

Анализ полиморфизма гена метионин-синтазы-редуктазы в прогнозировании врожденной патологии челюстно-лицевой области

О.С. ЧУЙКИН*, к. м. н., доцент

О.З. ТОПОЛЬНИЦКИЙ***, д. м. н., профессор, зав. кафедрой

М.В. ГИЛЬМАНОВ*, соискатель

Т.В. ВИКТОРОВА**, д. м. н., профессор, зав. кафедрой

Н.В. МАКУШЕВА*, к. м. н., доцент

*Кафедра стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ИДПО

**Кафедра биологии

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа

***Кафедра детской хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава РФ

Analysis of the polymorphism of the methionine-synthase-reductase gene in predicting the congenital pathology of the maxillofacial region

O.S. CHUYKIN, O.Z. TOPOL'NITSKIY, M.V. GIL'MANOV, T.V. VIKTOROVA, N.V. MAKUSHEVA

57

Резюме

Актуальность темы исследования. По данным исследователей, в России ежегодно рождаются около 20 000 детей с врожденной патологией челюстно-лицевой области.

Целью исследования было изучение распределения частот аллелей и генотипов по полиморфизму A66G гена фолатного цикла метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) в прогнозировании врожденных пороков челюстно-лицевой области.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 83 пациента. Для молекулярно-генетического исследования мы использовали образцы ДНК, которые были выделены из лимфоцитов периферической венозной крови у 37 больных с врожденной патологией ЧЛО и 46 здоровых пациентов контрольной группы. Для выделения ДНК нами был использован стандартный метод фенольно-хлороформной экстракции.

Результаты. Анализ распределения частот генотипов rs1801394 показал, что в обеих группах чаще встречается гетерозиготный генотип *A*G: в контроле – 58,7%, среди больных – 37,8%, однако различия статистически не достоверны ($\chi^2 = 2,78$; $p = 0,095$). У больных выявлена достоверно высокая частота гомозиготного по мутации генотипа *A*A, частота которого составила 32,4% против 10,9% в контроле ($\chi^2 = 4,61$; $p = 0,030$).

Выводы. Таким образом, генетическим маркером заболевания является генотип *A*A полиморфного локуса rs1801394 гена MTRR. Полученные результаты позволяют использовать полиморфный локус rs1801394 гена MTRR в прогнозировании врожденной патологии челюстно-лицевой области.

Ключевые слова: врожденные пороки развития, зубочелюстные аномалии, врожденные расщелины губы и неба, полиморфизм, ген MTRR.

Abstract

The relevance of the research topic According to researchers, about 20,000 children with congenital pathology of the maxillofacial region are born in Russia every year.

Purpose. We have studied the distribution of allele frequencies and genotype of the gene polymorphism A66G folate cycle methionine synthase reductase MTRR for predicting congenital maxillofacial area.

Methods. The study involved 83 patients. The first group included 37 patients with congenital pathology of maxillofacial area, the second group (control) — 46 healthy patients. For a molecular genetic study, we used DNA samples isolated from peripheral venous blood lymphocytes. We used the standard method of phenol-chloroform extraction for DNA extraction. **Results.** Frequency distribution analysis of genotypes of rs1801394 showed that in both groups more common heterozygous genotype *A*G: 58.7% in control, 37.8% among patients, but the differences are not statistically significant ($\chi^2 = 2.78$; $p = 0.095$). A significantly high frequency of homozygous mutation in the genotype *A*A, whose frequency was 32.4% versus 10.9% in the control ($\chi^2 = 4.61$, $p = 0.030$) was revealed in the patients.

Summary. Thus, the genetic marker of the disease is the genotype *A*A of the polymorphic locus rs1801394 of the MTRR gene. The obtained results allow using the polymorphic locus rs1801394 of the MTRR gene in predicting the congenital pathology of the maxillofacial area.

Key words: congenital malformations, dentoalveolar anomalies, congenital cleft lip and palate, polymorphism, MTRR gene.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частота и распространенность врожденных пороков развития (ВПР) в популяции играет немаловажную роль в состоянии здоровья населения. На сегодняшний день одной из наиболее важных проблем медицины, в частности челюстно-лицевой хирургии, являются врожденные пороки челюстно-лицевой области (ЧЛО), что связано с их высокой частотой встречаемости, тяжестью анатомических, физиологических и функциональных нарушений, а также с трудностью социальной адаптации пациентов.

Наиболее частыми пороками челюстно-лицевой области относятся врожденные расщелины верхней губы и неба (ВРГН). По данным исследователей, в России ежегодно рождаются около 20 000 детей с данной патологией [1, 2, 5, 6].

При врожденных пороках челюстно-лицевой области у пациента происходят не только косметические, но и функциональные изменения, что является причиной инвалидизации от рождения до полного восстановления функций органов ротовой полости, а также социальных коммуникаций. Так как Республика Башкортостан — это индустриальный регион, имеющий многочисленные промышленные предприятия, связанные с добычей и обработкой нефти, не исключен фактор экологической загрязненности как почвы, так и воздуха с водой производственными отходами. Содержащиеся в окружающей среде экотоксиканты обуславливают рождаемость детей с врожденными пороками ЧЛО

такими как врожденные расщелины верхней губы и неба выше средне-статистической по России [3–7].

Многочисленные данные литературы, полученные в результате семейных и близнецовых исследований, свидетельствуют о существенной роли генетических факторов в развитии ВП ЧЛО. Выявление причин возникновения патологии челюстно-лицевой области, в том числе генетических, является необходимым условием для обоснования и проведения их эффективной профилактики [1, 4, 8, 9, 12–14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение распределения частот аллелей и генотипов по полиморфизму A66G гена фолатного цикла MTRR в прогнозировании ВП ЧЛО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одним из наиболее распространенных подходов к изучению наследственной предрасположенности к врожденной патологии ЧЛО, как и любого другого заболевания многофакторной природы, является изучение ассоциаций между вариантами генетического полиморфизма генов-кандидатов [3, 5]. Среди множества генетических факторов, играющих роль в развитии врожденной патологии человека, важная роль отводится генетическим нарушениям энзимов, участвующих в метаболизме гомоцистеина, на который особое влияние оказывает фолиевая кислота [4, 6].

Фермент метионин-синтаза-редуктаза (MTRR) участвует в восстановлении активности

метионин-синтазы (MTR) — фермента, непосредственно осуществляющего метилирование гомоцистеина. Белок MTRR относится к группе флавопротеинов. Он состоит из 698 аминокислот и имеет молекулярную массу 77.7 кДа. Ген MTRR картирован на хромосоме 5 в локусе 5p15.3-p152. В этом гене описаны разные типы мутаций и ряд полиморфных вариантов. Полиморфизм A66G (rs1801394) (замена аденина на гуанин в кодирующей области гена, приводящая к замене изолейцина на метионин в 22 положении полипептида) в 4 раза снижает активность фермента MTRR. Этот полиморфизм очень распространен в популяции: частота гетерозиготных носителей генотипа *A*G составляет около 45,0–50,0%, а гомозиготных *G*G — около 25,0%.

Для молекулярно-генетического исследования мы использовали образцы ДНК, которые были выделены из лимфоцитов периферической венозной крови у 37 больных с врожденной патологией ЧЛО и 46 здоровых пациентов контрольной группы. Пациентов мы выбрали с учетом половой и этнической принадлежности. Для выделения ДНК нами был использован стандартный метод фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфного локуса rs1801394 гена MTRR проводили методом полимеразной цепной реакции в автоматическом режиме с использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров. Силу ассоциаций полиморфных маркеров с риском развития врожденных пороков ЧЛО

оценивали в значениях показателя отношения шансов (oddsratio, OR).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфизму –66A>G гена MTRR в группе больных с ВП ЧЛО (n = 37) и в контрольной группе (n = 46) (табл. 1).

MTRR в отношении риска развития заболевания.

Частота гомозиготного по мутации генотипа *G*G в контроле оказалось равной 29,8%, тогда как у больных составила 30,4%, различия между группами не достоверны.

Сравнительный анализ частот аллелей rs1801394 не выявил существенных различий между группами. У больных ВРГН чаще встречался

vrozhdennoj odnostononnej rassshhelinoj verhnej guby i neba v zavisimosti ot metoda plastiki defekta neba po rezul'tatam anketirovaniya roditelej pacientov // Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika. 2016. № 1 (56). S. 20–22.

2. Фоменко И. В., Филимонова Е. В., Краевская Н. С. Пороки развития зубов у детей с расщелиной губы и неба и здоровых детей: сходство и различие фенотипов // Стоматология детского возраста и профилактика. 2016. № 4 (59). С. 70–72.

Fomenko I. V., Filimonova E. V., Kraevskaja N. S. Poroki razvitiya zubov u detej s rassshhelinoj guby i neba i zdorovyh detej: shodstvo i razlichie fenotipov // Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika. 2016. № 4 (59). S. 70–72.

3. Чуйкин С. В., Топольницкий О. З., Персин Л. С. Врожденная расщелина верхней губы и неба. - Saarbruchen: LapLambert Academic Publishing, 2012. - 584 с. Chujkin S. V., Topol'nickij O. Z., Persin L. S. Vrozhdenaja rassshhelina verhnej guby i neba. - Saarbruchen: LapLambert Academic Publishing, 2012. - 584 s.

4. Чуйкин С. В., Викторов С. В., Чуйкин О. С. Применение генетических маркеров в прогнозировании стоматологических заболеваний. - Saarbruchen: LapLambert Academic Publishing, 2013. - 352 с.

Chujkin S. V., Viktorov S. V., Chujkin O. S. Primenenie geneticheskikh markerov v prognozirovanii stomatologicheskikh zabolevanij. - Saarbruchen: LapLambert Academic Publishing, 2013. - 352 s.

5. Чуйкин С. В., Топольницкий О. З. Лечение врожденной расщелины губы и неба. - М.: Московский издательский дом, 2017. - 584 с. Chujkin S. V., Topol'nickij O. Z. Lechenie vrozhdennoj rassshcheliny guby i neba. - M.: Moskovskij izdatel'skij dom, 2017. - 584 s.

6. Чуйкин С. В., Шайхутдинова Д. И., Викторова Т. В. Роль генетических факторов в развитии различных нозологических форм врожденных расщелин губы и неба // Вестник Башкирского университета. 2004. № 4. С. 47–48. Chujkin S. V., Shajhutdinova D. I., Viktorova T. V. Rol' geneticheskikh faktorov v razvitii razlichnyh nozologicheskikh form vrozhdennyh rassshheliny guby i neba // Vestnik Bashkirskogo universiteta. 2004. № 4. S. 47–48.

7. Чуйкин С. В., Аверьянов С. В. Распространенность зубочелюстных аномалий у детей в регионе с развитой нефтехимической промышленностью – Республике Башкортостан // Стоматология детского возраста и профилактика. 2007. № 3. С. 75–78.

Chujkin C. V., Averbjanov S. V. Rasprostranennost' zubochelestnykh anomalij u detej v regione s razvitoj neftehimicheskoj promyshlennost'ju – Respublike Bashkortostan // Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika. 2007. № 3. S. 75–78.

Таблица 1. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей полиморфного локуса –66A>G гена MTRR у детей с ВП ЧЛО

MTRR	Основная группа		Контрольная группа		χ2	p	OR	CI (95%)
	Абс.	Частота (%)	Абс.	Частота (%)				
Генотипы								
AA	12	32,4	5	10,9	4,61	0,030	3,94	1,1-14,75
AG	14	37,8	27	58,7	2,78	0,095	0,43	0,16-1,14
GG	11	29.8	14	30.4	0.0005	1.0005	0.97	0.34-2.75
Всего	37	100	46	100	—	—	—	—
Аллели								
A	38	51,0	37	40,2	1,63	0,20	1,57	0,81-3,05
G	36	49,0	55	59,8	0.93	0,34	0,64	0,33-1.24
Всего	74	100	92	100	—	—	—	—

* В таблице курсивом выделены ячейки с достоверными различиями между группами.

На первоначальном этапе с помощью онлайн-калькулятора был проведен расчет соответствия распределения частот аллелей и генотипов в выборке равновесию Харди-Вайнберга. Полученное при этом значение $p > 0,05$ говорит о выполнении условий данного равновесия и дает возможность интерпретировать результаты, полученные при обследовании данной выборки.

Анализ распределения частот генотипов rs1801394 показал, что в обеих группах чаще встречается гетерозиготный генотип *A*G, в контроле – 58,7%, что несколько выше, чем среди больных, – 37,8%, однако различия статистически не достоверны ($\chi^2 = 2,78$; $p = 0,095$).

Вместе с тем у больных выявлена достоверно высокая частота гомозиготного по мутации генотипа *A*A, частота которого составила 32,4% против 10,9% в контроле ($\chi^2 = 4,61$; $p = 0,030$). При расчете показателя отношения шансов были получены следующие значения: OR-3,94; CI95%-1,1–14,75, подтверждающие прогностическую значимость генотипа *A*A полиморфного локуса rs1801394 гена

ся аллель *A 51,0%, против 40,2% в контроле. Напротив, частота аллеля *C — 49,0% у больных, против 59,8% в контроле.

Таким образом, генетическим маркером заболевания является генотип *A*A полиморфного локуса –66A>G гена MTRR.

ВЫВОДЫ

Генетическим маркером заболевания является генотип *A*A полиморфного локуса rs1801394 гена MTRR. Полученные результаты позволяют использовать полиморфный локус rs1801394 гена MTRR в прогнозировании врожденной патологии челюстно-лицевой области.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фоменко И. В., Филимонова Е. В., Касаткина А. Л., Краевская Н. С. Оценка качества жизни детей с врожденной односторонней расщелиной верхней губы и неба в зависимости от метода пластики дефекта неба по результатам анкетирования родителей пациентов // Стоматология детского возраста и профилактика. 2016. № 1 (56). С. 20–22. Fomenko I. V., Filimonova E. V., Kasatkina A. L., Kraevskaja N. S. Ocenka kachestva zhizni detej s vrozhdennoj odnostononnej rassshhelinoj verhnej guby i neba v zavisimosti ot metoda plastiki defekta neba po rezul'tatam anketirovaniya roditelej pacientov // Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika. 2016. № 1 (56). S. 20–22.

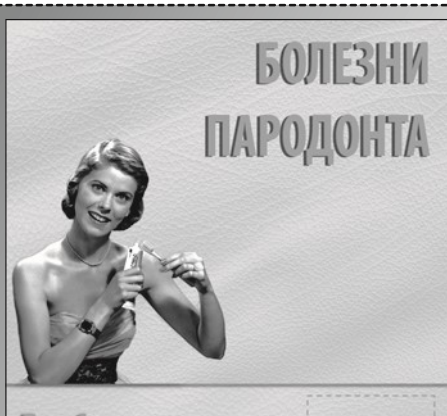
8. Чорна Л. Б., Акопян Г. Р., Макух Г. В., Федорик И. М. Апельный полиморфизм генов MTHFR, MTR TA, MTRR у пациентов с щелинами верхней губы та/або піднебіння і у їхніх матерів // Цитология и генетика. 2011. № 3. С. 51–56.
9. Jiang, C., Yin, N., Zhao, Z., Wu, D., Wang, Y., Li, H., & Song, T. Lack of Association between MTHFR, MTR, MTRR, and TCN2 Genes and Nonsyndromic CL±P in a Chinese population: case-control study and meta-analysis // The Cleft Palate-Craniofacial Journal. 2015. № 52 (5). P. 579–587. - doi:10.1597/14.067.
10. Motta L., Huanca J. Presurgical nasoalveolar molding therapy in patients with bilateral cleft lip and palate // Journal of Cleft Lip Palate and

- Craniofacial Anomalies. 2017. № 4 (3). P. 195. - doi:10.4103/jclpca.jclpca_80_17.
11. Murthy J., Gurramkonda V. B., Lakkakula B. V. K. S. Genetic variant in MTRR A66G, but not MTR A2756G, is associated with risk of non-syndromic cleft lip and palate in Indian population // Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology. 2015. № 27 (6). P. 782–785. - doi:10.1016/j.ajoms.2015.04.008.
12. Nair L., Singh A., Prasad V., Kumar K. Comparison of oral and dental health status in patients with or without cleft lip and palate deformities undergoing orthodontic treatment // Journal of Cleft Lip Palate and Craniofacial Anomalies. 2016. № 3 (2). P. 73. - doi:10.4103/2348-2125.187509.

13. Wagner T. Developing a new scissor for cleft surgery: The cleft palate dissection scissor // Journal of Cleft Lip Palate and Craniofacial Anomalies. 2017. № 4 (2). P. 170. - doi:10.4103/jclpca.jclpca_25_17.
14. Wang, W., Jiao, X.-H., Wang, X.-P., Sun, X.-Y., & Dong, C. MTR, MTRR and MTHFR Gene Polymorphisms and Susceptibility to Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. 2016. № 20 (6). P. 297–303. - doi:10.1089/gtmb.2015.0186.

Поступила 11.05.2018

Координаты для связи с авторами:
marselg@list.ru



«Болезни пародонта»
Автор: А.Ю. Февралева

ООО «Поли Медиа Пресс» КНИЖНАЯ ПОЛКА
представляет брошюру в помощь врачу при работе с пациентом
(издание четвертое)

**48 страниц,
более 50 фотографий.**

Брошюра содержит страницу пациента, где размещаются график посещений, рекомендации и назначения врача. Врач наглядно может объяснить причины возникновения, профилактику и этапы лечения заболеваний пародонта.

**Издание максимально
повысит знания вашего пациента
о заболеваниях пародонта.**

**Заказ: (495) 781-2830, 956-93-70, (499) 678-26-58,
(903)-969-0725, dostavka@stomgazeta.ru**

СТИЛЬ • БЕЗОПАСНОСТЬ • КОМФОРТ

hogies™

**НАДЕЖНАЯ ЗАЩИТА
ГЛАЗ ВРАЧА
И ПАЦИЕНТА**



STOMPROM.RU
уполномоченный представитель в России

Тел.: 8 800 200 6131 (звонок по РФ бесплатный)
e-mail: sale@stomprom.ru, www.stomprom.ru