires were gathered for children with CMDA, the information about diagnosis was obtained from the medical records. The biological samples, including blood or scrapings of oral mucosa, were collected from children with the pathology and their mothers. The DNA was extracted from the samples by the standard method. The study of the peculiarities of distribution of alleles of SNP *C677T* of the gene *MTHFR* was performed by PCR-PFLP with endonuclease *Hinf* I or by tetra-primer ARMS-PCR method in children with CCL, CCP, CCLP, their mothers and the control group. Statistical processing of the obtained data was performed by the algorithms of the "Statistica" program.

Results. While comparing the profiles of frequencies of SNP *C677T* in children with CCL, CCP and CCLP with the control group, there were identified no significant differences in the frequency of this SNP and no peculiarities of genotypes distribution. There was identified a significant difference in the peculiarities of genotypes distribution with the control group (G=19,5232, d.f.=1, p<0,001) as well as united genotypes (C/C и C/T) in accordance to T/T (G=10,4657, d.f.=1; p<0,001) and united genotypes (C/T и T/T) in accordance to C/C (G=15,1896, d.f.=1, p<0,001) for the mothers of children with CCL, CCP and CCLP.

Conclusion. As a result of the study, we established the association of SNP *C677T* of the *MTHFR* gene with the development of congenital cleft lip and/or palate: mothers' T/T genotype is associated with the increased risk of giving birth to a child with CCL, CCP and CCLP (in comparison with mothers with C/C+C/T genotype): odds ratio [OR]=16,63, 95% CI: 3,86-71,71; p=0,0003 and also for mothers with genotypes (C/T+T/T) in comparison with mothers with genotypes C/C: OR=3,22, CI:1,71-6,08; p=0,0002. The amount of risk is not significant in children with CMDA for T/T genotype. So it is possible to make a conclusion about the impact of *C677T* of the gene *MTHFR* in the development of CCL, CCP and CCLP only in mother's genotype.

Keywords: congenital cleft lip and/or palate, *C677T* of the gene *MTHFR*, folate, mothers of children with congenital cleft lip and/or palate, the Krasnodar territory

Введение

Врожденные изолированные расщелины губы и/или неба (ВРГ, ВРН и ВРГН) – распространенные патологии у новорожденных, обусловленные как наследственными, так и средовыми факторами. Рассматриваемые врожденные пороки интенсивно изучаются во всем мире. Проведены многочисленные исследования для установления конкретных факторов, включая экологические факторы, влияющих на развитие этих пороков, в том числе, полногеномные ассоциативные исследования [1, 2]. Во многих отдельных исследованиях и при проведении метаанализа публикаций установлены ассоциации полиморфных вариантов гена *MTHFR*, который является одним из важнейших в обеспечении фолатного обмена, с рождением детей с ВРГ, ВРН и ВРГН [3, 4]. Однако результаты установления ассоциаций иногда противоречивы [5], что зачастую связано с изучением небольших выборок.

Ген *MTHFR* локализован на 1p36.3 и кодирует 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазу, являющуюся ключевым ферментом фолатного обмена, позволяющим переводить фолиевую кислоту в активную форму (5-метилтетрагидрофолат); эта молекула включает метильную группу, которая необходима для реметилирования гомоцистеина. В результате мутации гена *C677T* в экзоне 4 гена

MTHFR происходит замена аланина на валин (р. Ala222Val) (*rs18101133*) в каталитическом домене белка-фермента [6]. У гомозигот по мутантному аллелю T/T активность фермента *in vitro* снижена на 70%, а у гетерозигот C/T – на 35% [7]. Поступление фолата извне с пищей отчасти компенсирует вредное воздействие данной мутации.

Генотип T/T *C677T* гена *MTHFR* в совокупности с низким количеством фолата в организме можно считать фактором риска развития заболеваний, сопряженных с нарушением метилирования ДНК (неопластические процессы). Особая функция гена *MTHFR* определяет его ассоциации со значительным количеством патологий (онкологические, сердечно-сосудистые заболевания, глаукома, неврологические заболевания, психические заболевания, псориаз и другие) [7, 8]. Отмечены повторные случаи невынашивания беременности у женщин с мутациями по *MTHFR* в генотипе и гипергомоцистеинемией [9]. У детей с ВРГ, ВРН и ВРГН отмечены существенные проблемы стоматологической сферы (формирование твердых тканей зуба, прорезывание зубов, высокие показатели основных стоматологических заболеваний) [10, 11, 12]. Врожденные несращения губы и неба некоторые авторы связывают с врожденными дефектами нервной трубки [13, 14]. В отдельных исследованиях отмечена ассоциация маркеров

