

УДК: 616.1 + 618]: 575.191

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА И БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

И.Н. ФЕТИСОВА, А.С. ДОБРЮЛОВ, М.А. ЛИПИН, А.В.ПОЛЯКОВ

Настоящая работа является обзором литературы, посвященной изучению одной из групп генетических маркеров мультифакториальных заболеваний – генов фолатного обмена: 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы (MTHFR), метионин-синтазы (MTR), метионин-синтазы-редуктазы (MTRR). В работе представлены данные о роли полиморфных вариантов указанных генов в генезе различных патологических состояний, в том числе нарушения репродуктивной функции в супружеской паре.

Фолатный цикл представляет собой сложный каскадный процесс, контролируемый ферментами, которые в качестве коферментов имеют производные фолиевой кислоты. Эта кислота является сложной молекулой, состоящей из птероидной кислоты и одного (моноголутаматы) или нескольких (полиглутаматы) остатков глутаминовой кислоты. Пища, особенно свежая зелень, печень, дрожжи и ряд фруктов содержат восстановленные полиглутаматы, которые должны быть гидролизованы с помощью фермента птероилполиглутамат-гидролазы до моноголутамата, чтобы они могли быть абсорбированы в проксимальном отделе тонкого кишечника. После всасывания фолат-моноголутамат восстанавливается до тетрагидрофолата (ТНФ) – соединения, обладающего биологической активностью. Далее идет процесс метилирования фолатов, после чего они поступают в кровь в виде 5-метилтетрагидрофолата (5-СН<sub>3</sub>-ТНФ). Внутри клетки 5-метилтетрагидрофолат служит донором метильных групп и основным источником тетрагидрофолата. Последний выступает в качестве акцептора большого числа моноуглеродных фрагментов, превращаясь в разные виды фолатов (5,10-метилентетрагидрофолат – 5,10-СН<sub>2</sub>-ТНФ; 5,10-метенилтетрагидрофолат – 5,10-СН-ТНФ; 10-формилтетрагидрофолат – 10-СНО-ТНФ), служащих в свою очередь специфическими коферментами в целом ряде внутриклеточных реакций, в частности, при синтезе пуринов и пиримидинового основания тимина. Одной из реакций, требующих наличия 5,10-метилентетрагидрофолата и 5-метилтетрагидрофолата, является синтез метионина из гомоцистеина (путь реметилирования в обмене гомоцистеина). Реметилирование гомоцистеина в метионин катализирует цитоплазматический фермент метионин-синтаза (MTR). Для работы фермента необходим метилкобаламин, производное витамина В<sub>12</sub>. Метионин-синтаза обеспечивает преобразование гомоцистеина в метионин посредством реакции, в которой метилкобаламин выступает в роли промежуточного переносчика метильной группы. При этом происходит окисление кобаламина, и фермент MTR переходит в неактивное состояние. Восстановление функции фермента возможно в ходе реакции метилирования при участии фермента метионин-синтазы-редуктазы (MTRR). Донором метильной группы является активированная форма метионина – S-аденозилметионин, которая используется также для метилирования других соединений: ДНК, РНК, белков и фосфолипидов. Ключевую роль в синтезе метионина из гомоцистеина играет фермент 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR), который восстанавливает 5,10-метилентетрагидрофолат до 5-метилтетрагидрофолата, несущего на себе метильную группу, необходимую для реметилирования гомоцистеина.

Существуют еще два пути реметилирования гомоцистеина: в печени – при участии бетаина в качестве донора метильной группы и фермента гомоцистеинметилтрансферазы; а также путем превращения в цистеин через промежуточный продукт цистатион при участии фермента цистатион-бета-синтазы, коферментом которой является витамин В<sub>6</sub> [6].

**Патофизиологическое действие гомоцистеина.** Гомоцистеин обладает выраженным токсическим действием, механизм которого определяется несколькими биохимическими

каналами и связан с нарушением эндотелиальной функции. Повышение уровня гомоцистеина в крови имеет выраженный атерогенный и тромбофилический эффект.

