

УДК: 618.39: 616.151.511:575.113.2

Аналіз поліморфних варіантів генів *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* та мутацій генів *FV* та *FII* згортання крові серед жінок з навиковим невиношуванням вагітності
Л.Б.Чорна, Г.В.Макух, Г.Р.Акопян, Д.В.Заставна, Н.М.Прокопчук

ДУ Інститут спадкової патології АМН України (Львів, Україна)

Проведено молекулярно-генетичне дослідження, встановлено розподіл генотипів поліморфних варіантів генів *MTHFR*, *MTR* та *MTRR* та частоту мутацій *G1691A* гена фактора V і *G20210A* гена фактора II згортання крові у 84 жінок з навиковим невиношуванням вагітності в анамнезі та у 150 жінок контрольної групи, жителів Західного регіону України. Виявлені відмінності в частотах генотипів в досліджуваних групах свідчать про вплив поліморфних варіантів *MTHFR C677T* та *MTRR A66G* на розвиток ННВ. Показано, що наявність генотипу *MTHFR 677TT* збільшує ризик ННВ майже у 3 рази. Сумарно мутації генів *FV G1691A* та *FII G20210A* згортання крові виявлено у 14,29% жінок з ННВ при 4% у контрольній групі. У гетерозигот за мутацією *FVL* ризик ННВ зростає у 3,2 рази. Отримані результати вказують на значну роль генетичних факторів тромбофілії в генезі навикового невиношування вагітності.

Ключові слова: ННВ (навикове невиношування вагітності), *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *FV*, *FII*.**Анализ полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* и мутаций генов *FV* и *FII* свертывания крови среди женщин с привычным невынашиванием беременности**

Л.Б.Чорная, Г.В.Макух, Г.Р.Акопян, Д.В.Заставна, Н.Н.Прокопчук

Проведено молекулярно-генетическое исследование, установлены распределение генотипов полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* и частота мутаций *G1691A* гена фактора V и *G20210A* гена фактора II свертывания крови у 84 женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) в анамнезе и у 150 женщин контрольной группы, жителей Западного региона Украины. Выявленные отличия в частотах генотипов исследуемых групп указывают на влияние полиморфных вариантов *MTHFR C677T* и *MTRR A66G* на развитие привычного невынашивания беременности. Показано, что наличие генотипа *MTHFR 677TT* увеличивает риск ПНБ почти в 3 раза. Суммарно мутации генов *FV G1691A* и *FII G20210A* свертывания крови выявлены у 14,29% женщин с ПНБ в сравнении с 4% в контрольной группе. У гетерозиготных носителей мутации *FVL* риск ПНБ возрастает в 3,2 раза. Полученные результаты свидетельствуют о значительной роли генетических факторов тромбофилии в генезе привычного невынашивания беременности.

Ключевые слова: ПНБ (привычное невынашивание беременности), *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *FV*, *FII*.**Analysis of *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* genetic variations and *FV* and *FII* genes mutations of coagulation factors among women with recurrent pregnancy losses**

L.B.Chorna, H.V.Makukh, H.R.Akopyan, D.V.Zastavna, N.M.Prokopchuk

There has been determined distribution of *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* genetic variations and frequency of *FV* gene (*G1691A* Leiden) and *FII* gene (*G20210*) mutations among 84 women with recurrent pregnancy losses (RPL) and 150 women of control group, inhabitants of Western Ukraine. The differences in genotypes frequency indicate influence of *MTHFR C677T* and *MTRR A66G* genetic variations on recurrent pregnancy losses development. It was shown that the presence of *MTHFR 677TT* genotype associated with three-fold risk of RPL. In sum factor V Leiden and *FII G20210A* gene mutations were detected in 14.29% women with RPL in comparison with 4% in control group. The heterozygous *FVL* genotype was associated with 3.2-fold risk of RPL. The obtained results provide evidence concerning the significant role of genetic factors of thrombophilia into RPL development.

Key words: RPL (recurrent pregnancy losses), *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *FV*, *FII*.**Вступ**

Невиношування вагітності в структурі репродуктивних втрат людини, за різними даними, складає 15–27 % від усіх вагітностей, у близько 3% жінок репродуктивного віку діагностують навикове невиношування вагітності (ННВ) (Kujovich, 2004). Домінуючим фактором внутрішньоутробного відбору є геномні мутації – близько половини спонтанних абортусів мають кількісні аномалії каріотипу. Проте у

20–40 % випадків причини невиношування залишаються не встановленими, тому пошук генетичних факторів, які можуть впливати на механізми втрати вагітності, є надзвичайно актуальним.