гена *MTHFR*, включая SNP *C677T*, с врожденными дефектами нервной трубки, а также с развитием кариеса у них и у детей с врожденными расщелинами губы и неба [14, 15]. Таким образом, роль SNP *C677T* гена *MTHFR* как в развитии ВПР (ВРГ, ВРН и ВРГН), так и в развитии кариеса у детей с ВПР, представляет дополнительный интерес. Для изучения роли этого маркера в развитии кариеса у детей с ВПР ЧЛО необходимо первоначально установить его роль в формировании ВПР данной группы.

В результате анализа географического распространения аллеля *T* и генотипов *T/T* по *C677T* в Европе выявлен градиент увеличения частоты в направлении с севера на юг, а в Китае градиент изменения частоты имеет противоположное направление [16, 17]. Однако, в обоих случаях особенности распространения связывают с диетой – поступлением в организм внешнего фолата с пищей. Для матерей отмечают, что прием мультивитаминов с фолиевой кислотой снижает риск ВРГ до 50% и ВРН от 27-50% по данным разных авторов [18], аналогично показано снижение частоты врожденных дефектов нервной трубки на 50-70% [19]. Очевидно, что особенности диеты и прием фолиевой кислоты нивелируют вредные последствия мутации *C677T*. Таким образом, прием мультивитаминов с фолиевой кислотой до зачатия и в первом триместре беременности может быть рассмотрен как фактор профилактики данных ВПР. Представленные данные обуславливают пристальное внимание к изучению рассматриваемой мутации [20].

В связи с перечисленными фактами нами принято ассоциативное популяционно-генетическое исследование для рассмотрения роли SNP *C677T* гена *MTHFR* в формировании ВПР ЧЛО (ВРГ, ВРН и ВРГН) в Краснодарском крае, целью исследования является установление ассоциаций между SNP *C677T* гена *MTHFR* и формированием врожденных расщелин губы и неба.

Материалы и методы

В отделении челюстно-лицевой хирургии детской краевой клинической больницы г. Краснодара изучены дети с ВПР (ВРГ, ВРН и ВРГН) ($n=233$) в возрасте от 0 до 17 лет, госпитализированные в 2011-2017гг., а также изучены их матери ($n=78$) и контрольная группа детей ($n=124$) в возрасте от 5 до 17 лет. Все дети родились и проживают в Краснодарском крае. В качестве контроля для группы матерей детей с ВПР использовали ранее опубликованные данные для контрольной группы матерей с двумя и более здоровыми детьми, изученными в Краснодарском крае в период, совпавший с нашим исследованием [21].

Проведено генетико-демографическое анкетирование, включавшее данные о дате и месте рождения, месте проживания, родителях и бабушках и дедушках. Данные о диагнозе взяты из меди-

цинских карт. Сибсы не включались в изученную выборку. В группе матерей также не представлены родственницы.

Для исследования собраны биологические образцы крови или соскобы слизистой оболочки рта. В анкете имеется информированное согласие родителей на анонимное исследование их самих и детей с ВПР с помощью молекулярно-генетических методов. Данное исследование одобрено этическим комитетом Кубанского государственного медицинского университета.

ДНК выделена из биологических образцов с помощью наборов “Изоген” (Москва). Анализ распространения SNP *C677T* (*rs1801133*) гена *MTHFR* проведено частично методом ПЦР-ПДРФ с рестриктазой *Hinf I* [7], а также методом тетрапраймерной ПЦР [22]. Для проведения ПЦР-амплификации использовали наборы для ПЦР, изготовленные фирмой “Изоген” (Москва). ПЦР поведена на приборе фирмы “BioRad” MyCycler: денатурация при 95°C, 5 мин, отжиг праймеров – 57°C, 30 сек, элонгация – 72°C, 30 с, денатурация – 95°C, 15 с (30 циклов), финальная элонгация – 72°C, 4 мин.

Расчеты проведены по алгоритмам программы “Statistica” (сравнение распределения генотипов проведено с помощью G-теста), оценка OR (odds ratio) проведена по алгоритмам WinPepi: <http://www.brixtonhealth.com/pepi4window-s.html>.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлены полученные результаты о распределении *C677T* гена *MTHFR* в изученных группах и представлены результаты статистического анализа для частот генотипов в группах детей с ВПР ЧЛО и их матерей по сравнению с контрольными группами.