В плазме крови гомоцистеин является источником продукции гомоцистина, смеси дисульфидов и тиолактона гомоцистеина. Данные соединения способствуют повреждению эндотелия, что приводит к обнажению субэндотелиального матрикса и гладкомышечных клеток. Тиолактон гомоцистеина, соединяясь с липопротеинами низкой плотности, захватывается близлежащими макрофагами, которые объединяются в так называемые «пенистые клетки» внутри зарождающейся атеромной бляшки. Кроме того, гомоцистеин является сильным мутагеном для гладкомышечных клеток и специфически участвует в развитии атеросклероза благодаря усиленной пролиферации гладкомышечных клеток.

Избыток гомоцистеина способствует активации XII и V факторов, а также экспрессии тканевого фактора; при этом нарушается высвобождение естественных ингибиторов коагуляции и антиагрегантов – протеина С, ингибитора внешнего пути свертывания крови; снижается гликозаминогликанзависимая активация антитромбина III, подавляется активность тромбомодулина. Наряду с этим, наблюдается повышенная агрегация тромбоцитов вследствие снижения синтеза эндотелием релаксирующего фактора и NO, а также усиленного высвобождения поврежденными эндотелиоцитами фактора Виллебранда. Снижение синтеза эндотелиальной окиси азота обусловлено уменьшением экспрессии синтазы азота за счет действия продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), инициируемого гомоцистеином. Обозначенные атерогенные и тромбофилические эффекты в совокупности определяют хроническую эндотелиальную дисфункцию при гипергомоцистеинемии [1, 3].

**Частота встречаемости и причины гипергомоцистеинемии.** Частота выявления гипергомоцистеинемии в общей популяции составляет 5%; этот показатель существенно увеличивается среди пациентов с различной патологией. Причины, ведущие к нарушению метаболизма гомоцистеина и развитию гипергомоцистеинемии, очень разнообразны. Определенное значение отводится пищевым факторам – алиментарному дефициту фолиевой кислоты, витаминов B12 и B6. По данным литературы, до 2/3 всех случаев гипергомоцистеинемии связано с недостатком одного или более вышеназванных витаминов [25]. Снижение концентрации указанных кофакторов ферментов метаболизма гомоцистеина может быть обусловлено приемом ряда лекарственных препаратов: цитостатиков (метотрексата), противосудорожных средств (фенитоина и карбамазепина), метилксантинов (теофиллин) и эстрогенсодержащих оральных контрацептивов. Уровень содержания в крови гомоцистеина зависит от пола и возраста: он выше у мужчин и лиц старших возрастных групп. Гипергомоцистеинемия может быть обусловлена наличием ряда приобретенных и мультифакториальных заболеваний: хронической почечной недостаточности, анемии, карциномы молочной железы, яичников и поджелудочной железы, гипотиреоза, псориаза [15]. Дефекты обмена гомоцистеина могут быть наследственно обусловлены. Врожденная гомоцистинурия в сочетании с гипергомоцистеинемией, встречающаяся в 1 случае на 100000 живых новорожденных, развивается у гомозигот из-за недостаточности цистатион-бета-синтазы. Клиническая картина этой ферментопатии характеризуется наличием деформаций скелета, аномалий развития глаз, в 50% случаев – умственной отсталостью. У больных имеется ранний атеросклероз, ведущий к развитию ишемической болезни сердца и/или острому нарушению мозгового кровообращения [22].

На сегодняшний день показана возможность возникновения гипергомоцистеинемии и связанных с ней патологических состояний в результате нарушения функции ферментов, участвующих в фолатном обмене – MTHFR, MTRR, MTR.

**Строение и полиморфизмы генов фолатного цикла.** Ключевым ферментом фолатного цикла является MTHFR [MIM 236250], которая переводит фолиевую кислоту в ее активную форму 5-метилтетрагидрофолат. Фермент MTHFR относится к группе флавопротеинов и состоит из двух одинаковых субъединиц с молекулярной массой около 70 кДа. Ген MTHFR локализуется на коротком плече хромосомы 1 (1p36.3) и состоит из 11 экзонов (рис. 1) [24]. Длина всего кодирующего региона составляет около 1980 пар нуклеоти-

дов. Существует ряд аллельных вариантов этого гена, вызывающих тяжелую недостаточность фермента, но большинство из этих вариантов редки. Практическое значение имеют два полиморфизма: С677Т в экзоне 4 и А1298С в экзоне 7.