Метаболізм фолатів є життєво необхідним для функціонування клітини. Похідні фолієвої кислоти беруть участь у процесі реметилування гомоцистеїну до метіоніну. Останній, в свою чергу, після перетворення в S-аденозилметіонін, є в клітині головним донором метильних груп (CH₃), необхідних для синтезу та метилування ДНК, РНК, протеїнів та фосфоліпідів. Дефіцит фолієвої кислоти та вітамінів групи B, а також поліморфні варіанти генів фолатного обміну, які обумовлюють знижену активність ензимів, можуть приводити до надлишкового накопичення гомоцистеїну в крові та порушення процесів метилування в клітині (Van der Put et al., 1998).

MTHFR (метилентетрагідрофолатредуктаза) є ключовим ферментом фолатного циклу, який забезпечує перетворення фолієвої кислоти в її активну форму – 5-метилтетрагідрофолат (5-CH₃-THF). Поліморфізм C677T (p.Ala222Val) гена *MTHFR* приводить до зниження активності фермента у гомозигот за поліморфним алелем на 70%, а у гетерозигот – на 35%. У гомозигот за алелем 677T відмічається підвищення рівня гомоцистеїну в крові на 20% (Martin et al., 2006). Поліморфний варіант A1298C гена *MTHFR* (транзиція p.Glu429Ala в регуляторному домені) спричиняє зниження активності фермента MTHFR у гомозигот за поліморфним алелем до 60% у порівнянні із гомозиготами 1298AA (Castro et al., 2003). Метилування гомоцистеїну безпосередньо здійснює B₁₂-залежна метіонінсинтаза (MTR), поліморфний варіант A2756G гена *MTR* (p.Asp919Gly) також приводить до зниження функціональної активності фермента. Для відновлення функції фермента MTR необхідним є додаткове метилування за допомогою шаперона – редуктази метіонінсинтази (MTRR). Поліморфізм A66G (p.Ile22Met) гена *MTRR* в 4 рази знижує активність білка і приводить до розвитку патології, яка зумовлюється гіпергомоцистеїнемією (ГГЦ) (Hobbs et al., 2000).

Підвищення рівня гомоцистеїну є також фактором ризику розвитку тромбофілічних ускладнень, ймовірність яких підвищується під час вагітності внаслідок перебудови систем згортання, антизгортання та фібринолітичної системи організму (Undas et al., 2001). За даними різних авторів, генетичні форми тромбофілії серед причин навикового невиношування вагітності (ННВ) складають від 10 до 30% (Макацарія, Бицадзе, 2001). До найбільш частих генетичних порушень, які пов'язані з підвищеним ризиком виникнення тромбофілії, відносять мутації: гена фактора V (*FVL G1691A* або Лейденська мутація) та гена фактора II (протромбін, *FII G20210A*) згортання крові.

В механізмі згортання крові активований фактор V (фактор Va) відповідає за конверсію протромбіну в тромбін фактором Ха. Мутація гена *FV G1691A* (заміна гуаніну на аденін) в положенні 1691 екзона 10 приводить до заміни амінокислот в білковому продукті гена: Arg в положенні 506 на Gln. При такій заміні фактор V не розщеплюється природнім фізіологічним антикоагулянтном протеїном C, в результаті чого виникає резистентність фактора V, що приводить до генерації тромбіну (Millenson et al., 1996).

Мутація *FII G20210A* згортання крові виникає у 3'-некодуючому регіоні гена *FII*, тому не викликає змін у білковому ланцюгу, але ймовірно впливає на регуляцію його кількості (Poort et al., 1996). У гетерозиготних носіїв мутації виявляють на 50% вищий рівень хімічно нормального протромбіну в плазмі крові, що приводить до зростання коагуляційного потенціалу і, як наслідок, до розвитку тромбозів.