Частота аллеля *T* у детей с ВПР ЧЛО (ВРГ, ВРН и ВРГН) практически промежуточная между частотой этого аллеля у матерей детей с ВРГ, ВРН и ВРГН и в контрольной группе (детей). Сравнение распределения генотипов у детей с ВПР не выявило ни отклонения от равновесия Харди-Вайнберга, ни статистически значимых отклонений в оценках наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности. Для матерей детей с ВРГ, ВРН и ВРГН установлено достоверное различие по особенностям распределения генотипов $G=19,5232$, $d.f.=2$, $p<0,001$ по сравнению с контрольной группой матерей.

В таблице 2 представлен результат статистического анализа для объединенных генотипов по SNP *C677T* гена *MTHFR* в группах детей с ВПР ЧЛО и их матерей по сравнению с контрольными группами. Установлено достоверное отличие по частоте генотипа *T/T* с двумя мутантными аллелями против объединенного класса генотипов (*C/C* и *C/T*) ($G=10,4657$, $d.f.=1$, $p<0,001$) матерей детей с ВПР ЧЛО по сравнению с контролем, а также генотипа *C/C* против объединенного класса генотипов (*C/T* и *T/T*) ($G=15,1896$, $d.f.=1$, $p<0,001$). Таким образом, матери с генотипами *C/T*+*T/T* имеют более высокий

Распределение SNP C677T гена MTHFR у детей с диагнозами ВПР ЧЛО (ВРГ, ВРН и ВРГН), у их матерей и в контрольных группах

Distribution of SNP C677T of the gene MTHFR in children with diagnosis CMDA (CCL, CCP and CCLP), their mothers and in the control groups

Контрольная группа (дети)							
SNP	Генотип	N.O.	F.O.	Частота аллеля	N.E.	G	Параметры гетерозиготности
C677T	C/C	74	0,5968	PC=0,7863± 0,0260	76,66	2,0258	He=0,3361± 0,0298, Ho=0,3790± 0,0456, D=0,1278± 0,0882, td=0,8143, p>0,05
	C/T	47	0,3790		41,67		
	T/T	3	0,0242	PT=0,2137±0,0260	5,66	d.f.=1	
	Сумма	124	1,0000		ne=1,5062± 0,0298	p>0,05	
Дети ВРГ+ВРН+ВРГН							
SNP	Генотип	N.O.	F.O.	Частота аллеля	N.E.	G	Параметры гетерозиготности.
C677T	C/C	132	0,5665	PC=0,7575± 0,0199	133,70	0,3679	He=0,3674± 0,0318, Ho=0,3820± 0,0204, D=0,0397± 0,1557, td=0,3859, p>0,05
	C/T	89	0,3820		85,60		
	T/T	12	0,0515	PT=0,2425± 0,0199	13,70	d.f.=1	
	Сумма	233	1,0000		ne=1,5807± 0,0204	p>0,05	
Сравнение детей с ВПР ЧЛО и контрольной группы: G=1,6666, d.f.=2; p>0,05.							
Контрольная группа (матери)							
SNP	Генотип	N.O.	F.O.	Частота аллеля	N.E.	G	Параметры гетерозиготности
C677T	C/C	101	0,7537	PC=0,8769± 0,0201	103,03	0,26424	He=0,2159± 0,0302, Ho=0,2463± 0,0302, D=0,1404± 0,0996, td=0,6330, p>0,05
	C/T	33	0,2463		28,94		
	T/T	0	0,0000	PT=0,1231± 0,0201	2,03	d.f.=1	
	Сумма	134	1,0000		ne=1,7423± 0,0285	p>0,05	
Матери пациентов с ВРГ, ВРН и ВРГН							
SNP	Генотип	N.O.	F.O.	Частота аллеля	N.E.	G	Параметры гетерозиготности
C677T	C/C	38	0,4872	PC=0,6923± 0,0370	37,38	0,1070	He=0,4260± 0,02850, Ho=0,4103± 0,0557, D=0,0370± 0,1105, td=0,2522, p>0,05
	C/T	32	0,4102		33,23		
	T/T	8	0,1026	PT=0,3077± 0,0370	7,38	d.f.=1	
	Сумма	78	1,0000		ne=1,7423± 0,0285	p>0,05	
Сравнение матерей и контрольной группы (матери): G = 19,5232, d.f.=2, p<0,001							

Примечание: N.O. – наблюдаемая численность генотипов, N.E. – ожидаемая численность генотипов, F.O. – наблюдаемая частота генотипов; He – теоретическая гетерозиготность, Ho – эмпирическая гетерозиготность, D=(Ho–He)/He; n_e – эффективное число аллелей.

