

лимфатических узлах, диагноз «туберкулез внутригрудных лимфатических узлов» и у одного подростка обнаружено в верхней доле левого легкого округлая тень размером 2 см, диагноз «туберкулема»). 30 (0,7%) обследуемых из очага контакта туберкулезной инфекции поставлены по III «Б» группе диспансерного учета и назначено им превентивное лечение в амбулаторных условиях. 120 (2,7%) детей, с симптомами туберкулезной интоксикации, взяты на учет по III «А» группе диспансерного учета и назначена им химиопрофилактика изониазидом в течение 6 месяцев амбулаторно, т.е. у 176 (3,9%) детей были выявлены долокальные и локальные формы первичного туберкулеза.

Исходя от полученных данных, внутрикожная проба ДИАСКИНТЕСТ дает возможность выявить специфические изменения на ранних стадиях развития и возможность своевременного назначения терапии. Облегчает нагрузку фтизиопедиатров в Центрах семейной медицины, при дифференци-

альной диагностике поствакцинальной и инфекционной аллергии, тем самым предотвращает нерациональное назначение химиопрофилактики и дополнительных методов обследования.

Литература:

1. Аксенова В.А., Барышникова Т.А., Севостьянова Т.А., Клевно Н.И. Туберкулез у детей в России и задачи фтизиатрической и общей педиатрической службы по профилактике и раннему выявлению заболевания // Пробл. Туб. – 2014. – № 3. – С.40-46.
2. Здоровье населения и деятельность учреждений здравоохранения Кыргызской Республики в 2013 - 2014 гг.: Республиканский медико-информационный центр МЗ КР. – Б.: Азия Технографика, 2014. – 354 с.
3. Andersen, P. et al. The prognosis of latent tuberculosis: can disease be predicted? // Trends. Mol. Med. - 2007. - Vol. 13. - P. 175-182.
4. Мотанова Л.Н., Коваленко Г.Е., Попова Ю.В. Опыт применения Диаскинтеста на территории с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией// Пробл. туб. – 2014. – № 4. – С.34-37.
5. Перельман, М.И., Богдельникова И.В. Фтизиатрия: учебник. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 448 с.
6. Моисеева Н.Н., Аксенова В.А., Одинец В.С. Эффективность кожного теста «Диаскинтест» у детей при массовых осмотрах на туберкулез. Фармакоэкономический анализ // Пробл. туб.– 2013. – № 2. – С.45-47.
7. Киселев В.И., Барановский П.М., Рудых И.В. и др. Клиническое исследование нового кожного теста Диаскинтест для диагностики туберкулеза // Пробл. Туб. – 2009. – № 2. – С.1-5.
8. J. Maertzdorf, J. Weiner III, S. H. E. Kaufmann. Enabling biomarkers for tuberculosis control // Int. J. Tuberc. Lang. Dis.– 2012. – Vol. 16, №9. – P.1140-1148.

ПОЛИМОРФИЗМ C677T ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАФОЛАТРЕДУКТАЗЫ ПРИ ДЕФЕКТАХ НЕРВНОЙ ТРУБКИ В КЫРГЫЗСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Алдашева Н.М., Боконбаева С.Дж., Мамбетсадыкова Е.М., Сушанло Х.М.
Кыргызско-Российский Славянский Университет, Кафедра педиатрии
Бишкек, Кыргызская Республика

Резюме. Проведено исследование полиморфизма C677T гена фолатного обмена MTHFR в 20 полных (отец, мать, ребенок) и 10 неполных (мать, ребенок) семей в которых ребенок имел дефект нервной трубки в виде СМГ или в сочетании с ВПР (Всего 80).

Ключевые слова: ген MTHFR, миссенс – мутации, генотип, полиморфизм, гаплотип, дефект нервной трубки (ДНТ).

Кыргыз популяциясындагы нерв түтүкчөсүнүн дефектисиндеги метилентетрафолатредуктазанын C677T генинин полиморфизми.

Н.М.Алдашева, С.Дж. Боконбаева, Е.М.Мамбетсадыкова, Х.М.Сушанло

Кыргыз - Россия Славян университети, Педиатрия кафедрасы, Бишкек, Кыргыз Республикасы

Резюме. C677T гениндеги фолат MTHFR алмашуусун 20 толук (атасы, энеси, баласы) жана 10 толук эмес (энеси, баласы) үй бүлөлөрдөгү балдардын нерв трубкасынын жөлүнүндөгү грыйжасы дефектиси бар же тубаса кемтик менен айкалышкан полиморфизми изилдөө жүргүзүлдү.