На даний час накопичено значну кількість робіт, присвячених вивченню ролі порушень фолатного обміну та гемостазу на розвиток патології мультифакторного ґенезу (Tatarsky et al., 2010; Горовенко та ін., 2010; Гречанина, Гусар, 2010). Зокрема, велика кількість робіт присвячена дослідженню впливу поліморфних варіантів генів *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* фолатного циклу та мутацій генів *FV* та *FII* згортання крові на патологію репродукції: непліддя, невиношування, формування фетоплацентарної недостатності, формування вад розвитку плоду (Kujovich, 2004; Макацарія, Бицадзе, 2001). Мутації цих генів в різних поєднаннях між собою, а також з іншими факторами можуть значно підвищувати ризик розвитку порушень плацентарного кровообігу та розвиток тромбофілічних станів. Хоча, результати таких досліджень у більшості випадків є неоднозначними (Del Bianco et al., 2004; Rey et al., 2003; Zetterberg, 2004). Суперечливість висновків може бути частково обумовлена як мультифакторним та полігенним ґенезом невиношування, етногеографічною різноманітністю, так і різними підходами до формування дослідних груп.

Метою дослідження було встановити особливості розподілу алелів та генотипів поліморфних локусів C677T та A1298C гена *MTHFR*, A2756G гена *MTR*, A66G гена *MTRR* та частоту мутацій G1691A гена фактора V та G20210A гена фактора II згортання крові серед жінок з навиковим невиношуванням вагітності в анамнезі із Західного регіону України.

Матеріали і методи дослідження

Матеріалом для проведення дослідження служили зразки ДНК 84 жінок, мешканців західноукраїнського регіону, які проходили обстеження в ДУ «Інститут спадкової патології АМНУ», Львівському міжобласному медико-генетичному центрі та Закарпатському МГЦ. У 38% жінок дослідної групи в анамнезі відзначено більше трьох мимовільних викиднів, у 68% жінок спостерігалася замирання вагітності у I триместрі. У 17% жінок спостерігалися викидні у II та III триместрі вагітності. Контрольну групу склали 150 практично здорових жінок без ускладненого генетичного та акушерського анамнезу, які мають двоє та більше здорових дітей.

Забір венозної крові та виділення ДНК проведено у 84 осіб дослідної групи та у 150 осіб контрольної групи. Проводили виділення та очистку ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом висолювання (Макух та ін., 2008). На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Використовували олігонуклеотидні праймери, ендонуклеази рестрикції та термостабільну Taq-полімеразу ("Fermentas" (Вільнюс, Литва)). Генотипування поліморфних локусів *C677T* та *A1298C* гена *MTHFR*, *A2756G* гена *MTR* та *A66G* гена *MTRR* проводили методом ПДРФ (Frosst et al., 1995; Van der Put et al., 1997, 1998; Wilson et al., 1999). Електрофорез проводили у 2,5% агарозному гелі та сканували на УФ-трансліюмінаторі. Вірогідність відмінностей оцінювали методом χ^2 та застосовували точний критерій Фішера. Оцінку відносного ризику проводили за величиною співвідношення шансів (OR).

Результати

Проведено молекулярно-генетичний аналіз поліморфних локусів *C677T* та *A1298C* гена *MTHFR*, *A2756G* гена *MTR*, *A66G* гена *MTRR* та мутацій *G1691A* гена *FV* та *G20210A* гена *FII* згортання крові серед 84 жінок з навиковим невиношуванням вагітності та 150 жінок групи контролю. Результати розподілу генотипів генів *MTHFR*, *MTR* і *MTRR* серед жінок з ННВ у порівнянні з даними контрольної групи наведено у табл. 1.

Таблиця 1.

Розподіл генотипів генів *MTHFR*, *MTR* і *MTRR* серед жінок з навиковим невиношуванням вагітності