риск рождения ребенка с ВПР (OR=3,22, 95% CI: 1,71-6,08, p=0,0002) по сравнению с матерями с генотипом C/C, а матери с генотипом T/T также имеют более высокий риск рождения ребенка с ВПР ЧЛО данной группы: OR = 16.63, CI :1. 3.86-71.71, p=2.6E-4 по сравнению с матерями с генотипами C/C+С/Т (табл. 2). Ранее повышенный риск рождения

детей с ВПР для матерей, имевших в генотипе аллель T или генотип T/T, отмечен в отдельных исследованиях, а также при проведении метаанализа для обобщения результатов отдельных исследований, направленных на выявление роли генотипа матери по C677T гена MTHFR в рождении ребенка с рассматриваемыми ВПР ЧЛО [23, 24, 25].

Распределение объединенных классов генотипов по SNP C677T гена MTHFR у пациентов с ВРН, ВРГ и ВРГН, матерей и в группе контроля

Distribution of the united classes of genotypes by SNP C677T of the gene MTHFR in children with CCL, CCP and CCLP, their mothers and in the control groups

Генотип	ВРГ, ВРН и ВРГН		Контроль (дети)	
	N.O.	F.O.	N.O.	F.O.
C/C	132	0,5665	74	0,5968
C/T+T/T	101	0,4335	50	0,4032
Сумма	233	1,0000	124	1,0000
Сравнение с контролем	G=0,3027 d.f.=1, p>0,05; OR=1,1324, 95% CI: 0.71-1.81, p=0,653			
T/T	12	0,0515	3	0,0242
C/T+C/C	221	0,9485	121	0,0968
Сумма	233	1,0000	124	1,0000
Сравнение с контролем	G=1,5764, d.f.=1, p>0,05; OR=2,2938, 95% CI: 0.60-12.89, p=0,273			
Генотип	Матери детей ВРГ, ВРН и ВРГН		Контроль (матери)	
	N.O.	F.O.	N.O.	F.O.
C/C	38	0,4872	101	0,7573
C/T+T/T	40	0,5128	33	0,2463
Сумма	233	1,0000	134	1,0000
Сравнение с контролем	G=15,1896 d.f.=1, p<0,001; OR=3,22, 95% CI: 1,71-6,08, p=0,0002			
T/T	8	0,1026	0	0,0000
C/T+C/C	70	0,8974	134	1,0000
Сумма	78	1,0000	134	1,0000
Сравнение с контролем	G= 10, 4657, d.f.=1, p<0,01 OR = 16.63, CI: 1. 3.86-71.71, p=0,0003			

Примечание: N.O. – наблюдаемая численность генотипов, F.O. – наблюдаемая частота генотипов.

При сравнении величин частоты аллеля *T* у больных детей и у детей контрольной группы влияние рассматриваемого SNP на формирование ВРГ, ВРН и ВРГН у детей не выявлено, так как не обнаружено статистически значимых оценок при проведении сравнений с контрольной группой (табл. 1, 2). Ранее на меньшей выборке нам также не удалось установить достоверных различий по профилю частот аллелей и генотипов для этого SNP у больных и здоровых детей [26]. Ассоциация рассматриваемого маркера с формированием ВРГ, ВРН и ВРГН у детей не выявлена: для генотипа *T/T* величина *OR* недостоверна – *OR*=2,2938, 95% *CI*: 0.60-12.89, *p*=0,273. Таким образом, в дальнейшем возможно изучение вероятной роли этого маркера в развитии кариеса у детей с данной патологией без коррекции на его роль в формировании ВРГ, ВРН и ВРГН. Вероятно, что при рассмотрении влияния этого SNP на развитие кариеса у детей с ВПР ЧЛО не будет наблюдаться его аддитивное влияние на развитие рассматриваемой патологии и на развитие кариеса.