Өзөктүү сөздөр: MTHFR гени, миссенс – мутациясы, генотип, нерв түтүкчөсүнүн дефекти (НТД).

METHYLENTETRAHYDRFOLATE REDUCTASE GENE C677T POLYMORPLISM IN NEURAL TUBE DEFECTS IN KYRGYS POPULATION

Aldasheva N., Bokonbaeva S., Mambetsadykova E., Sushanlo H.

Department of Pediatrics, Bishkek, Kyrgys Republic

Abstract: This study presents MTHFR folat metabolism gene C677T polymorplism in 20 complete (father, mother, child) and 10 incomplete (mother, child) families, where child had any neural tube defect as Spina Bifida or in conjunction with malformation (total 80).

Key words: MTHFR gene, missense mutations, genotype, polymorplism, haplotupe, neural tube defect (NTD)

Одной из актуальных проблем современной педиатрии является рост врожден-

ных пороков развития (ВПР), обуславливающих высокую перинатальную и младенче-

скую заболеваемость и смертность.

Дефекты нервной трубки занимают одно из лидирующих мест среди всех выявляемых врожденных аномалий человека и встречается с частотой примерно 0.5-2 на 1000 живых рождений [1,2].

В большинстве случаев ВПР ЦНС возникают вследствие действия многофакторных влияний. Имеется ряд доказательств, что в генезе дефектов нервной трубки (ДНТ), врожденных пороков сердца, дефектов челюстно-лицевого аппарата играет роль фолатный статус матери [3,4,5].

Гены фолатного обмена являются одной из групп генетических маркеров ряда мультифакториальных заболеваний. Наиболее изученным из них является ген MTHFR, расположенный на коротком плече первой хромосомы (1p36,3) [6]. В основе нарушений функциональной активности MTHFR лежат его генетические полиморфизмы. Наиболее значимыми являются две миссенс-мутации в гене MTHFR – C677T и A1298C, носительство которых по данным многих исследователей способствует снижению активности фермента MTHFR в среднем на 35-60% от нормального значения [7,8,9].

Мутантный аллель 677T распределен в популяциях с высоким уровнем гетерогенности. У европейской расы частота гомозиготности составляет около 10-12%, а гетерозиготности – около 40%. У японцев распространенность гомозиготного генотипа TT составляет 11%. Реже этот ген встречается у чернокожих африканцев, частота гомозиготности среди которых составляет от 1,6% до полного отсутствия среди некоторых племен. Наличие аллеля 677T связано с повышением уровня гомоцистеина плазмы, у гомозигот это повышение выражено в большей степени, чем у гетерозигот. В исследованиях проведенных в Нидерландах, Ирландии и США было показано, что носители гомозиготного 677T аллеля ассоциируются со значительным увеличением риска развития ДНТ. Было замечено, что высокая частота дефектов нервной трубки наблюдается в тех географических зонах или этнических группах, где высока распространенность гомозиготного генотипа TT. Так например, наиболее высока распространенность ДНТ в се-

верной части Китая. В США частота ДНТ наиболее высока среди мексиканского населения, значительно реже встречается среди афроамериканцев. С другой стороны в Италии, где гомозиготный мутантный генотип встречается с высокой частотой, распространенность ДНТ не столь высока [10,11,12,13]. И наоборот среди казахской популяции, генетически близкой кыргызской, распространенность гомозиготного генотипа TT составляет 1,6%, а частота ДНТ достаточно высока и имеет тенденцию к росту [14]. В тоже время в ряде работ не было выявлено ассоциативной связи частоты распределения мутации C677T с риском развития ДНТ [15,16,17].

Целью нашего исследования было изучение клинико-диагностической значимости полиморфизма C677T гена MTHFR для риска развития ДНТ в кыргызской популяции.

Материал и методы. Для проведения генетического исследования ассоциации полиморфизма C677T (прямой праймер -5' – TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3', обратный праймер -5'- AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3') гена MTHFR нами проведены генетические исследования у 20 полных семей (отец, мать, ребенок) и 10 неполных семей (мать, ребенок) в которых ребенок имел порок нервной трубки, чаще всего в виде изолированной СМГ или в сочетании с другими ВПР (Всего 80). 46 детей без ВПР, рожденных от 2-ой и более беременности и их мамы (n=47), составили контрольную группу. ДНК выделялась из клеток крови с использованием набора для экстракции ДНК Nucleon BACC3 (“Amersham Pharmacia Biotech”, Швеция). Определение полиморфизма гена C677T MTHFR осуществлялось с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием специфических праймеров и последующей рестрикцией полученных ПЦР продуктов ферментом Hinf I. В результате рестрикции образовывались рестрикционные фрагменты: СС 198 п.н.; ТТ 175+23 п.н., СТ 198+175+23 п.н., которые разделялись с помощью электрофореза в 3% агаровом геле. Сканирование геля и анализ полученных результатов осуществлялся гелем – документирующей си-

стемой GelDoc IT (UVP, Великобритания).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы STATISTICA 6,0 и пакета стандартных программ Graph Pad Prism v. 5.0.