Локус	Генотип	Жінки з ННВ (n=84)		Контроль (n=150)		P	OR (CI – 95%)
		n	%	n	%		
<i>MTHFR C677T</i>	<i>C/C</i>	40	48	82	54	P>0,05	1,00
	<i>C/T</i>	32	38	60	41	P>0,05	0,92 (0,53–1,60)
	<i>T/T</i>	12	14	8	5	P<0,05 *	2,94 (1,16–7,56)
	<i>C/T+T/T</i>	44	52	68	46	P>0,05	1,33 (0,78–2,27)
<i>MTHFR A1298C</i>	<i>A/A</i>	38	45	64	43	P>0,05	1,00
	<i>A/C</i>	32	38	67	45	P>0,05	0,76 (0,44–1,31)
	<i>C/C</i>	14	17	19	12	P>0,05	1,38 (0,65–2,91)
	<i>A/C+C/C</i>	46	55	86	57	P>0,05	0,90 (0,52–1,54)
<i>MTR A2756G</i>	<i>A/A</i>	50	60	64	43	P<0,05*	1,00
	<i>A/G</i>	28	33	58	39	P>0,05	0,8 (0,45–1,39)
	<i>G/G</i>	6	7	28	18	P<0,05*	0,33 (0,13–0,85)
	<i>A/G+G/G</i>	34	40	86	57	P<0,05*	0,51 (0,29–0,87)
<i>MTRR A66G</i>	<i>A/A</i>	8	10	38	26	P<0,05*	1,00
	<i>A/G</i>	42	50	56	37	P>0,05	1,68 (0,98–2,88)
	<i>G/G</i>	34	40	56	37	P>0,05	1,14 (0,66–1,97)
	<i>A/G+G/G</i>	76	90	112	74	P<0,05*	3,22 (1,42–7,29)

Примітка: *P<0,05 – статистично вірогідна відмінність.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що гомозиготи за мутантним алелем 677T гена *MTHFR* майже у три рази частіше зустрічалися у групі жінок з ННВ, ніж у групі контролю: 14% проти 5%. Частоти алеля 677T гена *MTHFR* у групі жінок з ННВ та у контрольній групі були 0,33 та 0,25 відповідно.

Для поліморфного варіанту A1298C гена *MTHFR* розподіл генотипів у групі жінок з ННВ суттєво не відрізнявся від розподілу генотипів у контрольній групі, проте мутантний генотип 1298CC зустрічався частіше (17%) у дослідній групі, ніж у групі контролю (12%). Розподіл алелів у дослідній групі не відрізнявся від розподілу у контрольній групі і був наступним: С-алель – 0,36 та 0,35 відповідно.

Аналіз розподілу генотипів поліморфного локусу A2756G гена *MTR* показав, що мутантний генотип 2756GG статистично вірогідно частіше зустрічався у контрольній групі жінок, ніж у групі жінок з ННВ.

При аналізі розподілу генотипів поліморфного локусу A66G гена *MTRR* встановлено, що нормальний генотип 66AA зустрічався статистично вірогідно частіше (26%) у групі контролю, ніж у групі жінок з ННВ (10%). Встановлено вищу частоту генотипів 66AG та 66GG у дослідній групі жінок в порівнянні з контрольною групою: 50% до 37% та 40% до 37% відповідно. Проте відмінності щодо розподілу даних генотипів у досліджуваних групах не були статистично вірогідними. Розподіл алелів у групі жінок з ННВ відрізнявся від розподілу у контрольній групі: G-алель – 0,65 та 0,56 відповідно.

Наступним етапом роботи було встановити частоту мутацій *FV G1691A* та *FII G20210A* згортання крові серед жінок з ННВ. Для ідентифікації мутацій *G1691A* гена *FV* та *G20210A* гена *FII* використовували власний розроблений метод, який дозволяє при проведенні однієї ПЛР та детекції на одній електрофоретичній доріжці аналізувати одночасно дві мутації. Результати молекулярно-генетичного дослідження представлено у табл. 2.

Таблиця 2.

Частота генотипів та алелів варіантів генів *FV G1691A* та *FII G20210A* серед жінок з навиковим невиношуванням вагітності

Генотип	Жінки з ННВ (n=84)		Контроль (n=150)	
	n	%	n	%
<i>FV 1691 GG</i>	74	88,09	144	96,0
<i>FV 1691 GA</i>	10	11,91	6	4,0
<i>FV 1691AA</i>	0	0	0	0
<i>FV 1691A[†]</i>	0,059		0,020	
<i>FII 20210 GG</i>	82	97,62	150	100
<i>FII 20210 GA</i>	2	2,38	0	0
<i>FII 20210AA</i>	0	0	0	0
<i>FII 20210A[†]</i>	0,012		0	

Примітка: [†] – частота мутантного алеля.

Мутацію *FV G1691A* в гетерозиготному стані виявлено у 10 жінок з ННВ, що становило 11,91%, у порівнянні з контрольною групою жінок – 4,0%. Мутацію *FII G20210A* гена фактора II згортання крові виявлено у двох жінок з ННВ, що становило 2,38%, при її відсутності у контрольній групі.

