

<https://doi.org/10.29296/25877305-2022-03-08>

Фолат-зависимые врожденные пороки развития и полиморфизм гена *ABCB1*

Т.В. Пикуза¹,

Р.А. Чилова¹, доктор медицинских наук, профессор,

Е.А. Сокова^{1,2}, кандидат медицинских наук, доцент,

Р.Е. Казаков², кандидат биологических наук,

Э.В. Жукова¹, кандидат медицинских наук,

Н.С. Трифонова¹, кандидат медицинских наук,

Е.В. Ших¹, доктор медицинских наук, профессор

¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет)

²Научный центр экспертизы средств медицинского применения

Минздрава России

E-mail: rtchilova@gmail.com

Высокая частота эмбриональных и плодовых потерь обусловлена врожденными пороками развития (ВПР). Значимый вклад ВПР в структуру причин младенческой смертности, заболеваемости и детской инвалидности определяют их важное медицинское и социальное значение.

*Приводятся результаты собственного исследования по влиянию полиморфизма гена *ABCB1* на риск возникновения ВПР в российской популяции беременных.*

Ключевые слова: врожденные пороки развития, фолат-зависимые пороки развития, полиморфизм гена *ABCB1*.

Для цитирования: Т.В. Пикуза, Р.А. Чилова, Е.А. Сокова и др. Фолат-зависимые врожденные пороки развития и полиморфизм гена *ABCB1*. Врач. 2022; 33 (3): 42–46. <https://doi.org/10.29296/25877305-2022-03-08>

Высокая частота эмбриональных и плодовых потерь обусловлена врожденными пороками развития (ВПР). Значимый вклад ВПР в структуру причин младенческой смертности, заболеваемости и детской инвалидности определяют их важное медицинское и социальное значение. Согласно данным Европейской сети надзора за ВПР (EUROCAT), ежегодно в мире рождаются 1,7 млн детей с ВПР. По данным ВОЗ, в мире 303 000 новорожденных ежегодно умирают в течение 4 нед после рождения из-за ВПР.

Одним из наиболее значимых достижений мировой генетики последних десятилетий явилось планирование «безопасной» беременности относительно предупреждения некоторых распространенных пороков развития у плода, связываемых с фолатной недостаточностью матери, посредством массового лечения женщин репродуктивного возраста фолиевой кислотой (ФК) в периконцепционный период. В 1980-е годы в мировой медицинской печати появились первые сообщения о том, что дефицит ак-

тивного фолата у беременной женщины способствует накоплению гомоцистеина и недостатку метионина, что на ранних стадиях эмбрионального развития нарушает скорость деления клеток и клеточную миграцию, повышая риск возникновения наиболее тяжелых и некорректируемых ВПР – дефектов нервной трубки (ДНТ) у плода (Smithells R.W. и соавт., 1980). Данное открытие явилось ярким событием в тератологии, медицинской генетике, репродуктологии, акушерстве, педиатрии и в профилактической медицине в целом. Уже в 90-е гг. прошлого столетия международной медицинской общественностью были представлены доказательства в отношении роли приема ФК женщинами в период планирования и первых 3 мес беременности для снижения риска развития у ребенка других видов ВПР, помимо ДНТ: пороков сердечно-сосудистой системы (ССС), челюстно-лицевых аномалий (ЧЛА), пороков мочевыделительной системы (МВС), редукционных пороков конечностей (РПК) и других ВПР, включая недифференцированные комплексы пороков. ВПР, для которых был зарегистрирован профилактический эффект при приеме ФК будущей матерью, были определены как фолат-зависимые. В.J. Bliiek и соавт. показали, что у матерей европейского происхождения из Германии, которые применяли лекарственные препараты (ЛП) в прекоцепционном периоде и являлись носительницами генотипа *3435TT*, в 6,2 раза возрастал риск рождения детей с расщелиной губы, нёба или без таковой. Причем данный риск увеличивался в 19,2 раза у матерей, которым не проводилась прегравидарная профилактика ФК [1]. S.A. Obermann-Borst и соавт. (2011) в исследовании случай-контроль проводили изучение роли генетических факторов и образа жизни в патогенезе ВПР ССС у матерей европейского происхождения из Нидерландов. Результаты исследования продемонстрировали увеличение риска рождения детей с ВПР сердца в 3 раза в группе матерей с генотипом *3435CT/TT*, которые применяли в периконцепционном периоде ЛП без ФК (отношение шансов [ОШ] = 2,8; 95% доверительный интервал [ДИ] – 1,2–6,4), причем прием ФК достоверно снижал этот риск (ОШ=1,7; 95% ДИ – 0,8–3,7) [2]. Похожие результаты получены С. Wang и соавт. (2014) при анализе полиморфного маркера *C3435T* на выборке китайских детей. Выявлено увеличение в 4 раза риска возникновения дефекта межжелудочковой перегородки у детей-носителей генотипов *CC/CT* по полиморфному маркеру *3435C>T* гена *ABCB1*, подвергшихся воздействию ЛП во время гестационного периода по сравнению с детьми с генотипом *3435TT* и без лекарственного воздействия (ОШ=3,932; 95% ДИ – 1,708–9,051) [3]. Установлено, что применение фолатных добавок в предгравидарный период и во время беременности является на сегодняшний день методом выбора повышения фолатного статуса у женщин, планирующих