По данным литературы, нельзя исключить внутриутробный отбор, который может влиять на частоту аллеля *T* у больных детей. По свидетельству [27] мутантные аллели по SNP *MTHFR*, включая *C677T*, чаще представлены у спонтанно абортинированных плодов. В качестве примера снижение

действия отбора против аллеля *T* можно привести результаты исследования в Испании, которое показало, что после распространения в популяции обязательного приема фолиевой кислоты и мультивитаминов матерями до и после зачатия в стране произошел достоверный рост частоты генотипов *T/T* с 0,19 до 0,27 в течение четырех поколений, который также сопровождался ростом частоты *T/T* среди спонтанно абортинированных плодов с 0, 20 до 0,33 (*p*<0,01) [28]. По мнению авторов, полученные ими результаты свидетельствуют о большей жизнеспособности плодов на ранних стадиях эмбрионального развития (обусловленной приемом витаминов и фолиевой кислоты матерями до и после зачатия), что и приводит, в конечном итоге, к увеличению частоты мутантных генотипов в популяции.

Полученный нами вывод о роли присутствия *C677T* гена *MTHFR* в генотипе матерей с достоверно высокой предрасположенностью к рождению детей с врожденными несращениями губы и/или неба позволяет предположить важность генотипирования по SNP *C677T* гена *MTHFR* беременных женщин сразу же после зачатия или заранее при планировании беременности с целью профилактики развития ВПР ЧЛО в Краснодарском крае. В случае обнаружения генотипа *T/T* у беременной женщины следует рекомендовать на основании

данных ранее проведенных исследований специальное внимание к диете в первом триместре беременности и обязательный регулярный прием фолиевой кислоты в сочетании с мультивитаминным комплексом [29]. Доза ежедневного приема фолиевой кислоты должна составлять в первом триместре беременности – 400 мкг [19]. Однако прием фолата должен проводиться с осторожностью с тем, чтобы не превышать допустимые нормы, которые должны также регулироваться в зависимости от генотипа женщины с учетом и других вовлеченных полиморфных локусов, так как избыточное употребление фолата может иметь серьезные, иногда отдаленные последствия, как для матерей, так и для их детей [30].

Заключение

Установленные особенности распределения генотипов по C677T гена *MTHFR* у матерей по сравнению с контролем предполагают влияние данного SNP на формирование ВПР ЧЛО в Краснодарском крае. Аллель *T* выступает как аллель риска. Отсутствие ассоциаций с рассматриваемым маркером у детей с ВПР ЧЛО (ВРГ, ВРН и ВРГН) позволяет сделать вывод о его влиянии на формирование врожденных пороков только за счет генотипа матери и о возможной их профилактике.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dixon M.J., Marazita M.L., Beaty T.H., Murray J.C. Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. *Nat. Rev. Genet.* 2011; 12(3): 167-178.
2. Mangold E., Reutter H., Birnbaum S., Walier M., Mattheisen M., Henschke H., Lauster C., Schmidt G., Schiefke F., Reich R.H., Scheer M., Hemprich A., Martini M., Braumann B., Krimmel M., Opitz C., Lenz J.H., Kramer F.J., Wienker T.F., Nöthen M.M., Diaz Lacava A.. Genome-wide linkage scan of nonsyndromic orofacial clefting in 91 families of Central European origin. *American Journal of Medical Genetics. Part A.* 2009; 149A(12): 2680-2694. DOI: 10.1002/ajmg.a.33136.
3. Blanton S.H., Henry R.R., Yuan Q., Mulliken J.B., Stal S., Finnell R.H., Hecht J.T. Folate pathway and nonsyndromic cleft lip and palate. *Birth Defects Res. Part A Clin. Mol. Teratol.* 2011; 91(1): 50-60. DOI: 10.1002/bdra.20740.
4. Rai V. Strong association of C677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene with nosyndromic cleft lip/palate (nsCL/P). *Indian J Clin Biochem.* 2018; 33(1): 5-15. DOI: 10.1007/s12291-017-0673-2.
5. Shi M., Caprau D., Romitti P., Christensen K., Murray J.C. Genotype frequencies and linkage disequilibrium in the CEPH human diversity panel for variants in folate pathway genes *MTHFR*, *MTHFD*, *MTRR*, *RFC1*, and *GCP2*. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2003; 67(8): 545-549.
6. 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(4): 986-990.
7. Micheal Sh., Qamar R., Akhtar F., Khan M.I., Khan W.A., Ahmed A. *MTHFR* gene C677T and A1298C polymorphisms and

homocysteine levels in primary open angle and primary closed angle glaucoma. *Molecular Vision.* 2009; 15: 2268-2278.