Сумарно мутації *FV G1691A* та *FII G20210A* згортання крові виявлено у 14,29% жінок з ННВ при 4,0% у контрольній групі. Результати статистичних обрахунків показали, що дана відмінність є статистично вірогідною ($P < 0,05$).

Обговорення

За результатами генетичного тестування встановлено розподіл генотипів поліморфних локусів генів *MTHFR*, *MTR* і *MTRR* серед жінок з навиковим невиношуванням вагітності в анамнезі у порівнянні з контрольною групою жінок (табл. 1). Статистично вірогідних відмінностей частот генотипів в досліджуваних групах від співвідношення Харді–Вайнберга не виявлено. Зважаючи на обмеженість даних щодо характеру взаємодії алелів досліджуваних поліморфних локусів, ми вважали за доцільне

проведення статистичного обрахунку відносного ризику (OR) за рецесивною та доміантною моделями (табл. 1).

Використовуючи генотип *677CC* як референсний, ми показали, що наявність гомозиготного генотипу *677TT* гена *MTHFR* статистично вірогідно збільшує ризик навикового невиношування вагітності майже у 3 рази (OR=2,94, CI – 95%: 1,16–7,56, P<0,05). Значно нижчі показники отримано щодо ризику ННВ у жінок з генотипом *1298CC* гена *MTHFR* (OR=1,38, CI – 95%: 0,65 – 2,91, P>0,05).

Оскільки, як зазначалось вище, активність ферменту *MTHFR* знижується як при наявності гомозиготного генотипу *677TT*, так і у випадку гетерозиготного генотипу *677CT*, то сумарно кількість жінок з ННВ, носіїв таких генотипів в нашому дослідженні становила 52%. У дослідженні А.Д.Макацарія (2001) несприятливі алельні варіанти гена *MTHFR* і супроводжуюча гіпергомоцистеїнемія були виявлені у 45% обстежених жінок із навиковою втратою вагітності (Макацарія, Бицадзе, 2001).

Аналіз поліморфного локусу *A2756G* гена *MTR* показав, що мутантний генотип *2756GG* статистично вірогідно частіше зустрічався у контрольній групі жінок, ніж у групі жінок з ННВ. Отримані результати можуть свідчити, що даний поліморфний варіант не чинить значного впливу на розвиток ННВ, а, можливо, й має протекторну роль.

Аналіз розподілу генотипів поліморфного локусу *A66G* гена *MTRR* та подальший обрахунок відношення шансів за рецесивною та доміантною моделями свідчить про вірогідний вплив даного поліморфізму на виникнення ННВ при його наявності як у гомо-, так і в гетерозиготному стані. Так, гетерозиготний генотип *MTRR 66AG* може збільшувати ризик ННВ майже у 1,7 рази (OR=1,68, CI – 95%: 0,98–2,88, P>0,05) у порівнянні з генотипом *66AA*. Використовуючи доміантну модель обрахунку відношення шансів, ми показали статистично вірогідне зростання ризику навикового невиношування у 3,2 рази (OR=3,22, CI – 95%: 1,42–7,29, P<0,05).

Отримані результати підтверджують дані попередніх досліджень, проведених в цій області, які свідчать на користь впливу поліморфних варіантів *MTHFR C677T* і *MTRR A66G* на розвиток ННВ (Kumar et al., 2003).

Результати молекулярно-генетичного дослідження показали високий відсоток гетерозиготних носіїв мутації *FV G1691A* у групі жінок з ННВ (11,9%) у порівнянні з контрольною групою (4,0%). Слід зазначити, що у носіїв мутації *FV G1691A* репродукційні втрати спостерігалися на ранніх етапах вагітності (I триместр): мимовільні викидні та замирання вагітності до 14 тижнів. Обрахунок співвідношення шансів показав, що при наявності однієї копії мутантного алеля *FV 1691A* ризик невиношування вагітності статистично вірогідно зростає у 3,2 рази (OR=3,24, CI – 95%: 1,13–9,27, P<0,05). У нашому дослідженні не було виявлено гомозигот за мутацією *FV G1691A* ні в дослідній, ні в контрольній групах. Лейденська мутація *FV* згортання крові успадковується аутосомно-доміантно, і частота гомозигот в популяціях є досить низькою, за окремими даними вона становить приблизно 0,02% (Spector et al., 2005). Отримані результати корелюють з літературними даними, згідно з якими мутація *FVL* є одним з факторів ризику повторних викиднів і збільшує їх ризик у 2–3 рази (Brenner, 1999). Проте окремі повідомлення вказують на збільшення частоти мутації *FVL* у жінок з ідіопатичним навиковим невиношуванням вагітності до 30% у порівнянні з 1–10 % в контрольній групі (OR від 2 до 5) (Brenner, 2004).