Миссенс-мутация С677Т, связанная с замещением цитозина на тимин в положении 677, вызывает замену аланина на валин (р.Аla222Val) в каталитическом домене белка фермента. У гомозигот по полиморфному аллелю активность фермента *in vitro* снижена на 70%, а у гетерозигот – на 35% [26]. Мутантный аллель 677Т распределен в популяциях с высокой гетерогенностью. Его частота среди европейцев варьируется от 0,19 (у жителей Великобритании) до 0,55 (у испанцев). В азиатских популяциях мутантный аллель распределяется с частотой от 0,02 (у индонезийцев) до 0,38 (у китайцев); на африканском континенте – от полного отсутствия у представителей племени денди до 0,09 у народности берба. В Новом Свете аллель встречается с частотой от 0,11 (у афроамериканцев Южной Каролины) до 0,45 (у индейцев Бразилии) [8, 9]. В России у жителей московского региона частота встречаемости аллеля 677Т составляет 0,29 [5], у жителей Сибири – 0,32.

Вторым распространенным полиморфизмом в этом гене является транзиция А1298С, приводящая к замене глутаминовой кислоты на аланин в регуляторном домене фермента (р.Glu429Ala). Аллель 1298С также снижает активность фермента, хотя и не так значительно, как аллель 677Т. Индивидуумы, являющиеся компаунд-гетерозиготами по аллелям 677Т и 1298С (генотип 677СТ/1298АС), согласно некоторым исследованиям, имеют снижение активности фермента на 40–50% и биохимический профиль, схожий с профилем гомозиготных носителей аллеля 677Т [26]. Фермент МТRР [МIM 602568] участвует в восстановлении активности МТR [МIM 156570] – фермента, непосредственно осуществляющего метилирование гомоцистеина. Белок МТRР относится к группе флавопротеинов. Он состоит из 698 аминокислот и имеет молекулярную массу 77,7 кДа. Ген МТRР картирован на хромосоме 5 в локусе 5p15.3-p.15.2 [20]. В этом гене описаны разные типы мутаций и ряд полиморфных вариантов. Полиморфизм А66G (р.Ile22Met) в 4 раза снижает активность фермента МТRР. Этот полиморфизм очень распространен в популяции, частота гетерозиготных носителей аллеля 66G составляет около 45,0–50,0%, а гомозиготных ~25,0% [17]. Полиморфные варианты генов МТНFR и МТRР, обуславливая различную функциональную значимость белковых продуктов, влияют на широкий спектр биохимических преобразований в ходе фолатного цикла, и, по мнению ряда авторов, могут рассматриваться как фактор риска развития некоторых заболеваний. Однако роль их в этиопатогенезе различной патологии окончательно не установлена [27].

Много исследований посвящено взаимосвязи полиморфизма С667Т гена МТНFR с риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Ряд авторов гипергомоцистеинемию, вызванную рассматриваемой мутацией, относят к независимым факторам риска для коронарного атеросклероза [11, 13]. В то же время, по мнению некоторых исследователей, незначительный рост уровня плазменного гомоцистеина, часто встречающееся при ССЗ, не связано с патогенезом данной патологии.

Описана взаимосвязь полиморфизма С667Т с венозными и артериальными тромбозами, риск развития которых особенно возрастает у гомозигот по мутантному аллелю [12, 19]. Есть данные об ассоциации аллеля 677Т с церебральным инфарктом и приступами ишемии [21]. Противоположный эффект взаимодействия уровня гомоцистеина в плазме и мутации в гене МТНFR наблюдали у лиц, имеющих определенную геометрию сонной артерии. Гомозиготное состояние по мутантному аллелю было негативно связано с внутренним диаметром сосуда. Есть данные, что генотип МТНFR 677 Т/Т в сочетании с низким уровнем фолата может выступать, как потенциальный фактор риска развития состояний, связанных со снижением метилирования ДНК, в частности, неопластических процессов. В то же время генотип МТНFR 1298 С/С влияет на процессы метилирования вне зависимости от сопутствующего снижения фолата [24]. Особый интерес представляет вопрос о причастности низкофункциональных аллелей генов фолатного обмена к патологии репродукции: бесплодию, невынашиванию беременности [2, 27] формированию фетоплацен-