8. Liewa S.C., Gupta E.D. Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European Journal of Medical Genetics.* 2015; 58(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.ejmg.2014.10.004.
9. Serapinasa D., Boreikaiteb E., Bartkeviciuteb A., Bandzeviciene R., Silkunas M., Bartkeviciene D. The importance of folate, vitamins B6 and B12 for the lowering of homocysteine concentrations for patients with recurrent pregnancy loss and *MTHFR* mutations. *Reproductive Toxicology.* 2017; 72: 159-163. DOI: 10.1016/j.reprotox.2017.07.001.
10. Kirchberg A., Treide A., Hemprich A. Investigation of caries prevalence in children with cleft lip, alveolus, and palate. *J. Cranio-maxillofac. Surg.* 2004; 32(4): 216-219.
11. Perdikogianni H., Papaioannou W., Nakou M., Oulis C., Pagiannoulis L. Periodontal and microbiological parameters in children and adolescents with cleft lip and/or palate. *Int J Paediatr Dent.* 2009; 19(6): 455-467. DOI: 10.1111/j.1365-263X.2009.01020.x.
12. Antonarakis G.S., Palaska P.K., Herzog G. Caries prevalence in non-syndromic patients with cleft lip and/or palate: a meta-analysis. *Caries Res.* 2013; 47(5): 406-413. DOI: 10.1159/000349911.
13. Weingaetner J., Fanghaenel I., Bienengracher V., Gundlach K.K. Initial findings on teratological and developmental relationships and differences between neural tube defects and facial clefting. The first experimental results. *J Craniomaxillofac Surg.* 2005; 33(5): 297-300.
14. Garg A., Utraga A., Singh S.P., Agurana K. Neural tube defects and their significance in clinical dentistry. *J Investig Clin Dent.* 2013; 4(1): 3-8. DOI: 10.1111/j.2041-1626.2012.00141.x.
15. Fang Y., Zhang R., Zhi X. Zhao L., Cao L., Wang Y., Cai C. Association of main folate metabolic pathway gene polymorphisms with neural tube defects in Han population of Northern China. *Childs Nerv Syst.* 2018; 34(4): 725-729. DOI: 10.1007/s00381-018-3730-0.
16. Wilcken B., Bamforth F., Li Z., Zhu H., Ritvanen A., Renlund M., Stoll C., Alembik Y., Dott B., Czeizel A.E., Gelman-Kohan Z., Scarrano G., Bianca S., Ettore G., Tenconi R., Bellato S., Scala I., Mutchnick O.M., López M.A., de Walle H., Hofstra R., Joutchenko L., Kavteladze L., Bermejo E., Martínez-Frías M.L., Gallagher M., Erickson J.D., Vollset S.E., Mastroiacovo P., Andria G., Botto L.D. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet.* 2003; 40(8): 619-625.
17. Wang X., Fu J., Li Q., Zeng D. Geographical and ethnic distributions of the *MTHFR* C677T, A1298C and *MTRR* A66G gene polymorphisms in Chinese populations: a meta-analysis. *PLoS One.* 2016; 11(4): e0152414. DOI:10.1371/journal.pone.0152414.
18. Bailey L.B. and Berry R.J. Folic acid supplementation and the occurrence of congenital heart defects, orofacial clefts, multiple births, and miscarriage. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81(5): 1213S-1217S.
19. Van der Linden I.J., Afman L.A., Heil S.G., Blom H.J. Genetic variation in genes of folate metabolism and neural-tube defect risk. *Proc. Nutr. Soc.* 2006; 65(2): 204-215.
20. Colson N.J., Naug H. L., Nikbakht E., Zhang P., McCormack J. The impact of *MTHFR* 677 C/T genotypes on folate status markers: a meta-analysis of folic acid intervention studies. *European Journal of Nutrition.* 2017; 56(1): 247-260. DOI: 10.1007/s00394-015-1076-x.

21. Панкова Е.Е., Зинченко Л.В., Матулевич С.А., Голубцов В.И. Полиморфизм С677Т гена MTHFR как фактор риска врожденной патологии у потомства. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009; 6(111): 144-147. [Pankova E.E., Zinchenko L.V., Matulevich S.A., Golubtsov V.I. Polymorphism C677T of gene MTHFR as the risk factor congenital pathology at posterity. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2009; 6(111): 144-147. (In Russ., English abstract)].
22. Lajin B., Alachkar A., Sakur A. Triplex tetra-primer ARMS-PCR method for the simultaneous detection of MTHFR c.677C.T and c.1298A.C, and MTRR c.66A.G polymorphisms of the folate-homocysteine metabolic pathway. *Mol. Cell Probes*. 2012; 26(1): 16-20. DOI:10.1016/j.mcp.2011.10.005.
23. Mills J.L., Molloy A.M., Parle-McDermott A., Troendle J.F., Brody L.C., Conley M.R., Cox C., Pangilinan F., Orr D.J., Earley M., McKiernan E., Lynn E.C., Doyle A., Scott J.M., Kirke P.N. Folate-related gene polymorphisms as risk factors for cleft lip and cleft palate. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2008; 82(9): 636-643. DOI:10.1002/bdra.20491.
24. Pan X., Wang P., Yin X., Liu X., Li D., Li X., Wang Y., Li H., Yu Z. Association between Maternal MTHFR polymorphisms and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in offspring, a meta-analysis based on 15 case-control studies. *Int. J. Fertil. Steril*. 2015; 8(4): 463-480.
25. Luo Y.L., Cheng Y.L., Ye P., Wang W., Gao X.H., Chen Q. Association between MTHFR polymorphisms and orofacial clefts risk: a meta-analysis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2012; 94(4): 237-244. DOI: 10.1002/bdra.23005.
26. Удина И.Г., Учаева В.С., Васильев Ю.А., Бутовская П.Р., Варapatвелян А.Ф., Плотникова Е.Ю., Курбатова О.Л., Гуленко О.В. Молекулярно-генетическое изучение ВГР челюстно-лицевой области в Краснодарском крае. *Наука Кубани*. 2011; 4: 20-27. [Udina I.G., Uchaeva V.S., Vasiliev Yu. A., Butovskaya P.R., Verapatvelyan A.F., Plotnikova E. Yu., Kurbatova O.L., Gulenko O.V. Molecular genetic analysis of congenital malformations of orofacial area in Krasnodar region. *Nauka Kubani*. 2011; 4: 20-27. (In Russ., English abstract)].
27. Callejón G., Mayor-Olea A., Jiménez A.J., Gaitán M.J., Palomares A.R., Martínez F., Ruiz M., Reyes-Engel A. Genotypes of the C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene as a cause of human spontaneous embryo loss. *Hum. Reprod*. 2007; 22(12): 3249-3254.
28. Mayor-Olea A., Callejón G., Palomares A.R., Jiménez A.J., Gaitán M.J., Rodríguez A., Ruiz M., Reyes-Engel A. Human genetic selection on the MTHFR 677C>T polymorphism. *BMC Medical Genetics*. 2008; 9: 104. DOI 10.1186/471-2350-9-104.
29. Jahanbin A., Shadkam E., Miri H.H., Shirazi A.S., Abtahi M. Maternal folic acid supplementation and the risk of oral clefts in offspring. *J. Craniofac. Surg*. 2018; May 14. DOI: 10.1097/SCS.0000000000004488. [Epub ahead of print].
30. Selhub J. and Rosenberg I.H. Excessive folic acid intake and relation to adverse health outcome. *Biochimie*. 2016; 126: 71-78. DOI: 10.1016/j.biochi.2016.04.010.

Поступила / Received 21.08.2018
Принята в печать / Accepted 28.09.2018

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Удина Ирина Геннадьевна; тел.: (499) 135-42-26, +7(903) 277-41-78; e-mail: irina_udina@mail.ru; Россия, 119991, г. Москва, ул. Губкина, д. 3.

Corresponding author: Irina G. Udina; tel.: (499) 135-42-26, +7(903) 277-41-78; e-mail: irina_udina@mail.ru; 3, Gubkin str., Moscow, Russia, 119991.

Благодарности: Работа частично поддержана грантом РФФИ № р_а 16-44-230646 и Госзаданием № 0112-2018-0025 "Молекулярные подходы к анализу адаптивных генетических и эпигенетических процессов в природных популяциях".

Acknowledgements: Work partially supported by grant No. 16-44-230646 and no. Goszadaniem r_a 0112-2018-0025 "Molecular approaches to the analysis of Adaptive genetic and epigenetic processes in natural populations".