Результаты и их обсуждение. ДНТ в основной группе был представлен различными вариантами спинномозговых грыж.

В группе матерей по частоте встречаемости СС, СТ и ТТ генотипов достоверных различий в основной и контрольной группах

выявлено не было. Определение величины отношения шансов в основной группе не выявило неблагоприятную роль генотипов СТ и ТТ (OR=0,85). Также не было выявлено достоверных различий по частоте встречаемости С и Т аллелей, хотя частота встречаемости СТ+ТТ аллелей была несколько выше в основных группах – «дети» и «мать + отец», но разница была недостоверна (табл.1-3).

Таблица 1 - Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов С677Т гена МТНFR больной и контрольной группы у детей

Локус	Аллели и генотипы	Больные (дети), n=30 (%)	Контроль (дети), n=46 (%)	χ^2	р	ОШ	ДИ 95%
С677Т гена МТНFR	С	39(0,65)	62(0,67)	0,017	0,90	0,90	(0,45-1,79)
	Т	21(0,35)	30(0,33)			1,11	(0,56-2,21)
	СС	12(40)	22(48)	0,88	0,64	0,73	(0,29-1,85)
	СТ	15(50)	18(39)			1,56	(0,61-3,94)
	ТТ	3(10)	6(13)			1,18	(0,26-5,26)
	СТ+ТТ	18(60)	24(52)	0,19	0,66	1,37	(0,54-3,49)

Таблица 2 - Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов С677Т гена МТНFR больной и контрольной группы у матерей

Локус	Аллели и генотипы	Больные (мама), n=30 (%)	Контроль (мама), n=47 (%)	χ^2	р	ОШ	ДИ 95%
С677Т гена МТНFR	С	44(0,73)	66(0,70)	0,055	0,81	1,17	(0,57-2,40)
	Т	16(0,27)	28(0,30)			0,86	(0,41-1,77)
	СС	14(47)	22(47)	2,07	0,35	0,99	(0,40-2,49)
	СТ	16(53)	22(47)			1,30	(0,52-3,25)
	ТТ	0	3(6)			0,21	(0,01-4,18)
	СТ+ТТ	16(53)	25(53)	0,049	0,82	1,01	(0,40-2,52)

Таблица 3 - Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов С677Т гена МТНFR больной и контрольной группы у родителей

Локус	Аллели и генотипы	Больные (мама+папа), n=50 (%)	Контроль (мама), n=47 (%)	χ^2	р	ОШ	ДИ 95%
С677Т гена МТНFR	С	71(0,71)	66(0,70)	0,0014	0,97	1,04	(0,56-1,93)
	Т	29(0,29)	28(0,30)			0,96	(0,52-1,79)
	СС	22(44)	22(47)	1,42	0,49	0,89	(0,40-1,99)
	СТ	27(54)	22(47)			1,33	(0,60-2,96)
	ТТ	1(2)	3(6)			0,30	(0,03-2,99)
	СТ+ТТ	28(56)	25(26)	0,0054	0,94	1,12	(0,50-2,49)

Частота гомозиготного ТТ генотипа (7,51%) среди всех обследованных – мам, пап и детей основной и контрольной групп, близка к частоте данного генотипа в казахской и русской популяциях, и в тоже время значительно ниже показателя для большинства европейских стран [10,13,14].