Значно рідше, тільки у двох жінок з ННВ (2,38%), виявлено мутацію *G20210A* гена фактора II згортання крові. В анамнезі обох пацієнток спостерігалися по дві замерлі вагітності I триместру та в одному з випадків – анембріонія. У контрольній групі жінок мутацію *FII G20210A* не було виявлено, що може вказувати на її низьку розповсюдженість. У дослідженні В.М.Запорожан з співав. мутацію гена протромбіну *G20210A* виявлено у 4,2% пацієнтів із репродуктивними втратами при ранніх викиднях (Запорожан, Лінніков, 2006).

Висновки

1. Частота гомозиготного генотипу *677TT* гена *MTHFR* була статистично вірогідно вищою у групі жінок з ННВ у порівнянні з контрольною групою. Показано, що наявність генотипу *MTHFR 677TT* збільшує ризик ННВ у 3 рази.

2. Аналіз розподілу генотипів поліморфного локусу *A1298C* гена *MTHFR* у групі жінок з ННВ суттєво не відрізнявся від розподілу генотипів у контрольній групі.

3. Гомозиготний генотип *2756GG* гена *MTR* зустрічався статистично вірогідно частіше у контрольній групі жінок, ніж у групі жінок з ННВ.

4. Виявлено вірогідний вплив поліморфного варіанту *A66G* гена *MTRR* на виникнення ННВ при його наявності як у гомо-, так і в гетерозиготному стані.

5. Мутація *FV G1691A* зустрічалася статистично вірогідно частіше у групі жінок з ННВ, ніж у групі контролю. Мутацію *FII G20210A* виявлено у 2,38% жінок з ННВ, при її відсутності у контрольній групі жінок. Сумарно мутації *FV G1691A* та *FII G20210A* згортання крові виявлено у 14,29% жінок з ННВ при 4% у контрольній групі, що свідчить про значний внесок генетичних факторів тромбофілії в генез навикового невиношування вагітності.