беременность, с целью профилактики фолат-зависимых ВПР и других акушерских осложнений. ФК является важным элементом питания, участвующим в большом количестве биологических процессов и клеточных функций. Дефицит ФК ассоциирован с множеством неблагоприятных клинических фенотипов, включая риск формирования определенных ВПР, в первую очередь, ДНТ. В многочисленных работах показано, что дефицит активного фолата у беременной женщины способствует накоплению гомоцистеина, обладающего токсическим действием на клетку, и является фактором риска возникновения наиболее тяжелых ВПР. Одним из способов первичной профилактики ВПР является прием препаратов витаминов и микроэлементов в периконцепционном периоде.

По данным Л.А. Жученко (2009), в структуре всех ВПР доля фолат-зависимых составляет 24% [4]. Положительный эффект умеренных доз ФК (до 400 мкг/сут) в отношении профилактики врожденных дефектов подтверждается многочисленными клиническими исследованиями. Имеются данные о снижении частоты ВПР ССС и МВС, ЧЛА, РПК в результате приема ФК или содержащих ее препаратов [4, 5]. С другой стороны, ВПР – это результат комплексного множественного взаимодействия генетических и средовых факторов, что делает их актуальной проблемой, которая изучается на геномном уровне. Ряд исследований позволяют утверждать, что АВС-транспортёры, в первую очередь, гликопротеин Р, играют важную физиологическую и защитную роль во время гаметогенеза, эмбриогенеза и развития эмбриона/плода. Они участвуют в модуляции стероидогенеза в яичниках, циклических изменениях матки, имплантации, транспорте питательных веществ, иммунологических реакций, и выступают в роли «привратников» против потенциально вредных веществ в материнско-фетоплацентарном компартменте, в том числе ЛП. Наиболее хорошо описанными АВС-транспортёрами в репродуктивных тканях являются транспортёры ЛП и эндогенных субстратов – гликопротеин Р, VCRP, MRP1-5 и др.

На сегодняшний день существует согласованное мнение, что понимание активности, экспрессии и регуляции АВС-транспортёров, специфичности их субстратов обеспечит понимание нормальной репродуктивной функции и связанных с ней патологий беременной женщины и плода/новорожденного [5]. Несмотря на то, что генетические полиморфизмы ряда изоферментов системы Р450, транспортёров и рецепторов уже описаны, их практическое значение остается малоисследованным. Фактически же рекомендации для применения ЛП в соответствии с генотипом установлены для небольшого количества препаратов (например, психотропные, противоопухолевые) и только у небеременных женщин. В литературе имеются немногочисленные экспериментальные и клинические

