

¹Ю.И. Бандажевский, ²Н.Ф. Дубовая

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕФЕКТЫ ПРИ НАРУШЕНИИ
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЦИКЛА ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ У ДЕТЕЙ,
ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ, ПОСТРАДАВШЕЙ ОТ АВАРИИ
НА ЧАЭС**

¹Координационный аналитический центр «Экология и здоровье»,
Иванков,

²Национальная медицинская академия последипломного образования им.
П.Л. Шупика, Киев

ВСТУПЛЕНИЕ

Высокая онкологическая заболеваемость взрослого и детского населения на территории, пострадавшей от аварии на ЧАЭС [1], предопределяет выяснение причин данного явления. В этой связи, актуальным является проведение исследований по оценке состояния метаболического цикла с участием фолиевой кислоты, в ходе которого происходит трансформация метионина - незаменимой для организма человека аминокислоты. Известно то, что нарушение функционирования фолатного цикла приводит к возникновению сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, сахарного диабета, хронической невынашиваемости беременности, врожденной патологии и ряда других заболеваний [2-4].

Целью настоящего исследования явилось оценка состояния фолатного цикла у детей из семей, постоянно проживающих на территории, пострадавшей от аварии на ЧАЭС, по результатам определения гомоцистеина в крови и полиморфизмов генов фолатного цикла.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Концентрация гомоцистеина определялась в крови 201 ребенка (у 101 мальчика и 100 девочек) в возрасте 13-17 лет, из Полесского и Иванковского районов Киевской области. При этом использовался иммунохимический метод с хемилюминесцентной детекцией (CLIA) с использованием анализатора и тест системы: Architect 1000 (ABBOT Diagnostics (США)).

Состояние генетической системы фолатного цикла оценивалось у тех же детей по количеству аллельных вариантов С677Т и А1298С гена МТНFR (метилентетрагидрофолатредуктаза), аллельных вариантов А2756G гена МTR (В₁₂-зависимая метионинсинтаза), аллельных вариантов А66G гена МТRR (метионин-синтаза редуктаза). В этой связи был использован метод ПЦР в режиме Real-time, с использованием анализатора и тест системы: детектирующий амплификатор «ДТ-96»; «ДНК-Технология» (Россия).

Указанные исследования осуществлены в сертифицированной по стандартам качества лаборатории, при финансовой поддержке Регионального Совета региона Рон-Альп (Франция). При оценке полученных результатов учитывались нормативные показатели для каждого теста, а также пол и возраст ребенка на момент забора крови.

Систематизация материала и первичная математическая обработка была выполнена с помощью таблиц Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало присутствие полиморфизмов изучаемых генов у 195 детей (97,0 %). Отсутствие аллелей риска было зарегистрировано лишь в 6 случаях (3,0 % от числа обследованных детей).

Аллели риска по одному из указанных полиморфизмов наблюдались в 39 случаях (19,4 %), по 2 полиморфизмам - в 86 случаях (42,8 %), по 3 полиморфизмам – в 63 случаях (31,3 %), по 4 полиморфизмам – в 7 случаях (3,5 %).

В группе мальчиков отсутствие аллелей риска по указанным полиморфизмам зарегистрировано в 2 случаях (2,0 % от числа обследованных мальчиков), в группе девочек в 4 случаях (4,0 % от числа обследованных девочек). Аллель риска по одному полиморфизму регистрировалась в группе мальчиков в 19 случаях (19,0 %), в группе девочек в 20 случаях (20,0 %). Сочетание аллелей риска 2-х полиморфизмов обнаруживалось в группе мальчиков в 47 (46,5 %), в группе девочек в 39 (39,0 %) случаях. Сочетание аллелей риска по 3-м полиморфизмам встречалось в группе мальчиков в 30 случаях (29,7 %), в группе девочек в 33 случаях (33,0 %). Сочетание аллелей риска по 4-м полиморфизмам встречалось в группе мальчиков в 3-случаях (3,0 %) в группе девочек – в 4-х случаях (4,0 %).

В группу детей, у которых концентрация гомоцистеина была менее 8 мкмоль/л вошел 41 ребенок (20,4 %), в группу, имеющую концентрацию гомоцистеина в крови в пределах 8-10 мкмоль/л - 62 ребенка (30,8 %), в группу, имеющую концентрацию гомоцистеина свыше 10 мкмоль/л - 98 детей (48,8 %). В 4-х случаях уровни гомоцистеина находились в пределах 30-100 мкмоль/л.

Всего концентрация гомоцистеина свыше 8 мкмоль/л зарегистрирована у 160 детей (79,6 %).

Полиморфизм MTHFR C677T (гомозиготный и гетерозиготные варианты) встречался в 98 из 201 случая (48,8 % от числа всех случаев). При этом, концентрация гомоцистеина менее 8 мкмоль/л выявлена в 17 случаях (17,35±3,83 %) -1-я подгруппа, в пределах 8-10 мкмоль/л – в 23 случаях (23,47 ±4,28 %) – 2-я подгруппа, более 10 мкмоль/л - в 58 случаях (59,18±4,96 %) – 3-я подгруппа. Выявлена достоверная статистическая разница ($p < 0,05$) между 1-й и 3-й подгруппами.

Полиморфизм MTHFR A1298C (гомозиготный и гетерозиготные варианты) встречался в 102 из 201 случая (50,7 % от числа всех случаев). При этом, концентрация гомоцистеина менее 8 мкмоль/л выявлена в 18 случаях (17,65 ± 3,77 %) – 1-я подгруппа, в пределах 8-10 мкмоль/л – в 33 случаях (32,35

$\pm 4,63$ %) – 2-я подгруппа, более 10 мкмоль/л - в 51 случае ($50,0 \pm 4,95$ %) – 3-я подгруппа. Выявлена достоверная статистическая разница ($p < 0,05$) между 1-й и 3-й подгруппами.

Полиморфизм MTR A2756G (гомозиготный и гетерозиготные варианты) встречался в 68 из 201 случая (33,8 % от числа всех случаев). При этом, концентрация гомоцистеина менее 8 мкмоль/л выявлена в 17 случаях ($25,0 \pm 5,25$ %) – 1-я подгруппа, в пределах 8-10 мкмоль/л – в 22 случаях ($32,35 \pm 5,67$ %) – 2-я подгруппа, более 10 мкмоль/л - в 29 случаях ($42,65 \pm 6,0$ %) – 3-я подгруппа. Выявлена достоверная статистическая разница ($p < 0,05$) между 1-й и 3-й подгруппами.

Полиморфизм MTRR A66G (гомозиготный и гетерозиготные варианты) встречался в 159 из 201 случаях (79,1 % от числа всех случаев). При этом, концентрация гомоцистеина менее 8 мкмоль/л выявлена в 31 случае ($19,50 \pm 3,14$ %) – 1-я подгруппа, в пределах 8-10 мкмоль/л – в 43 случаях ($27,04 \pm 3,52$ %) – 2-я подгруппа, более 10 мкмоль/л - в 85 случаях ($53,46 \pm 3,96$ %) – 3-я подгруппа. Выявлена достоверная статистическая разница ($p < 0,05$) между 1-й и 2-й, 1-й и 3-й подгруппами.

Гетерозиготные варианты всех изученных полиморфизмов встречались чаще, чем гомозиготные.

Проведенное исследование показало зависимость концентрации гомоцистеина от всех исследуемых полиморфизмов. Уровень гомоцистеина в крови свыше 8 мкмоль/л (установлен нами как физиологический для данной возрастной группы детей) превышен в отношении полиморфизма MTHFR C677T в 81 случае (82,65 %), в отношении полиморфизма MTHFR A1298C в 84 случаях (82,35 %), в отношении полиморфизма MTR A2756G в 51 случае (75,0 %), в отношении полиморфизма MTRR A66G в 128 случаях (80,5 %). Данная ситуация связана, в значительной мере, с высокой частотой сочетаний определяемых полиморфизмов в изучаемой группе детей.

В литературе приводятся сведения об особой роли гомозиготного варианта полиморфизма C677T (генотип T/T), приводящего к снижению активности фермента MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктазы) на 70 %, при этом происходит повышение уровня гомоцистеина в крови. Компаунд-гетерозиготность по аллелям 677T и 1298C этого гена сопровождается снижением активности фермента на 40-50 %, повышением концентрации гомоцистеина, так же, как при гомозиготном носительстве аллеля 677T [4, 5]. В связи с этим, нами проводилась оценка частоты встречаемости гомоцистеинемии в группах детей с указанными мутациями.

Суммарно гомозиготный аллельный вариант 677T и компаунд-гетерозиготность по аллелям 677T и 1298C обнаруживались в 54 случаях (26,9 % от числа всех обследованных детей). При этом, концентрация гомоцистеина в крови менее 8 мкмоль/л наблюдалась у 6 детей 11,1±4,28 % (1-я подгруппа), в пределах 8-10 мкмоль/л - у 10 детей -18,52±5,29 % (2-я подгруппа), более 10 мкмоль/л – у 38 детей -70,4±6,21 % (3-я подгруппа). Статистические различия ($p < 0,05$) установлены между 1-й и 3-й и 2-й и 3-й подгруппами.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о нарушении функционирования фолатного цикла в большинстве случаев. Наличие сочетаний нескольких генетических полиморфизмов (в 77,6 % случаев и зарегистрировано носительство двух, трех и четырех аллелей риска) является в условиях экологического неблагополучия причиной повышения уровня гомоцистеина выше физиологической нормы в 79,6 % случаев, свидетельствующего о серьезных нарушениях обмена веществ в организме детей. Учитывая мультифакториальный характер данной патологии, необходимо дальнейшее изучение внешнесредовых факторов, способствующих проявлению дефектного генома.

ВЫВОДЫ

1. Генетическое исследование детей из семей, постоянно проживающих после аварии на Чернобыльской атомной электростанции в Полесском и

Иванковском районах, выявило в 97,0 % случаев полиморфные аллельные варианты (аллели риска) генов MTHFR, MTR, MTRR, контролирующих фолатный цикл. При этом в 77,6 % случаев зарегистрировано носительство двух, трех и четырех аллелей риска.

2. Генетическое неблагополучие фолатного цикла проявляется повышением уровня гомоцистеина в крови, и создает реальную угрозу для развития детского организма.

Литература

1. Бандажевский Ю.И. Чернобыль 25 лет: инкорпорированные радионуклиды Cs-137 и здоровье людей / Ю.И. Бандажевский, Н.Ф. Дубовая, Г.С. Бандажевская и др.; под ред. проф. Ю.И. Бандажевского. - К.: Координационный аналитический центр «Экология и здоровье», 2011. – 156 с.
2. Potter K. Homocysteine and cardiovascular disease: should we treat? / K. Potter // Clin. Biochem. Rev. – 2008. – V. 29. - P. 27-30.
3. Lentz S.R. Homocysteine: is it a clinically important cardiovascular risk factor? / S.R. Lentz, W.G. Haynes // Clin. J. Med. – 2004. - V. 71/ - P.729-734.
4. Фетисова И.Н. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И.Н. Фетисова, А.С. Добролюбов, М.А. Липин // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. X., № 1. – С. 91-96.
5. Weisberg I. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity / I. Weisberg, P. Tran, B. Christensen [et al.] // Mol. Genet. Metab. – 1998. - Vol. 64. - P.169-172.

¹ Ю.И. Бандажевський, ²Н.Ф. Дубова

**ГЕНЕТИЧНІ ДЕФЕКТИ ПРИ ПОРУШЕННІ ФУНКЦІОНУВАННЯ
ЦИКЛУ ФОЛІЄВОЇ КИСЛОТИ У ДІТЕЙ, ЯКІ МЕШКАЮТЬ НА
ТЕРИТОРІЇ, ЩО ПОСТРАЖДАЛА ВІД АВАРІЇ НА ЧАЕС**

¹Координаційний аналітичний центр «Екологія і здоров'я», Іванків

²Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика,
Київ

Вступ. Райони, що постраждали від аварії на ЧАЕС, відрізняються високим рівнем онкологічної захворюваності населення, однією з причин якої можуть бути зміни в геномі, що контролює основні напрямки обміну речовин в організмі.

Мета – оцінити стан фолатного циклу у дітей з сімей, які постійно проживають на території, що постраждала від аварії на ЧАЕС, за результатами визначення гомоцистеїну в крові і поліморфізмів генів фолатного циклу.

Методи. Лабораторний, математико-статистичний.

Результати. Обстежені 201 дитина (101 хлопчик і 100 дівчаток) у віці 13-17 років. Концентрація гомоцистеїна у крові понад 8 мкмоль/л зареєстрована у 79,6 % дітей. З них у 4-х випадках рівень гомоцистеїну знаходився в межах 30-100 мкмоль/л. Поліморфізми генів MTHFR, MTR, MTRR були виявлені в 97,0 % випадків, при цьому в 77,6 % випадків зареєстровано носійство двох, трьох і чотирьох алелей ризику. Гетерозиготні варіанти всіх вивчених поліморфізмів зустрічалися частіше, ніж гомозиготні. Зі збільшенням числа поліморфних алелей генів MTHFR, MTR, MTRR кількість дітей з гіпергомоцистеїнемією збільшується. Найбільш чітко ця залежність спостерігалась у групі хлопчиків.

Висновки. Генетичне неблагополуччя фолатного циклу проявляється підвищенням рівня гомоцистеїну у крові і створює реальну загрозу для розвитку дитячого організму.

Ключові слова: діти, Чорнобильська катастрофа, радіоактивно забруднені території, гомоцистеїн, фолатний цикл.

¹Yu.I. Bandazhevsky, ²N.F. Dubovaya

GENETIC DEFECTS IN VIOLATION OF FUNCTIONING CYCLE FOLIC ACID IN CHILDREN LIVING IN AREAS AFFECTED BY THE CHERNOBYL ACCIDENT

¹«Ecology and Health» Coordination and Analytical Centre, Ivankov

²National Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L. Shupyk, Kyiv

Introduction. The areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident are characterised by high cancer incidence rates and changes in the genome that controls main processes of the metabolism in the body can be one of the reasons of it.

The aim - evaluate the state of folate cycle in children from families living in areas affected by the Chernobyl accident, the results of determination of homocysteine in the blood and gene polymorphisms of folate cycle.

Methods. Laboratory, mathematical statistical.

Results. Inspection of 201 children (101 boys and 100 girls) aged 13-17 years. The concentration of homocysteine in the blood of more than 8 mmol/l was registered in 79.6 % of children. Of these, 4 cases homocysteine levels were in the range of 30-100 mmol/l. Gene polymorphism MTHFR, MTR, MTRR were found in 97.0 % of cases, while in 77.6 % of cases registered carrier of two, three and four alleles risk. Heterozygous variants all studied polymorphisms met more than homozygous. With an increasing number of polymorphic alleles of genes MTHFR, MTR, MTRR of children with hyperhomocysteinemia increases. Most clearly this dependence was observed in the group of boys.

Conclusions. Genetic adversity folate cycle is manifested by increased levels of homocysteine in the blood, and creates a real threat to the development of the child's body.

Keywords: children, the Chernobyl accident, radioactively contaminated areas, homocysteine, folate cycle.