Неоднозначные результаты многочисленных работ, посвященных влиянию полиморфизма С677Т гена МТНFR на формирование ДНТ может быть отчасти обусловлена рядом объективных причин - мультифакториальный генез ВПР, этногеографическое разнообразие генофондов популяций. Кроме

того, известно, что вторым распространенным полиморфизмом в этом гене является миссенс-мутация A1298C. Аллель 1298C также снижает активность фермента, хотя и не так значительно, как аллель 677T. Индивиды, являющиеся компаунд-гетерозиготами по аллелям 677T и 1298C (генотип 677CT/1298AC), согласно некоторым исследованиям, имеют снижение активности фермента на 40–50% и биохимический профиль, схожий с профилем гомозиготных носителей аллеля 677T [18,19]. Таким образом, C677T полиморфизм гена фолатного обмена MTHFR в нашем исследовании изолированно не увеличивает риск развития ДНТ. Возможно, что в комбинации с другими полиморфизмами и, прежде всего с A1298C гена MTHFR могут играть определенную роль в развитии ДНТ. Изучение роли полиморфизма генов MTHFR в генезе ДНТ требует проведения дальнейших исследований в этом направлении. Так было бы интересным изучить взаимовлияние сочетанных гаплотипов C677T и A1298C у детей с ДНТ и их матерей как риск - фактора возникновения заболевания

Литература:

1. Greene ND, Stanier P and Copp AJ. Genetics of human neural tube defects. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 113-129.
2. Yaliwal LV and Desai RM. Methylene-tetrahydrofolate reductase mutations, a genetic cause for familial recurrent neural tube defects. *Indian J Hum Genet* 2012; 18: 122-124.
3. Shaw G.M., Rozen R., Finnell R.H., et al. Maternal vitamin use. Genetic variation of infant methylenetetrahydrofolate reductase and a risk factor for spina bifida // *Am J Epidemiolog* .- 1998.-Vo. 148.-P. 30-37
4. Van der Put N.M., Steegers-Theunissen R.P., Frost P. et al. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida // *Lancet*.-1995.-Vol 346.-P. 1070-71
5. Czeizel A.E., Dudás I., Paput L. et al. Prevention of neural-tube defects with periconceptional folic acid, methylfolate, or multivitamins // *Ann Nutr Metab*.- 2011.- 58(4).-P. 263-271.
6. Goyette P., Pai A., Milos R., et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) // *Mamm Genome* 1998.- 9.-P. 652-6.
7. Frosst P, Blom H J., Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase deficiency // *Nat Genetic* 1995.- 10.- P. 111-113
8. Weisberg I., Tran P., Christensen B. et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity // *Mol. Genet Metab*.- 1998.- 64.- P. 169-172.
9. Rosenberg N.A., Pritchard J.K., Weber J.L. et al. Genetic structure of human population // *Science*.- 2002.- vol.298 (5602).-P.2381-2385.
10. Botto L.D., Yang Q. 5,10 Methylene-tetrahydrofolate Reductase Gene Variants and Congenital Anomalies: A Huge Review // *Am. Journal of Epidemiology*.- 2000.- 151(9).-P 862-872
11. Wilcken B., Bamforth F., Li Z., et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR); finding from over 7000 newborns from 16 areas world wide // *Journal Med. Genet*.- 2003.- Vol.40.- P. 619-625
12. De Franchis R, Buoninconti A., Mandato C., et al. The C677T mutation of the 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase gene is a moderate risk factor for spina bifida in Italy // *J Med Genet*.- 1998.- 35.- P. 1009-13.
13. Спиридонова М.Т., Степанов В.А., Пузырев В.П. О роли полиморфных вариантов гена 5,10 – метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний // *Клиническая медицина*.- 2001.- № 2.- С. 10-16
14. Махмутова Ж.С. Популяционно-генетический анализ полиморфизма гена метилентетрафолатредуктазы при дефектах невральнoй трубки в казахской популяции. Автореф.дисс. канд.мед.наук: Москва, 2007, 21с
15. Boduroglu K., Alikasifoglu M., Anar B. et al. Association of the 677C→T mutation on the methylenetetrahydro folate reductase gene in Turkish patients with neural tube defects // *J Child Neurol*.- 1999.- 14.- P.159-161.
16. Mornet E., Muller F., Lenoisè-Furet A., et al. Screening of the C677T mutation on the methylenetetrahydrofolate reductase gene in French patients with neural tube defects // *Hum Gene*.- 1997.- 100.- P. 512-514.
17. Morrison K., Papapetrou C., Hol F.A., et al. Susceptibility to spina bifida; an association study of five candidate genes // *Ann Hum Genet*.- 1998.- 62.-P. 379-396.
18. Chango A., Boisson F., Barbe F. et al. The effect of 677C→T and 1298A→C mutations on plasma homocysteine and 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects // *Br J Nutr*.- 2000.- 83.- P. 593-596.
19. Van der Put N.M., Gabreels F., Stevens B.E., et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural tube defects? // *Am J Hum Genet*.- 1998.- 62.-P.1044-1051.