исследования, свидетельствующие об увеличении воздействия на плод потенциально вредных ксенобиотиков в случае генетически детерминированного снижения экспрессии и активности гликопротеина Р в плацентарном трофобласте. Более того, результаты этих исследований демонстрируют ассоциации носительства полиморфизмов гена *ABCB1* и тератогенного риска для плода, в том числе на фоне приема беременными женщинами ЛП, являющихся субстратами изучаемого транспортера [6]. Однако результаты исследований носят достаточно противоречивый характер, что можно частично объяснить этногенетическими различиями в частотах клинически значимых аллельных вариантов изучаемых генов, а также недостаточной мощностью исследований. Поэтому необходимо продолжать работу в данном направлении, принимая во внимание генотип и матери, и плода по изучаемым полиморфизмам, в том числе по полиморфному маркеру *3435C>T* гена *ABCB1*. Таким образом, имеющиеся в настоящее время экспериментальные и клинические данные, подтверждающие фетопротективную роль гликопротеина Р, его участие в репродуктивных про-

цессах предопределяют актуальность планируемого исследования в российской популяции беременных женщин для прогнозирования риска развития фолатзависимых ВПР, возможно индуцированных ЛП, и их профилактики.

Цель нашего исследования – изучить влияние полиморфизмов гена *ABCB1* на риск возникновения ВПР в российской популяции беременных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изучена частота встречаемости различных генотипов полиморфизма *rs1045642* гена *ABCB1* у 3 групп пациентов: 1-я (n=87) – роженицы, родившие детей с ВПР; 2-я (n=87) – их дети с ВПР; 3-я (контрольная; n=83) – роженицы, родившие здоровых детей.

Участники исследования подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Нами проведена проверка соответствия закону Харди–Вайнберга наблюдающихся частот генотипов (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как следует из табл. 1, во всех 3 группах не отмечено достоверных различий реальных и ожидаемых частот генотипов и наблюдается хорошее соответствие распределению частот аллелей согласно закону Харди–Вайнберга.

У детей с ВПР частоты генотипов абсолютно совпадают с рассчитанными на основании уравнения Харди–Вайнберга ($p=1$), тогда как у рожениц, родивших детей с ВПР, и рожениц контрольной группы наблюдается некоторая тенденция к смещению генотипов с увеличением доли гетерозигот и уменьшением доли обоих гомозиготных вариантов ($p=0,658$ и $p=0,738$ соответственно). В нашем случае отклонения в сторону увеличения доли гетерозигот минимально, но в связи с тем, что функционально значимый полиморфизм встречается во многих популяциях с частотой до 50%, и при этом ни один аллель не элиминируется в ходе естественного отбора, данное минимальное отклонение может свидетельствовать о физиологической значимости именно гетерозигот-

Таблица 1

Проверка соответствия частот генотипов полиморфизма *rs1045642* гена *ABCB1* закону Харди–Вайнберга

Table 1

Checking the genotype frequencies of the *rs1045642* polymorphism of the *ABCB1* gene according to the Hardy–Weinberg law

| Аллель/ генотип | Частоты встречаемости аллелей / число носителей генотипов | Число генотипов, рассчитанное согласно закону Харди–Вайнберга | χ^2 |
|--|--|--|-----------|
| <i>Роженицы, родившие детей с ВПР (n=87)</i> | | | |
| <i>3435C</i> | 0,52 | | – |
| <i>3435T</i> | 0,48 | | |
| <i>3435CC</i> | 20 | 23,5 | $p=0,658$ |
| <i>3435CT</i> | 50 | 43,5 | |
| <i>3435TT</i> | 17 | 20,0 | |
| <i>Дети с ВПР (n=87)</i> | | | |
| <i>3435C</i> | 0,50 | | – |
| <i>3435T</i> | 0,50 | | |
| <i>3435CC</i> | 22 | 21,8 | $p=1$ |
| <i>3435CT</i> | 43 | 43,4 | |
| <i>3435TT</i> | 22 | 21,8 | |
| <i>Роженицы контрольной группы (n=83)</i> | | | |
| <i>3435C</i> | 0,43 | | – |
| <i>3435T</i> | 0,57 | | |
| <i>3435CC</i> | 13 | 15,3 | $p=0,738$ |
| <i>3435CT</i> | 46 | 40,7 | |
| <i>3435TT</i> | 24 | 27,0 | |

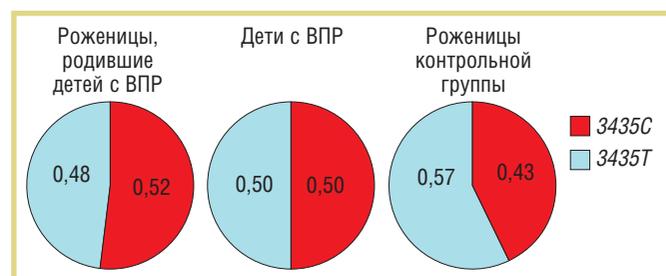


Рис. 1. Сопоставление частот аллелей полиморфизма *C3435T* гена *ABCB1* в исследуемых группах
Fig. 1. Comparing the allele frequencies of *C3435T* polymorphism of the *ABCB1* gene in the examined groups

ного состояния. Это может означать, что женщины с гетерозиготным носительством немного чаще рожают детей.

На рис. 1 представлены частоты аллелей полиморфизма *rs1045642* гена *ABCB1*.

Частота аллеля *3435T* у рожениц, дети которых имели врожденные нарушения, составила 48%, что несколько меньше, чем у рожениц контрольной группы (57%). В группе детей с нарушениями развития частота аллеля *3435T* была промежуточной и составила 50%.

Известно, что встречаемость аллеля *3435T* имеет значительные межэтнические отличия. Так, у африканских народов его частота составляет около 15%, у народов Восточной Азии – 40%. Среди европеоидов данный аллель является наиболее распространенным, то есть его частота выше, чем «минорного» аллеля, – 52%, а у народов Южной Азии достигает 57%. Видно, что в контрольной группе рожениц частота аллеля *3435T* превышает частоту «минорного» аллеля, а в выборках рожениц, родивших детей с ВПР, а также у самих детей данный аллель представлен в меньшей степени.

Однако данные различия не являются достоверными – при сопоставлении выборок с помощью критерия χ^2 Пирсона получены следующие значения:

- роженицы, родившие детей с ВПР, в сравнении с их собственными детьми с ВПР ($p=0,748$);
- дети с ВПР в сравнении с роженицами контрольной группы ($p=0,221$);
- роженицы, родившие детей с ВПР, в сравнении с роженицами контрольной группы ($p=0,123$).

Можно сделать вывод, что наблюдается некоторая тенденция к меньшей встречаемости аллеля *3435T* (соответственно, большей встречаемости аллеля *3435C*) гена *ABCB1* у рожениц, родивших детей с ВПР, а также у самих детей с ВПР.

На рис. 2 представлены результаты распределения генотипов полиморфизма *rs1045642* гена *ABCB1* в исследуемых выборках.

Распределение генотипов у рожениц, родивших детей с ВПР, достоверно не различается от частот в выборке их собственных детей ($p=0,532$). Также нет до-

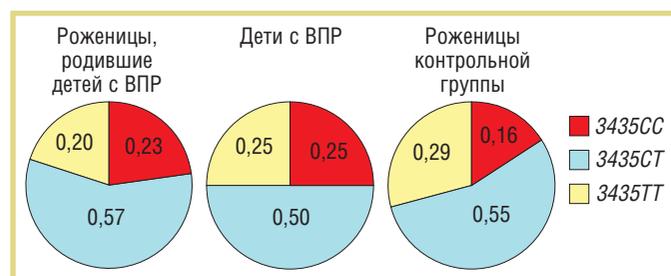


Рис. 2. Сопоставление частот генотипов полиморфизма *C3435T* гена *ABCB1* в исследуемых группах

Fig. 2. Comparing of the genotype frequencies the *C3435T* polymorphism of the *ABCB1* gene in the examined groups

стоверных различий частот генотипов при сравнении рожениц, родивших детей с ВПР, и рожениц контрольной группы ($p=0,252$), а также у детей, родившихся с ВПР, по сравнению с роженицами контрольной группы ($p=0,300$).