Список літератури

- Горовенко Н.Г., Ольхович Н.В., Россоха З.І. та ін. Вплив поліморфізму С677Т гена МТНFR на фолатний статус та рівень гомоцистеїну в сироватці крові у дітей з когнітивними розладами // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: Зб. наук. праць. – 2010. – Т.19. – С. 61–70. /Gorovenko N.G., Ol'khovich N.V., Rossoha Z.I. ta in. Vplyv polimorfizmu C677T gena MTHFR na folatnyy status ta riven' gomotsysteinu v syrovattsi krovi u ditey z kognityvnymy rozladamy // Aktual'ni problemy akusherstva i ginekologii, klinichnoi imunologii ta medychnoi genetyky: Zb. nauk. prats'. – 2010. – Т.19. – С. 61–70./
- Гречанина Е.Я., Гусар В.А. Распространенность полиморфизмов С677Т МТНFR и А66G МТRR генів системи фолатного цикла в популяції Восточной Украины // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: Зб. наук. праць. – 2010. – Т.19. – С. 91–98. /Grechanina Ye.Ya., Gusar V.A. Rasprostranennost' polimorfizmov C677T MTHFR i A66G MTRR genov sistemy folatnogo tsikla v populyatsii Vostochnoy Ukrainy // Aktual'ni problemy akusherstva i ginekologii, klinichnoi imunologii ta medychnoi genetyky: Zb. nauk. prats'. – 2010. – Т.19. – С. 91–98./
- Запорожан В.М., Лінніков В.І. Набуті та генетичні форми тромбофілій в патогенезі акушерської патології // Інтегративна антропологія. – 2006. – Т.8, №2. – С. 3–7. /Zaporozhan V.M., Linnikov V.I. Nabuti ta genetychni formy trombofilii v patogenezi akushers'koi patologii // Integratyвна antropologiya. – 2006. – Т.8, №2. – С. 3–7./
- Макацарія А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике (клинические, молекулярные и генетические аспекты). – М., 2001. – С. 247–256. /Makatsariya A.D., Bitsadze V.O. Trombofilicheskiye sostoyaniya v akusherskoi praktike (klinicheskkiye, molekulyarnyye i geneticheskkiye aspekty). – M., 2001. – С. 247–256./
- Макух Г.В., Заставна Д.В., Тиркус М.Я. та ін. Спосіб виділення ДНК з лейкоцитів периферійної крові. Пат. 32044 UA, МПК G01N33/49 (2006.01). Заявник ДУ «Інститут спадкової патології АМНУ». №u200801896. Заявл. 14.02.2008. Опубл. 25.04.2008, Бюл.№8. /Makukh G.V., Zastavna D.V., Tyrkus M.Ya. ta in. Sposib vydilennya DNK z leykotsytiv peryferiynoi krovi. Pat. 32044 UA, MPK G01N33/49 (2006.01). Zayavnik DU «Instytut spadkovoї patologii AMNU». №u200801896. Zayavl. 14.02.2008. Opubl. 25.04.2008, Byul.№8./
- Brenner B. Clinical management of thrombophilia-related placental vascular complications // Blood. – 2004. – Vol.103. – P. 4003–4009.
- Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss // Thromb. Haemost. – 1999. – Vol.82, №2. – P. 634–641.
- Castro R., Rivera I., Ravasco P. et al. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase 677C/T and 1298A/C mutations are genetic determinants of elevated homocysteine // QJM. – 2003. – Vol.96. – P. 297–303.
- Del Bianco A., Maruotti G., Fulgieri A.M. et al. Recurrent spontaneous miscarriages and hyperhomocysteinemia // Minerva Ginecol. – 2004. – Vol.56. – P. 379–383.
- Frosst P., Bloom H.J., Milos R. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // Nat. Genet. – 1995. – Vol.10. – P. 111–113.
- Hobbs C.A., Sherman S.L., Hopkins S.E. et al. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome // Hum. Gene. – 2000. – Vol.67. – P. 623–630.
- Kujovich J.L. Thrombophilia and pregnancy complications // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2004. – Vol.191. – P. 412–424.
- Kumar K.S., Govindaiah V., Naushad S.E. 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. – Vol.23. – P. 55–58.
- Martin Y.N., Salavaggione O.E., Eckloff B.W. et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase pharmacogenomics: gene resequencing and functional genomics // Pharmacogenet. Genomics. – 2006. – Vol.16. – P. 265–277.
- Millenson M.M., Bauer K.A., Hull R. et al. Pathogenesis of venous thromboembolism // Disorders of Thrombosis. – Philadelphia, 1996. – P. 175–190.
- Poort S., Rosendaal F., Reitsma P. et al. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // Blood. – 1996. – Vol. 10. – P. 3698–3703.
- Rey E., Kahn S.R., David M. et al. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis // Lancet. – 2003. – Vol.361. – P. 901–908.
- Spector E.B., Grody W.W., Matteson C.J. et al. Technical standards and guidelines: venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin 20210G–A testing): a disease-specific supplement to

the standards and guidelines for clinical genetics laboratories // *Genet. Med.* – 2005. – Vol.7, №6. – P. 444–453.

Tatarsky P.F., Kucherenko A.M., Kravchenko S.A. et al. Ischemic stroke in Ukrainian population: possible involvement of the F2 20210A, F5 G1691A and MTHFR C677T gene variants // *Biopolymers and Cell.* – 2010. – Vol.26, № 4. – P. 299–305.

Undas A., Williams E.B., Butenas S. et al. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol.276. – P. 4389–4397.

Van der Put N.M., Gabreels F., Stevens E.M. et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural tube defects? // *Am. J. Hum. Genet.* – 1998. – Vol.62. – P. 1044–1051.

Van der Put N.M., Vandermolene F., Kluijtmansl A. Sequence analysis of the coding region of human methionine synthase: relevance to hyperhomocysteinaemia in neural-tube defects and vascular disease // *Q. J. Med.* – 1997. – Vol.90. – P. 511–517.

Wilson A., Platt R., Wu Q. et al. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida // *Mol. Genet. Metab.* – 1999. – Vol.67. – P. 317–323.

Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphisms in human spontaneous abortion: biological and clinical implications // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2004. – Vol.2. – P.7.

Представлено: Я.І.Черник / Presented by: Ya.I.Chernyk

Рецензент: Н.В.Багацька / Reviewer: N.V.Bagatskaya

Подано до редакції / Received: 17.01.2011