тарной недостаточности и гестозов [4–5, 7], задержке развития и формированию пороков развития плода. Среди целого спектра механизмов нарушения фертильности можно обозначить эффекты гипергомоцистеинемии и нарушения процессов метилирования ДНК в соматических и половых клетках. Эндотелиальная дисфункция, наблюдаемая при гипергомоцистеинемии, сопровождаемая развитием атероза сосудов, десинхронизацией процессов фибринолиза и фибринообразования, вазоконстрикцией, возможно, способствует нарушению nidации плодного яйца, инвазии трофобласта и плацентации и ведет к развитию акушерской патологии. Надо отметить противоречивость результатов исследования, полученных авторами в разных популяциях [2,]. В двух работах, посвященных изучению полиморфизма генов фолатного обмена при мужском бесплодии, причастность полиморфизма 677Т гена МТНFR к развитию необструктивной олиго- и азооспермии была определена лишь в индийской популяции. По мнению же итальянских авторов, аллель 677Т не является фактором риска мужского бесплодия.

Неоднозначны и результаты работ, посвященные влиянию полиморфизмов МТНFR С677Т и МТRR А66G на развитие привычного невынашивания беременности (ПНБ) [2]. Одной из главных причин ПНБ первого триместра является наличие геномных мутаций у плода, возникновение которых в большинстве случаев обусловлено нерасхождением хромосом в гаметогенезе у родителей. В литературе высказывается предположение, что наличие низкофункциональных аллелей генов фолатного обмена вследствие изменения профиля метилирования ДНК в клетке может приводить к нарушению расхождения хромосом в процессе формирования гамет и возникновению поли- и анеуплоидии у плода. Дефицит метильных групп в быстро делящихся клетках эмбриона приводит к повышенному включению уридилотида вместо тимидилового в синтезируемую цепь ДНК. В результате образуется аномально легко фрагментируемая ДНК, синтез ее резко замедляется. Это ведет к нарушению клеточного цикла быстро делящихся клеток плода, и, возможно, способствует запуску механизмов апоптоза [10]. В работах, выполненных на абортивном материале, было показано значительное повышение риска ПНБ (в 14 раз) при наличии у эмбриона аллелей гена МТНFR 677Т и/или 1298С в гомо- или гетерозиготном состоянии [18, 27]. Т.С. Бескоровайной (2005) определены частоты аллелей генов фолатного обмена в супружеских парах с ПНБ в московской популяции. Показано влияние полиморфных вариантов МТНFR 677Т и МТRR 66G на развитие самопроизвольного прерывания беременности, причем, по мнению автора, наибольший негативный эффект дает сочетание низкофункциональных аллелей в нескольких генах фолатного обмена, а также накопление их в паре [2]. Однако результаты многочисленных исследований других авторов не подтверждают причастность полиморфизма 677Т гена МТНFR к самопроизвольному прерыванию беременности. Противоречивость выводов может быть отчасти обусловлена как объективными причинами (мультифакториальный генез невынашивания, этногеографическое разнообразие генофондов популяций), так и субъективными (различные критерии при отборе обследуемых лиц).

Большое число исследований посвящено взаимосвязи полиморфизма генов фолатного обмена с пороками развития плода, в частности, с дефектами нервной трубки (анэнцефалия, spina bifida), а также незаращением верхней губы и неба. Негативное влияние на гисто- и органогенез мутантных вариантов генов фолатного обмена может быть связано как с прямым эмбриотоксическим действием гомоцистеина, так и с нарушением процессов пролиферации и дифференцировки клеток вследствие дефицита метильных групп. Снижение метилирования в клетке, связанное с недостаточной активностью ферментов фолатного обмена или с дефицитом метильных групп, ведет к изменению профиля метилирования центромерных районов хромосом, нарушению расхождения хромосом в оогенезе и повышает риск рождения ребенка с синдромом Дауна (трисомия по хромосоме 21) [17, 23]. Изменение профиля метилирования ДНК ассоциировано и с нарушением расхождения хромосомы 18. Для других аутосом (хромосомы 2, 7, 10) и половых хромосом такой ассоциации не показано [16].