Однако при сопоставлении групп рожениц можно заметить тенденцию к меньшей частоте встречаемости генотипа *3435TT* (20% против 29%) и большей частоте генотипа *3435CC* (23% против 16%) у женщин, родивших детей с ВПР ($p=0,153$ – для генотипа *3435TT*; $p=0,227$ – для генотипа *3435CC*).

Мы обнаружили, что группы рожениц, родивших детей с фолат-зависимыми и с фолат-независимыми врожденными аномалиями, достоверно не различаются по частотам генотипов полиморфизма *rs1045642* гена *ABCB1* (табл. 2). Однако наблюдается достоверное различие по носительству гомозиготного генотипа *3435CC*: 27% – у матерей, дети которых имеют фолат-зависимые ВПР, 9% – у матерей, дети которых имеют фолат-независимые ВПР ($p=0,037$). Поскольку среднепопуляционная частота генотипа *3435CC* ближе к 27%, а не к 9%, можно сделать вывод, что у женщин с генотипом *3435CC* реже рождаются дети с фолат-независимыми ВПР. Похожие результаты получены С. Wang и соавт. (2014) при анализе полиморфного маркера *C3435T* на выборке китайских детей [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты многочисленных исследований демонстрируют гетерогенность причин ВПР (генетические, хромосомные, тератогенные и др.), хотя в значительной части случаев (65–70%) природа ВПР остается неизвестной и является мультифакториальной. Частота ВПР в популяции становится более значительной по мере совершенствования биологических, биохимических, иммунологических, цитогенетических и других методов диагностики. К сожалению, сегодня в мире не существует единой системы мониторинга ВПР.

Таблица 2
Сравнение частоты развития фолат-зависимых и фолат-независимых патологий у детей в зависимости от генотипа полиморфизма *rs1045642* гена *ABCB1* у матери; n (%)

Table 2
Comparing the incidence of folate-dependent and folate-independent diseases depending on the genotype of the *rs1045642* polymorphism of the *ABCB1* gene in the mother; n (%)

| Генотип | Роженицы, родившие детей с фолат-зависимыми ВПР | Роженицы, родившие детей с фолат-независимыми ВПР | p (χ^2) |
|---------------|---|---|----------------|
| <i>3435CC</i> | 15 (27%) | 3 (9%) | p=0,108 |
| <i>3435CT</i> | 30 (56%) | 24 (73%) | |
| <i>3435TT</i> | 9 (17%) | 6 (18%) | |
| Всего | 54 | 33 | |

Основная информация поступает из государственных систем мониторингов и регистров, являющихся инструментами для идентификации генетических и тератогенных воздействий, а также для оценки, планирования превентивных мер и создания рекомендаций. Следовательно, необходимо продолжать исследование ВПР, в том числе влияние генотипа и матери, и плода по изучаемым полиморфизмам, а в нашем случае — по полиморфному маркеру 3435C>T гена ABCB1.

* * *

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Исследование не имело финансовой поддержки.

Литература

1. Blik B.J., van Schaik R.H., van der Heiden I. et al. Maternal medication use, carriership of the ABCB1 3435C>T polymorphism and the risk of a child with cleft lip with or without cleft palate. *Am J Med Genet A.* 2009; 149 (10): 2088–92. DOI: 10.1002/ajmg. a.33036
2. Obermann-Borst S.A., Isaacs A., Younes Z. et al. General maternal medication use, folic acid, the MDR1 C3435T polymorphism, and the risk of a child with a congenital heart defect. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204 (3): 236.e1–236.e8. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.10.911
3. Wang C., Zhou K., Xie L. et al. Maternal Medication Use, Fetal 3435 C>T Polymorphism of the ABCB1 Gene, and Risk of Isolated Septal Defects in a Han Chinese Population. *Pediatr Cardiol.* 2014; 35 (7): 1132–41. DOI: 10.1007/s00246-014-0906-6
4. Жученко Л.А. Первичная массовая профилактика фолат-зависимых врожденных пороков развития. Первый российский опыт. Дисс. ... д-ра мед. наук. М., 2009.
5. Mavrogenis S., Czeizel A.E. Trends in the prevalence of recorded isolated hypospadias in Hungarian newborn infants during the last 50 years – a population-based study. *Reprod Toxicol.* 2013; 42: 251–5. DOI: 10.1016/j.reprotox.2013.09.007
6. Ozkur M., Dogulu F., Ozkur A. et al. Association of the Gln27Glu polymorphism of the beta-2-adrenergic receptor with preterm labor. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002; 77: 209–15.

References

1. Blik B.J., van Schaik R.H., van der Heiden I. et al. Maternal medication use, carriership of the ABCB1 3435C>T polymorphism and the risk of a child with cleft lip with or without cleft palate. *Am J Med Genet A.* 2009; 149 (10): 2088–92. DOI: 10.1002/ajmg. a.33036

2. Obermann-Borst S.A., Isaacs A., Younes Z. et al. General maternal medication use, folic acid, the MDR1 C3435T polymorphism, and the risk of a child with a congenital heart defect. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204 (3): 236.e1–236.e8. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.10.911

3. Wang C., Zhou K., Xie L. et al. Maternal Medication Use, Fetal 3435C>T Polymorphism of the ABCB1 Gene, and Risk of Isolated Septal Defects in a Han Chinese Population. *Pediatr Cardiol.* 2014; 35 (7): 1132–41. DOI: 10.1007/s00246-014-0906-6

4. Zhuchenko L.A. Pervichnaya massovaya profilaktika folat-zavisimykh vrozhdennykh porokov razvitiya. Pervyi rossiiskii opyt. Diss. ... d-ra med. nauk. M., 2009 (in Russ.).

5. Mavrogenis S., Czeizel A.E. Trends in the prevalence of recorded isolated hypospadias in Hungarian newborn infants during the last 50 years – a population-based study. *Reprod Toxicol.* 2013; 42: 251–5. DOI: 10.1016/j.reprotox.2013.09.007

6. Ozkur M., Dogulu F., Ozkur A. et al. Association of the Gln27Glu polymorphism of the beta-2-adrenergic receptor with preterm labor. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002; 77: 209–15.

FOLATE-DEPENDENT CONGENITAL MALFORMATIONS AND ABCB1 GENE POLYMORPHISM

T. Pikuza¹; Professor **R. Chilova¹**, MD; Associate Professor **E. Sokova^{1,2}**, Candidate of Medical Sciences; **R. Kazakov²**, Candidate of Biological Sciences; **E. Zhukova¹**, Candidate of Medical Sciences; **N. Trifonova¹**, Candidate of Medical Sciences; Professor **E. Shikh¹**, MD

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia

²Research Center for Examination of Medical Products, Ministry of Health of Russia, Moscow

The high frequency of embryonic and fetal losses is caused by congenital malformations (CMFs). The significant contribution of CMFs to the structure of causes of infant deaths, diseases, and disability define their important medical and social values.

The paper gives the results of the authors' own study on the effect of ABCB1 gene polymorphism on the risk of congenital CMFs in the Russian population of pregnant women.

Key words: congenital malformations, folate-dependent abnormalities, ABCB1 gene polymorphism.

For citation: Pikuza T., Chilova R., Sokova E. et al. Folate-dependent congenital malformations and ABCB1 gene polymorphism. *Vrach.* 2022; 33 (3): 42–46. <https://doi.org/10.29296/25877305-2022-03-08>

Об авторах/About the authors: Pikuza T.V. ORCID: 0000-0002-839-1627; Chilova R.A. ORCID: 0000-0001-6331-3109; Sokova E.A. ORCID: 0000-0002-6389-2099; Kazakov R.E. ORCID: 0000-0003-0802-4229; Zhukova E.V. ORCID: 0000-0003-3949-7109; Trifonova N.S. ORCID: 0000-0002-2891-3421; Shikh E.V. ORCID: 0000-0001-6589-7654



6–7 апреля 2022 Уфа **ВДНХ ЭКСПО**

ОХРАНА ЗДОРОВЬЯ МАТЕРИ И РЕБЁНКА

Медицинский форум-выставка

ОРГКОМИТЕТ: Тел./ факс (347) 246-42-44, 246-42-73,
e-mail: deti@bvkexpo.ru, www.bvkexpo.ru