## Литература

1. Баймурадова С.М. и др. // Акушерство и гинекология.– 2004.– №2.– С. 21–27.
2. Бескоровайная Т.С. Влияние некоторых генетических факторов на нарушение репродукции у человека: Дис...канд. мед. наук.– Москва, 2005.– 89 с.
3. Джанджгава Ж.Г., Бицадзе В.О. // Проблемы репродукции.– 2005.– №5.– С. 41–43.
4. Зайнулина М.С. К вопросу о механизмах развития тромбофилии при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты и гестозе // Мат-лы VII Рос. форума «Мать и дитя».– М., 2005.– 74 с.
5. Калашиникова Е. А., Кокаровцева С. Н. // Мед/ генетика.– 2005.– №8.– С. 386–391
6. Мари Р. и др. Биохимия человека.– Т. 1.– М.: Мир, 1993.– С. 303–305.
7. Михайлин Е.С. // Медицинская генетика.– 2005.– №5 (2).– С. 230.
8. Спиридонова М.Г. и др. // Генетика.– 2004.– Т. 40, №5.– С. 704–708.
9. Botto L.D., Yang Q. // Am. J. Epidemiol.– 2000.– Vol. 151.– P. 862–877.
10. Fell D., Selhub J. // Biochim. Biophys. Acta.– 1990.– Vol. 1033.– P. 80–84.
11. Fletcher O.; Kessler A.M. // Hum. Genet.– 1998.– Vol. 103.– P. 11–21.
12. Franchis R. et al. // Am. J. Hum. Genet.– 1996.– Vol. 59.– P. 262–264.
13. Gardemann A. et al. // Eur. Heart J.– 1999.– Vol. 20.– P. 584–592.
14. Goyette P. et al. // Mamm. Genome.– 1998.– Vol. 9.– P. 652–656.
15. Hankey G. J., Eikelboom J. W. H // Lancet.– 1999.– Vol. 354.– P. 407–413.
16. Hassold T.J. et al. // Am. J. Hum. Genet.– 2001.– Vol. 69.– P. 434–439.
17. Hobbs C.A. et al. // Am. J. Hum. Genet.– 2000.– Vol. 67.– P. 623–630.
18. Isotalo P.A. et al. // Am. J. Hum. Genet.– 2000.– Vol. 67.– P. 986–990.
19. Keijzer M. B. et al. // Thromb. Hemost.– 2002.– Vol. 88.– P. 723–728.
20. Leclerc D. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci.– 1998.– Vol. 95.– P. 3059–3064.
21. Morita H. et al. // Circulation.– 1997.– Vol. 95.– P. 2032–2036.
22. Mudd S.H. et al. // Am. J. Hum. Genet.– 1985.– Vol. 37.– P. 1–31.
23. O'Leary V.B. et al. // Am. J. Med. Genet.– 2002.– Vol. 107.– P. 151–155.
24. Quere I. et al. // Lancet.– 2002.– Vol. 359.– P. 747–752.
25. Van der Gaag M. S. et al. // Lancet.– 2000.– Vol. 355.– P. 1522.
26. Weisberg I. et al. // Mol. Genet. Metab.– 1998.– Vol. 64.– P. 169–172.
27. Zetterberg H. et al. // Thromb. Res.– 2002.– Vol. 108.– P.127–131.

## THE POLYMORPHISM OF FOLATE METABOLISM GENES AND HUMAN DISEASES

I.N. FETISOVA, A.S. DOBROLYUBOV, M.A. LIPIN, A.V. POLYAKOV

### Summary

It is a review of the literature dedicated to researches of one of genetic markers for multifactorial diseases – the folate metabolism genes: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MTR), methionine synthase reductase (MTRR). The role of polymorphisms in these genes as a risk factor for different pathologies, such as infertility, is described.

**Key words:** hyperhomocysteinemia, methionine synthase (MTR), methionine synthase reductase (MTRR), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR).