

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И. М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Путинцева Анна Викторовна

**Фармакогенетические подходы к оптимизации прегравидарной подготовки
фолатами**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Ших Евгения Валерьевна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Этиопатогенетическая роль фолат-дефицитных состояний в развитии врожденных пороков и акушерских осложнений.....	14
1.2. Клинико-фармакологические характеристики основных форм фолатов.....	17
1.3. Гены метаболизма фолиевой кислоты и витамина В ₁₂	23
1.3.1. Полиморфизмы гена метилен-тетрагидрофолат-редуктазы: <i>MTHFR-C677T</i> и <i>MTHFR-A1298C</i>	24
1.3.2. Полиморфизмы гена В ₁₂ -зависимой метионин-синтазы: <i>MTR-A2756G</i>	26
1.3.3. Полиморфизмы гена метионин-синтазы-редуктазы: <i>MTRR-A66G</i>	26
1.4. Взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла с гипергомоцистеинемией.....	27
1.5. Этиопатогенетическая роль В ₁₂ -дефицитных состояний в развитии врожденных пороков и акушерских осложнений.....	31
1.6. Современные стратегии фолатной поддержки.....	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1. Организация исследования.....	39
2.2. Характеристика пациентов, включенных в исследование.....	45
2.3. Методы исследования.....	50
2.3.1. Клинические методы исследования.....	50
2.3.2. Лабораторные исследования.....	51
2.4. Оценка комплаентности.....	56
2.5. Статистическая обработка.....	56
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	58
3.1. Распространенность полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла <i>MTHFR-C677T</i> , <i>MTHFR-A1298C</i> , <i>MTR-A2756G</i> , <i>MTRR-A66G</i> у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.....	58

3.2. Уровни фолатов, гомоцистеина, витамина В ₁₂ крови у женщин, с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла <i>MTHFR-C677T</i> , <i>MTHFR-A1298C</i> , <i>MTR-A2756G</i> , <i>MTRR-A66G</i> до проведения прегравидарной подготовки.....	61
3.3. Взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла <i>MTHFR-C677T</i> , <i>MTHFR-A1298C</i> , <i>MTR-A2756G</i> , <i>MTRR-A66G</i> и риска развития осложнений беременности.....	63
3.4. Динамика уровня фолатов, гомоцистеина, витамина В ₁₂ в крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла <i>MTHFR-C677T</i> , <i>MTHFR-A1298C</i> , <i>MTR-A2756G</i> , <i>MTRR-A66G</i> на фоне применяемых схем фолатной поддержки.....	66
3.4.1. Динамика уровня фолатов в сыворотке крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки.....	66
3.4.2. Динамика уровня гомоцистеина в плазме крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки.....	71
3.4.3. Динамика уровня витамина В ₁₂ в сыворотке крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки.....	76
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	97
ВЫВОДЫ.....	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Профилактика врожденных пороков развития (ВПР) и осложнений беременности является одной из основных задач подготовки к беременности. Международные и отечественные профессиональные ассоциации едины в своих рекомендациях: необходима дотация фолиевой кислоты для устранения фолат-дефицитного состояния, что снижает риски развития ВПР и осложнений беременности [17; 114].

Однако биодоступность фолатов из пищи и фолат-содержащих препаратов варьирует в зависимости от однонуклеотидных полиморфизмов (*SNP*) генов, кодирующих активность основных ферментов фолатного цикла: *MTHFR-C677T (rs 1801133)*, *MTHFR-A1298C (rs 1801131)*, *MTR-A2756G (rs 1805087)*, *MTRR-A66G (rs 1801394)*. В результате у пациентов с гетерозиготным и гомозиготным вариантами носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла функция ферментов снижается. Полиморфизмы этих генов широко распространены; например, частота гетерозиготного генотипа *MTHFR-C677T* достигает 50% [123]. Однонуклеотидные полиморфизмы *SNP* являются одними из основных причин фолатного дефицита, гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и связанных с ними осложнений беременности: ВПР, преждевременные роды, отслойка плаценты, задержка роста плода, преэклампсия [161]. Фолатный обмен включает преобразование фолиевой кислоты до 5-метилтетрагидрофолата (*5-MTHF*). *5-MTHF* совместно с витамином В₁₂ участвует в метилировании гомоцистеина. Витамин В₁₂ является кофактором для метионинсинтазы (*MTR*) и метионинсинтазредуктазы (*MTRR*), участвующих в этом процессе [115].

Фолиевая кислота (ФК) и кальциевая соль 5-метилтетрагидрофолата (*5-MTHF*) широко используются для прегравидарной подготовки. ФК является стандартом, доказанно повышает уровень фолатов и снижает гомоцистеин [143], но требует ферментативного превращения, что может быть затруднено при

полиморфизмах *MTHFR*. В отличие от ФК, *5-MTHF* уже активен, не требует ферментативного превращения, не маскирует дефицит В₁₂ и эффективно поддерживает фолатный статус у женщин с полиморфизмами и способен компенсировать сниженную активность фермента *MTHFR* у женщин с полиморфизмом этого гена [123, 143].

Степень разработанности темы исследования

Отсутствует согласованность в стратегиях фолатной поддержки, предложенных международными и отечественными экспертами. Протокол ассоциации МАРС «Прегавидарная подготовка» (2024) [31] и клинические рекомендации Минздрава РФ «Нормальная беременность» (2023) [17] предлагают проводить фолатную поддержку ФК без учета генетических особенностей, что может быть неэффективным для женщин с полиморфизмами *MTHFR*. В то же время международные рекомендации профессиональных сообществ, таких как Общество акушеров и гинекологов Канады [219], Международная федерация акушеров и гинекологов [125], предлагают сочетание фолатов и витамина В₁₂, учитывая риски, связанные с полиморфизмами. Отсутствие данных о применении *5-MTHF* в адекватных дозах и его комбинации с витамином В₁₂ у женщин с полиморфизмами *MTHFR* требует дополнительных исследований. Учет генетических особенностей пациенток может повысить эффективность профилактических мер и снизить риск осложнений беременности.

Цель и задачи исследования

Разработка фармакогенетического подхода к персонализации прегавидарной подготовки путем применения различных схем микронутриентной поддержки фолатами.

1. Изучить распространенность полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.

2. Проанализировать взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* с уровнем фолатов, гомоцистеина, витамина В₁₂ в крови у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.

3. Изучить ассоциацию полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* и риск развития осложнений беременности.

4. Изучить динамику уровня фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови и проанализировать полученные результаты у женщин при прегравидарной подготовке ФК или кальцием L-метилфолатом с цианокобаламином в составе ВМК с учетом носительства минорных аллелей основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

5. Разработать фармакогенетический подход к персонализации прегравидарной подготовки фолатами.

Научная новизна

Впервые проведено изучение частоты встречаемости полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы г. Москвы, планирующих беременность и сопоставление полученных результатов с уровнем фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови.

Впервые проведено сравнительное изучение динамики уровня фолатов, ГЦ и витамина В₁₂ при применении схем прегравидарной подготовки с использованием ФК или кальция L-метилфолата у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.

Впервые проведен сравнительный анализ достижения целевого уровня фолатов при применении различных схем фолатной поддержки в прегравидарный период в зависимости от генетических особенностей – вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

Впервые изучена ассоциация полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* и риска развития осложнений беременности у наблюдающихся женщин.

Впервые предложена оптимизация прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток с учетом носительства минорных аллелей основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучена распространенность полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы, планирующих беременность.

Проанализирована взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* с уровнем фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови. Показано, что наличие полиморфизмов генов *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* является фактором риска развития осложнений беременности.

Изучена динамика уровня фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови женщин европеоидной расы, при проведении прегравидарной подготовки ФК или кальцием L-метилфолатом и цианокобаламином в составе ВМК у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

Проведена оценка риска развития фолат-дефицитных состояний и связанных с ними осложнений беременности при использовании различных схем прегравидарной подготовки.

Предложена схема оптимизации прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в соответствии с требованиями и правилами доказательной медицины, ориентированными на достижение высоких стандартов в клинической практике. В работе применены следующие методы диагностики: клинические, инструментальные и лабораторные.

В исследование включено 200 женщин европеоидной расы в возрасте от 20 до 40 лет, обратившихся в амбулаторно-поликлинические учреждения г. Москвы с целью прегравидарной подготовки.

Клиническое исследование было проведено в строгом соответствии с Хельсинской декларацией, выдвинутой Всемирной медицинской ассоциацией «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с изменениями от 2013 года и приказом №266 Минздрава РФ от 19.06.2003 года, регламентирующим «Правила клинической практики в Российской Федерации».

Исследование в рамках диссертационной работы одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 14–22 от 07.07.2022 года.

Личный вклад автора

Автор внес значительный вклад в выполнение диссертационного исследования на всех этапах работы, таких как: определение темы исследования, проведение отбора и анализа отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, составление алгоритма обследования, включение и наблюдение пациенток, сбор анамнеза. Провел физикальные и инструментальные исследования, включая регистрацию антропометрических данных, оценку жизненно важных показателей (частоты сердечных сокращений, уровня артериального давления, частоты дыхания). Собрал образцы крови с целью проведения клинического и биохимического анализа, оценки уровня фолатов, гомоцистеина, цианкобаламина в крови, а также для определения полиморфизмов генов, кодирующих основные ферменты фолатного цикла: *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

Автор сформировал базу данных, провел их статистическую обработку, сформулировал основные научные положения диссертационной работы, выводы и практические рекомендации. Подготовил лично и в соавторстве публикации по материалам проведенного исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Полиморфизм генов *MTHFR-C677T* (rs 1801133), *MTHFR-A1298C* (rs 1801131), *MTR-A2756G* (rs 1805087), *MTRR-A66G* (rs 1801394) ассоциирован с повышенным уровнем гомоцистеина и пониженным уровнем фолатов. Полиморфизм генов *MTHFR-C677T* (rs 1801133), *MTHFR-A1298C* (rs 1801131), *MTR-A2756G* (rs 1805087) ассоциирован с низким уровнем витамина B12.

2. У женщин с генотипами, при которых отсутствует носительство минорной аллели *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*, и у женщин с генотипами *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG* оба режима микронутриентной фолатной коррекции, кальция L-метилфолат и цианкобаламин в составе ВМК и

монопрепарат фолиевой кислоты эффективно поддерживают оптимальный уровень фолатов и гомоцистеина.

3. У женщин с гетерозиготным вариантом носительства минорной аллели, с генотипом *MTR-2756AG* предпочтителен режим кальция L-метилфолат и цианокобаламин в составе ВМК, так как более быстро достигается целевой уровень фолатов и ГЦ (1 месяц по сравнению с 3 месяцами применения монопрепарата ФК).

4. У женщин с гомозиготным вариантом носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66GG*, а также у женщин с генотипом *MTHFR-1298AC* целесообразно использовать только режим кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК, так как применение монопрепарата ФК не приводит к достижению целевого уровня фолатов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационного исследования соответствуют паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, пунктам данной специальности 6, 10, 13, 20. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность выводов проведенного диссертационного исследования обусловлена за счет включения достаточного количества пациентов, однородностью исследуемой группы, проведением клинических, инструментальных обследований, применением современных диагностических лабораторных методов исследования, включающих генотипирование.

Результаты были проанализированы с помощью рекомендуемых статистических методов для медико-биологических исследований.

Научные методы анализа полностью соответствуют поставленным задачам. Практические рекомендации и выводы основаны на полученных данных и соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

Исследование в рамках диссертационной работы одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 14-22 от 07.07.2022 года.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

1. Всероссийская научно-образовательная конференция «Путь к рождению здорового малыша» (5 апреля 2023 года, Ярославль);
2. VI Российская школа молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии (16–17 мая 2023 года, Москва);
3. Российский конгресс «Безопасность фармакотерапии 360°: NOLI NOCERE!» (19 мая 2023 года, Москва);
4. Всероссийская общеобразовательная конференция «Современные тренды поддержки репродуктивного здоровья женщины» (17 мая 2024 года, Ярославль).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Протокол № 1 от 28.08.2024 г.

Внедрение результатов в практику

Основные научные положения, выводы и рекомендации данного диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ

имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). Акт внедрения №451 от 04.07.2024 года. Результаты работы внедрены в клиническую практику лечебно-диагностического отделения частного учреждения здравоохранения «Центральная клиническая больница «РЖД-Медицина»» при проведении прегравидарной подготовки. Акт внедрения б/н от 23.05. 2024 года.

Связь диссертации с основными научными темами

Диссертационное исследование выполнено согласно научно-исследовательской программе кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). На заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) была утверждена тема научно-исследовательской работы (протокол №10).

Публикации по теме диссертации

По теме и результатам диссертации опубликовано 5 печатных работ, включая 2 печатные работы в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus; 1 иная публикация.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из нескольких частей: введение, четыре главы, включая обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, заключение, выводы и практические рекомендации, а также список использованной литературы. Каждая часть выполняет свою роль в создании полного исследовательского отчета, подтверждающего качество и глубину исследования проблемы.

Работа представлена на 131 страницах печатного текста, содержит 18 таблиц, 9 рисунков. Список литературы включает 222 литературных источника, из них 55 отечественных, 167 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Этиопатогенетическая роль фолат-дефицитных состояний в развитии врожденных пороков и акушерских осложнений

Фолиевую кислоту и фолаты (витамин В₉) относят к водорастворимым витаминам группы В, они необходимы для участия в одноуглеродном обмене [1, 14, 47]. Фолатные коферменты представляют собой доноры и акцепторы одноуглеродных фрагментов в реакциях метаболизма нуклеиновых кислот, аминокислот [100].

Недостаточное поступление с пищей, пониженное усвоение, увеличение физиологической потребности во время беременности являются наиболее частыми причинами дефицита фолиевой кислоты, поэтому о профилактике фолатной недостаточности целесообразно подумать заранее, пользуясь способностью организма создавать резерв жизненно необходимых веществ и обеспечивать стратегический запас фолатов в тканях [19, 40 - 43, 85, 100, 106, 114, 115].

Уровень фолатов у женщин репродуктивного возраста анализировался в систематическом обзоре, включившем 45 исследований в 39 странах. Обзор подтвердил, что дефицит фолатов является проблемой, которая варьируется в зависимости от уровня дохода населения. Во многих странах с низким уровнем дохода распространенность фолатного дефицита составляет более 20%. С другой стороны, в странах с более высоким уровнем дохода распространенность дефицита фолатов значительно ниже и составляет менее 5% [124].

Беременная женщина является единственным источником фолатов для плода, поэтому оптимальный фолатный статус определяет здоровье как женщины [51, 52], так и ее будущего ребенка [46-51, 199]. Подтверждено, что дефицит фолатов увеличивает риск развития врожденных аномалий и осложнений беременности (выкидыш, преждевременные роды, преэклампсия, гипертензия, отеки и др.) [6, 19, 43, 44, 161].

Фолиевая кислота и врожденные пороки развития.

Доказано, что адекватное потребление фолатов необходимо для предотвращения врожденных пороков развития, таких как дефекты нервной трубки (ДНТ) [5, 27, 69, 82, 109, 117], а также других нарушений развития нервной системы [84, 85, 91, 106, 194]. Распространенность дефектов нервной трубки составляет порядка 320 000 живорождений во всем мире в год, а показатель заболеваемости колеблется от 0.03 до 20 на 1 000 рождений в зависимости от географического региона [91, 194]. Фолиевая кислота способствует закрытию нервной трубки, усиливая клеточную пролиферацию [26, 60, 85, 217]. Это важный кофактор в одноуглеродном метаболизме, опосредованном фолиевой кислотой, и в эпигенетической регуляции транскрипции генов, которые контролируют закрытие нейронов [100, 104, 109].

Фолиевая кислота и преэклампсия.

Фолаты являются производными фолиевой кислоты, участвующими в реакциях переноса одноуглеродных групп. Прямо или опосредованно они участвуют во всех видах обмена, синтезе нейромедиаторов, компонентов клеточных мембран, делении клеток, профилактике гипергомоцистеинемии [112, 161]. Фолиевая кислота может корректировать гипергомоцистеинемию путем оптимизации пути гомоцистеина [116], таким образом, она может играть роль в снижении частоты гестационной гипертензии или преэклампсии [113]. Исследования в США и Канаде подтвердили эту гипотезу, показывая снижение риска гестационной гипертензии и преэклампсии за счет приема фолиевой кислоты [168, 191]. Мета-анализ 13 когортных исследований и 1 рандомизированного контролируемого исследования, в котором приняли участие 309 882 беременных женщин, показал, что прием фолиевой кислоты в составе поливитаминов во время беременности может значительно снизить риск развития преэклампсии [201].

Фолиевая кислота и задержка роста плода.

Задержка роста плода (далее - ЗРП) – это термин, используемый для описания плодов с предполагаемой массой тела менее десятого перцентиля для гестационного возраста. Рост плода зависит от питания матери в основном в период до зачатия и на ранних сроках беременности. Фолиевая кислота (далее – ФК) имеет

решающее значение в синтезе белков, ДНК и липидов посредством гомоцистеинового пути и является важным фактором для эпигенетических механизмов. Кроме того, по мере прогрессирования беременности потребность в фолиевой кислоте и ее метаболизм увеличиваются из-за роста и развития плаценты и плода [34]. В Кокрейновском обзоре, опубликованном в 2013 году, сообщается о положительной связи между приемом фолиевой кислоты и улучшением средней массы тела при рождении (далее - МТ), но не было отмечено значительного влияния на МТ менее 2500 г [111]. В систематическом обзоре К. Fekete с соавторами также наблюдалось влияние ФК на абсолютную массу тела новорожденных [94]. Обнаружена взаимосвязь между потреблением ФК и массой тела ребенка при рождении [203]. Исследование R. Generation, проведенное в Нидерландах с 2002 по 2006 год, раскрыло новые факты о взаимосвязи между потреблением ФК и массой тела ребенка при его рождении, доказано, что прием ФК до зачатия положительно влияет на развитие плаценты и вес новорожденного [166]. Диапазон потребления ФК в этом исследовании составлял 0,4–5 мг/день. Снижение риска задержки роста плода ассоциирован с применением фолатов в прегравидарном периоде (ОШ: 0,43; 95% ДИ: 0,28–0,69) и (ОШ: 0,40; 95% ДИ: 0,22–0,72) соответственно [166].

Фолиевая кислота и преждевременные роды [9,188].

Результаты мета-анализа 2019 года продемонстрировали, что более высокий уровень фолатов у матери связан со снижением риска преждевременных родов на 28% (ОР 0,72, 95% ДИ 0,56–0,93). Более высокое потребление фолиевой кислоты связано со снижением риска преждевременных родов на 10% (ОР 0,90, 95% ДИ 0,85–0,95). Кроме того, наблюдалась значимая отрицательная связь между потреблением фолиевой кислоты и риском преждевременных родов (ОР 0,68, 95% ДИ 0,55–0,84) [108]. Японскими исследователями в 2023 году было проанализировано 55 203 беременностей, закончившихся родами [63]. Достоверно доказано, что дефицит ФК во время беременности является фактором риска преждевременных родов [176]. Крупное когортное исследование, в котором участвовало 172 206 пациенток, выявило, что прием ФК в период подготовки к

беременности и в I триместре значительно снижает вероятность возникновения преждевременных родов [115].

1.2. Клинико-фармакологические характеристики основных форм фолатов

При коррекции фолатного дефицита необходимо учитывать биохимическую форму фолата, т. к. фолат – это общий термин для семейства соединений, включающих фолиевую кислоту и ее производные, которые содержат птероильную группу [36].

Природные пищевые фолаты представляют собой группу водорастворимых полиглутамат-тетрагидрофолатных витаминов группы В (главным образом метил-тетрагидрофолаты и формил-тетрагидрофолаты) [71].

В клинической практике доступны к применению ФК и кальция L-метилфолата (кальциевая соль 5-метил-тетрагидрофолиевой кислоты, далее - 5-МТГФ) [19, 24, 40, 90, 94, 106, 206].

Важно обратить внимание, что ФК или птероилглутаминовая кислота – это молекула синтетического производства, которой не существует в природе, она состоит из двух основных звеньев: птероильной группы, связанной с остатком глутаминовой кислоты. ФК наиболее часто используется в качестве пищевой добавки для обогащения пищевых продуктов, она является окисленным синтетическим водорастворимым представителем семейства витаминов группы В9 [47].

5-МТГФ представляет собой биологически активную форму фолиевой кислоты. Это наиболее распространенная форма, обнаруживаемая в плазме, на долю которой приходится более 90% фолатов, и она является преобладающим активным метаболитом принимаемой внутрь фолиевой кислоты [47, 79].

К применению доступна кальциевая соль L-5-МТГФ (кальция L-метилфолат – синтетическое производное, созданное на базе 5-МТГФ) [47, 118].

Доказано, что уровень фолатов в материнской и пуповинной крови тесно взаимосвязан, а 5-МТГФ является основной формой фолатов в пуповинной крови

(в среднем 89,4% от общего количества фолиевой кислоты), концентрация 5-МТГФ в сыворотке пуповинной крови примерно в два раза выше, чем в сыворотке матери [80]. Следовательно, прием 5-МТГФ во время беременности может обеспечить непосредственный источник фолиевой кислоты для транспортировки к плоду. Исследования подтверждают выраженное влияние 5-МТГФ на фолатный статус. Уровень фолатов сыворотки крови и эритроцитов был протестирован А.Ж. Уайт с соавторами при применении пищевых фолатов, ФК и 5-МТГФ в течение 16 недель. Увеличение концентрации фолатов в сыворотке крови и эритроцитах, наблюдаемое после потребления пищевых фолатов, было ниже, чем после приема ФК или 5-МТГФ в течение 16 недель [79]. Неметаболизированная фолиевая кислота (далее - НФК) обнаруживается в сыворотке крови пациентов, получавших ФК (в среднем 0,2 нмоль/л), но не у тех, кто применял 5-МТГФ [58], А.Ж. Уайт и соавторы рекомендуют качестве эталонного фолата для оценки биодоступности ФК с пищей использовать 5-МТГФ, а не ФК [79].

Соответственно, 5-МТГФ (416 мкг/сут) может повышать [187] или поддерживать [57] концентрацию фолатов в эритроцитах в значительно большей степени, чем ФК.

Рандомизированное плацебо-контролируемое исследование, в котором участвовало 144 женщины репродуктивного возраста, продемонстрировало эффективность 5-метилтетрагидрофолата (5-МТГФ) [202]. Пациентки были разделены на четыре группы в зависимости от дозы и формы принимаемого фолата: 416 мкг 5-МТГФ, 208 мкг 5-МТГФ, 400 мкг ФК или плацебо. Через 4 недели после начала приема препаратов наблюдалось повышение общего уровня фолатов в крови и снижение уровня ГЦ во всех группах. Группы, получавшие 208 мкг 5-МТГФ или 400 мкг ФК, показали схожий эффект снижения уровня ГЦ в плазме крови. Увеличение содержания фолатов в эритроцитах и сыворотке крови было значительно выше при использовании 416 мкг 5-МТГФ, чем 400 г ФК или 208 мкг 5-МТГФ ($P < 0,001$). Результаты подтверждают, что применение 5-МТГФ может быть эффективной и безопасной альтернативой ФК [202].

Независимые исследования продемонстрировали, что 5-МТГФ обладает более высокой биодоступностью по сравнению с фолиевой кислотой, независимо от генотипа пациента [56, 169]. Биодоступность и метаболизм фолатов различаются из-за их молекулярной структуры. По оценкам исследователей, биодоступность пищевых фолатов составляет около 50%, поскольку они должны быть гидролизованы в процессе переваривания в кишечнике гидролазой щеточной каймы [195, 222]. И наоборот, ФК является моноглутаматом и может всасываться как таковая. В условиях голодания ФК биодоступна почти на 100%, а при употреблении с пищей ее биодоступность составляет примерно 85%. Финально, все формы фолатов метаболизируются до 5-метилтетрагидрофолата (5-МТГФ) [11]. Однако, в отличие от пищевых фолатов, ФК не активна как кофермент и сначала должна быть преобразована в метаболически активную форму – тетрагидрофолат ТГФ в ходе двухэтапной реакции с помощью дигидрофолатредуктазы (*DHFR*). Затем тетрагидрофолат метилируется до 5-МТГФ с помощью метилентетрагидрофолат-редуктазы (*MTHFR*). 5-МТГФ не требует преобразований с помощью *DHFR* и может сразу поступать в кровоток непосредственно для использования клетками организма [28].

На Рисунке 1 подробно демонстрируются особенности процесса усвоения различных форм фолатов в кишечнике. Пищевые фолаты гидролизуются в процессе переваривания до моноглутаматной формы. ФК восстанавливается до тетрагидрофолата в двухступенчатой реакции с помощью фермента *DHFR*. L-метилфолат сразу же используется в организме в виде 5-МТГФ. Пищевые фолаты, так и ФК в конечном счете, метаболизируются до 5-МТГФ с помощью *MTHFR* [11, 170].

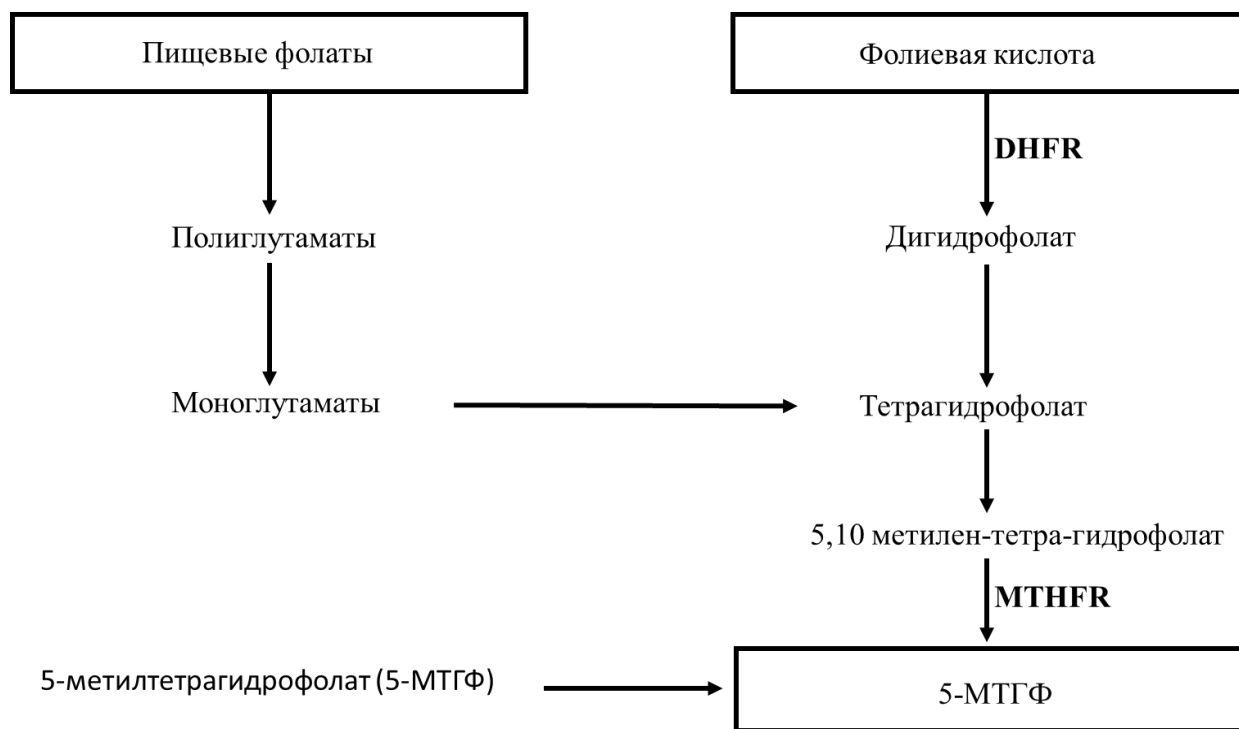


Рисунок 1 – Всасывание в кишечнике природных фолатов и синтетической фолиевой кислоты [170]

Фермент дигидрофолатредуктаза *DHFR* обладает слабой активностью, применение ФК в больших дозировках может привести к синдрому, который в настоящее время известен как синдром неметаболизированной фолиевой кислоты (далее - СНФК). Определяемые уровни неметаболизированной фолиевой кислоты временно появляются в крови после потребления более 200 мкг ФК, причем концентрация увеличивается параллельно с концентрацией общего уровня ФК после приема. НФК была обнаружена в пуповинной крови и крови младенцев, что вызывает беспокойство из-за потенциальных неблагоприятных последствий для здоровья, НФК оказывает негативное влияние на деятельность нервной системы и увеличивает риск развития онкологических заболеваний. Поэтому многие исследователи считают, что ФК в высоких дозировках для нивелирования неблагоприятных эффектов лучше заменить на 5-МТГФ. Необходимо отметить тесное взаимодействие между циклом фолатов и одноуглеродным циклом [118]. ФК в цикле не участвует, участвует только ее восстановленное производное, т. е. на входе ФК в цикл фолатов возникает первый «блок»: активности

дигидрофолатредуктазы (далее – ДГФР), необходимой для образования ТГФ, недостаточно [70]. Второй «блок» может возникнуть на уровне *MTHFR*, когда присутствуют однонуклеотидные полиморфизмы *MTHFR*, особенно генотип *MTHFR-677TT*. Это приводит к образованию и накоплению 5–10-МТГФ. Другим критическим моментом является конкуренция между НФК и 5-МТГФ за рецепторы и транспортеры. Полиморфизмы на уровне метионинсинтазы нарушат рециркуляцию ГЦ [70].

НФК и 5-МТГФ конкурируют за транспортировку в ткани транспортерами фолатов (восстановленный переносчик фолата и связанный с протоном переносчик фолата) и фолатными рецепторами. ТГФ участвует в синтезе ДНК и репарации ДНК посредством синтеза пуринов и тимидилата. Эти два цикла являются ключевыми для процесса метилирования, они также важны для защиты метильных групп от окислительного стресса. Однако эффективность эти циклов снижается из-за наличия полиморфизмов [70, 71].

Важную роль в одноуглеродном цикле играет 5-метилтетрагидрофолат (5-МТГФ), который является субстратом для синтеза метионина метионинсинтазой (*MS*). Снижение активности *MS* на этом этапе может привести к неблагоприятным метаболическим последствиям, таким как развитие синдрома «Фолатной ловушки». Остановка фолатного цикла возникает при дефиците витамина В₁₂, так как витамин В₁₂ является обязательным кофактором для метионинсинтазы (*MS*). Синдром «Фолатной ловушки» характеризуется повышением уровня циркулирующего ГЦ, гиперметионинемии, дефицитом ТГФ и развитием анемии. Следует отметить, что образование ТГФ для пополнения пула ТГФ с помощью синтетических ФК и ДГФР происходит медленно [70]. Таким образом, можно выделить основные характеристики различных форм фолатов [13, 15, 24, 28, 47, 48, 143].

1. Пищевые фолаты. Преимущества: пищевые фолаты представляют собой естественные/натуральные фолаты; не имеют верхнего допустимого уровня потребления и не маскируют дефицит цианкобаламина. Недостатки: имеют низкую биодоступность – около 50%, на их биодоступность оказывает влияние вид, способ

приготовления пищи и наличие сопутствующих питательных веществ; длительное хранение, термическая обработка разрушают фолаты; для оптимального участия в обмене фолатов, необходимо иметь нормальный уровень витаминов В₁₂ и В₆.

2. 5-МТГФ. Преимущества: имеет высокую биодоступность; является основной формой фолатов в тканях и биологических жидкостях организма, поэтому сразу включается в фолатный цикл, не требуя предварительной активации; не маскирует недостаточность цианкобаламина [28]. Недостатки: более высокая стоимость производства 5-МТГФ, чем у других форм ФК; для оптимального участия в обмене фолатов необходимо иметь нормальный уровень витаминов В₁₂ и В₆.

3. Фолиевая кислота. Преимущества: низкая себестоимость, устойчивость к высоким температурам. Недостатки: обнаружение в крови неметаболизированной ФК при применении дозы фолиевой кислоты более 200 мкг/сут, метаболически не активна, должна метаболизироваться в несколько этапов для участия в фолатном цикле, верхний допустимый физиологический уровень потребления составляет 1 мг/сут, противоречивые данные о роли неметаболизированной ФК в крови, более высокие дозы ФК могут маскировать дефицит витамина В₁₂ и отсрочить его диагностику, противоречивые данные о роли высоких доз ФК в развитии осложнений у будущего ребенка (нарушения нервной деятельности: младенческая гиперактивность, эмоциональность, психическая нестабильность, склонность к ожирению) [28], для оптимального метаболизма прием ФК должен сопровождаться нормальным уровнем витаминов В₁₂ и В₆. Уровень фолатов в эритроцитах увеличивается только при приеме более высоких дополнительных доз фолиевой кислоты у пациентов с полиморфизмом *MTHFR-C677T* [190].

Важно отметить следующие особенности применения 5-МТГФ в сравнении с фолиевой кислотой [46, 75]. Во многих исследованиях 5-МТГФ более эффективен в поддержании и/или увеличении уровня фолатов в крови и/или эритроцитах [56, 57, 169, 187], однако есть данные, что эффективность 5-МТГФ была сопоставима с ФК [79]. Эффективность 5-МТГФ и ФК в возможности снижения уровня

гомоцистеина в большинстве исследований сопоставимы [202]. Применение 5-МТГФ не связано с наличием неметаболизированной ФК в крови. Неметаболизированная ФК в крови обнаруживается после применения более 200 мкг/день фолиевой кислоты и может оказывать негативное воздействие на организм человека [58]. Неметаболизированная ФК не имеет никакой биологической функции, необходимы дополнительные исследования для изучения ее эффектов [103]. Применение 5-МТГФ не приводит к появлению неметаболизированной ФК в крови, что очень привлекательно с точки зрения безопасности [58]. Безопасность 5-МТГФ была подтверждена несколькими исследованиями: например, А. Bostom с соавторами [81] исследовали применение 17 мг 5-МТГФ в течение 12 недель в отношении снижения уровня гомоцистеина у пациентов, находящихся на гемодиализе. S. Bentley с соавторами [78] использовали 1,13 мг 5-МТГФ во время беременности в открытом, не рандомизированном исследовании. О каких-либо побочных эффектах не сообщалось и M. Fava с соавторами [101] при применении 7,5 мг и 15 мг 5-МТГФ / день у пациентов с депрессией. Женщины с полиморфизмами демонстрируют лучшее усвоение фолатов в крови при применении 5-МТГФ, поэтому 5-МТГФ предпочтителен у женщин с полиморфизмами ферментов, связанных с фолатным обменом (особенно с полиморфизмами ферментов *MTHFR* и *DHFR*) [23, 169].

1.3. Гены метаболизма фолиевой кислоты и витамина В₁₂

Высокий уровень 5-МТГФ – активной формы ФК – необходим для синтеза аминокислоты метионина из ГЦ, профилактики ГЦ. Для образования 5-МТГФ необходим ряд последовательных процессов, в которые вовлечены множество ферментов, активность которых кодируется генами [99, 142]. Полиморфизмы генов *MTHFR*, *MTRR* и *MTR* обуславливают снижение функциональной активности ферментов фолатного обмена, что может привести к развитию дефицита витаминов группы В, повышению уровня гомоцистеина в плазме крови [7, 10, 11]. Определяют

следующие полиморфизмы основных генов [7, 11, 30], кодирующих активность ферментов фолатного цикла:

1. метилен-тетрагидрофолат-редуктазы (*MTHFR-C677T* и *MTHFR-A1298C*);
2. В₁₂-зависимой метионин-синтазы (*MTR-A2756G*);
3. метионин-синтазы-редуктазы (*MTRR-A66G*).

1.3.1. Полиморфизмы гена метилен-тетрагидрофолат-редуктазы: *MTHFR-C677T* и *MTHFR-A1298C*

Метилен-тетрагидрофолат-редуктаза (*MTHFR*) является важным и тщательно изученным ферментом фолатного цикла [11, 30], который обеспечивает восстановление 5,10-метилен-тетрагидрофолата до 5-метил-тетрагидрофолата. Два полиморфизма данного фермента известны и хорошо исследованы: *MTHFR-C677T* и *MTHFR-A1298C*.

Полиморфизм *MTHFR-C677T* (5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene), имеет аминокислотное обозначение *Ala222Val* и зарегистрирован в базе данных однонуклеотидных полиморфизмов NCBI SNP (The National Center for Biotechnology Information & Single Nucleotide Polymorphism Database) под кодом *rs1801133*. Этот полиморфизм характеризуется заменой цитозина (С) на тимин (Т) в 677 позиции гена (677 С > Т, *rs1801133*), что приводит к замене аминокислоты аланина на валин (*Ala222Val*), снижая активность фермента *MTHFR* [59, 77]. Исследования показали, что у лиц с генотипом *MTHFR-677TT* при гомозиготном носительстве минорного аллеля *T* отмечается снижение активности фермента примерно до 60% [59]. Встречаемость минорного *T*-аллеля высока и составляет в европейской популяции около 70% (*MTHFR-677CC* – 32,9%, *MTHFR-677CT* – 46,6%, *MTHFR-677TT* – 20,5%) [140], в США около 52% (*MTHFR-677CC* – 48%, *MTHFR-677CT* – 41,8%, *MTHFR-677TT* – 10,2%) [61] в Бразилии около 45% (*MTHFR-677CC* – 45,8% *MTHFR-677CT* – 45,13%, *MTHFR-677TT* – 9,04%) [192]. Доказано, что *T*-аллель *MTHFR-677CT* ассоциируется с нарушением фолатного цикла, результатом чего является снижение активности фермента *MTHFR*,

снижение уровня фолатов и повышение уровня ГЦ [174, 205]. Доказано, что у лиц с генотипом *MTHFR-677TT* по сравнению с людьми без полиморфизма, гомозиготными по аллелю *C* (генотип *MTHFR-677CC*) увеличен риск ГЦ в 10 раз, ДНТ у плода в 2 раза, синдрома Дауна [83] и других хромосомных аномалий в 2 раза, ВПР, таких как заячья губа, волчья пасть, в 2 раза [207]. Риск развития ЗРП связан не только с клиническими факторами, но и с наличием полиморфизма гена *MTHFR-C677T*, что подтверждает необходимость определения данного гена у пациенток группы риска [34].

Полиморфизм *MTHFR-A1298C*, аминокислотное обозначение: Glu429Ala, NCBI SNP: rs180113. Этот полиморфизм характеризуется заменой аденина (A) на цитозин (C) в 1298 позиции гена (1298 A > C, rs1801131), что приводит к замене глутаминовой аминокислоты на аланин (Glu429Ala) и снижает активность *MTHFR* [221].

Встречаемость минорного *C*-аллеля высока и составляет в европейской популяции около 53% (*MTHFR-1298AA* – 46,9%, *MTHFR-1298AC* – 45,3%, *MTHFR-1298CC* – 7,8%) [140], в США – около 47,5% (*MTHFR-1298AA* – 52,50%, *MTHFR-1298AC* – 42,7%, *MTHFR-1298CC* – 4,80%) [61]. При гомозиготном и гетерозиготном полиморфизмах отмечается снижение активности МТГФР. При сочетании двух полиморфизмов – минорного аллеля *C* *MTHFR-A1298C* с минорным аллелем *T* *MTHFR-C667T* – снижается уровень фолатов, что соответствует по своему эффекту гомозиготному состоянию генотипа *MTHFR-667TT*. При этом, по данным Н. Zetterberg, риск спонтанного аборта увеличивается в 14 раз, а риск дефектов развития – ДНТ – повышается в 2 раза [141]. Результаты вторичного анализа популяционного исследования случай-контроль, в который было включено 434 женщин, подтвердили, что при гетерозиготном носительстве минорной аллели *C*, женщины с генотипом *MTHFR-1298AC* были подвержены более высокому риску преждевременных родов [175]. Выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости генотипа *MTHFR-1298CC* у женщин с осложненным течением беременности на 20% [2].

1.3.2. Полиморфизмы гена В₁₂-зависимой метионин-синтазы: *MTR-A2756G*

Ген метионин-синтазы (*MTR*) – полиморфизм *MTR-A2756G* (The Methionine synthase gene), аминокислотное обозначение: Asp919Gly, NCBI SNP: rs1805087. Фермент *MTR* осуществляет метилирование ГЦ – обратное превращение ГЦ в метионин. Кофактором в этой реакции является витамин В₁₂ (цианокобаламин). Замена в 2576 позиции гена (2756А > G) аденина (А) на гуанин (G), приводит к замене аспарагиновой кислоты на глицин (Asp919Gly), в результате активность фермента снижается, что является причиной повышения риска развития синдрома Дауна [83,154], ВПР лица, таких как заячья губа, волчья пасть [158].

Распространенность минорного G-аллеля составляет в США около 36% (*MTR-2756AA* – 64%, *MTR-2756AG* – 33%, *MTR-2756GG* – 2,6%) [61], в Бразилии 39% (*MTR-2756AA* – 61,11%, *MTR-2756AG* – 34,72%, *MTR-2756GG* – 4,7%) [192], по результатам генотипирования русской популяции получены следующие результаты: частота *MTR-2756AA* составила 56,9%; *MTR-2756AG* – 34,7%; *MTR-2756GG* – 8,3%, частотное распределение аллелей: 74,3% – А-аллель, 25,7% – минорный G-аллель [12].

Влияние полиморфизма усугубляется повышенным уровнем гомоцистеина и дефицитом витамина В₁₂ [175]. *MTR-A2756G* и *MTRR-A66G* также связаны с последующими рисками для здоровья женщины и ребенка. Так, в исследовании V. Osunkalu с соавторами показано, что наличие генотипа *MTR-2756AG* связано с повышением риска развития преэклампсии [155].

1.3.3. Полиморфизмы гена метионин-синтазы-редуктазы: *MTRR-A66G*

Полиморфизм *MTRR-A66G* (Methionine synthase reductase gene) обозначается как Pe22Met, зарегистрирован в базе данных однонуклеотидных полиморфизмов NCBI SNP под кодом rs180139. Этот ген кодирует аминокислотную последовательность фермента метионин-синтазы редуктазы и необходим для поддержания его активности. В позиции 66 гена *MTRR* (66 А > G, rs 1801394)

происходит замена аденина (А) на гуанин (G), что приводит к замене аминокислоты изолейцина на метионин и снижению функциональной активности фермента *MTRR*.

Одной из важнейших функций этого фермента является синтез метионина из ГЦ. Витамин В₁₂ (цианокобаламин) выступает в роли кофактора этой реакции [208].

Распространенность в США генотипов составляет: *MTRR-66AA* – 33,4%, *MTRR-66AG* – 46,6%, *MTRR-66GG* – 20% [61]; в Бразилии *MTRR-66AA* – 33%, *MTRR-66AG* – 61%, *MTRR-66GG* – 6% [192]; в России частота минорного аллеля G – 51%, *MTRR-66GG* – 31% [45].

Полиморфизм *MTRR-A66G* независимо ассоциирован с повышенным риском развития пороков сердца: дефекта межжелудочковой перегородки [164] и с риском развития ДНТ [172]. Таким образом, у женщин, имеющих носительство минорной аллели генов ферментов фолатного цикла, наблюдается более высокий риск осложнений беременности, а также пороков развития у их потомства.

1.4. Взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла с гипергомоцистеинемией

Гомоцистеин (ГЦ) – это серосодержащая аминокислота, являющаяся продуктом преобразования метионина [161]. Из гомоцистеина может синтезироваться другая аминокислота – цистеин, которая является заменимой. Гомоцистеин не входит в состав белков и поэтому не поступает в организм с пищей. Превращение метионина является единственным источником гомоцистеина в физиологических условиях.

Гомоцистеин – промежуточный метаболит обмена метионина в фолатном цикле [3, 8, 25, 38, 53, 161]. Гомоцистеин может реметилироваться бетаином в качестве донора метильной группы с образованием метионина и диметилглицина, транссульфироваться в цистеин, для чего требуется витамин В₆, или подвергнуться реметилированию до метионина с использованием 5-МТГФ в качестве донора

метильной группы, для чего требуется витамин В₁₂ [86]. 5-МТГФ для реметилирования гомоцистеина требует активности МТГФР.

Следовательно, гомоцистеин находится на пересечении метаболических путей, требующих участия витаминов группы В. При этом совместная устойчивая активность метаболических циклов фолиевой кислоты и метионина жизненно важна для обеспечения эффективного метаболизирования ГЦ во время беременности [49]. Эти метаболические взаимосвязи между двумя циклами подчеркивают необходимость адекватного потребления женщиной метионина, доноров метильной группы (таких как холин и фолиевая кислота) [96], а также витаминов В₁₂, В₆, В₂ во время беременности [146, 163]. Кроме того, концентрация фолиевой кислоты, витаминов В₁₂, В₆, В₂ в пуповинной крови значимо выше, чем в материнской, что интерпретируется как наличие активных транспортных механизмов для каждого из нутриентов через плаценту для удовлетворения потребностей плода и высоких показателей реметилирования и трансметилирования ГЦ, которые происходят по мере развития беременности [86, 146]. Следовательно, недостаточное потребление матерью указанных нутриентов и полиморфизмы генов, приводящие к снижению каталитической активности ферментов, метаболизирующих гомоцистеин, что приводит к сопутствующим нарушениям метаболических путей, связаны с гипергомоцистеинемией [159, 198].

Гипергомоцистеинемия характеризуется повышением концентрации в плазме общего гомоцистеина >10 мкмоль/л (включая как восстановленные, так и окисленные формы гомоцистеина). Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) классифицируется по уровню общего гомоцистеина (ГЦ) в плазме на следующие степени: легкая (10 – 30 мкмоль/л), умеренная (30 – 100 мкмоль/л) и тяжелая (более 100 мкмоль/л) [160].

Повышенные уровни гомоцистеина связаны с различными сосудистыми осложнениями беременности, такими как преэклампсия, отслойка плаценты, невынашивание беременности, задержка развития плода (далее - ЗРП), а также

ВПР, включая дефекты нервной трубки (далее - ДНТ) и пороки сердца [96, 133, 134, 145, 159, 171, 183, 185, 198].

Предполагается, что дисбаланс гомоцистеин-метионинового клеточного гомеостаза служит сигналом распознавания опасности, связанной с метаболизмом, посредством которого модуляция SAM-зависимого метилирования и гипометилирование модифицированных остатков гистонов способствует эпигенетической дисрегуляции и различным метаболическим, иммунным и сосудистым заболеваниям [131, 198].

Следовательно, нарушения взаимозависимости гомоцистеина и метионина будут иметь заметное влияние на развитие, особенно на ранних стадиях беременности, когда эмбриональный органогенез протекает с высокой скоростью синтеза ДНК и клеточной пролиферации с высокой скоростью метилирования генов *de novo* (заново) [118].

Действительно, ранняя фаза беременности является периодом высокой уязвимости, зависящим от адекватного обеспечения нутриентами, что наиболее ярко иллюстрируется в случае развития дефектов нервной трубки [74]. Чувствительность закрытия нервной трубки к одноуглеродному метаболизму подтверждается снижением риска развития дефекта при повышении потребления фолиевой кислоты, витамина В₁₂, витамина В₆, холина, бетаина и метионина матерью [76, 84, 92, 128, 147, 156, 162, 167, 180, 181, 211, 216]. Эмбриональная нервная пластинка претерпевает серию скоординированных морфологических изменений, в результате которых на четвертой неделе после зачатия происходит закрытие нервной трубки. Следовательно, временное окно, в течение которого питательные вещества могут оказать модулирующее влияние на этот процесс, а также на другие системы органов эмбриона на ранних сроках беременности, чрезвычайно узкое, так как требуется максимально быстрое достижение нутриентами эмбриона [147]. В связи с этим критически важно обеспечение матери нутриентами (в частности, фолиевой кислотой), особенно на начальных этапах беременности.

Известно о влиянии гипергомоцистеинемии и на другие неблагоприятные исходы беременности, такие как привычное невынашивание беременности [18, 42, 62].

Европейское общество репродукции человека и эмбриологии (European Society of Human Reproduction and Embriology, ESHRE) определяет [186] привычное невынашивание как три или более выкидыша в анамнезе женщины, тогда как Американское общество репродуктивной медицины рассматривает [88] данное состояние как два или более выкидыша. Причинами привычного невынашивания беременности могут быть генетические мутации, хромосомные аномалии, анатомические деформации, эндокринные и иммунные заболевания [41, 87, 120].

Кроме того, гипергомоцистеинемию связывают с преэклампсией. Преэклампсия характеризуется гипертензией ($\geq 140/90$ мм рт. ст.), сопровождающейся протеинурией, обнаруживающейся после 20 недель гестации [220]. Это состояние затрагивает несколько систем органов, включая нервную систему, почки, печень и систему кровообращения. Хотя этиология преэклампсии до сих пор остается неясной, эндотелиальная дисфункция, хроническое воспаление и иммунные нарушения могут являться возможными причинами, лежащими в основе развития преэклампсии [209].

Одной из причин повышенных уровней гомоцистеина является полиморфизм *MTHFR* 677 C > T, который способствует гипергомоцистеинемии, снижению уровня фолатов и некоторым сердечно-сосудистым заболеваниям. Анализ показал, у пациентов, гомозиготных по *SNP MTHFR* (Ala222Val C > T, rs 1801133), обнаруживается увеличение уровня гомоцистеина на 27,6 % по сравнению с гомозиготным генотипом по нейтральному аллелю [29]. *MTHFR* 1298 A > C также приводит к снижению активности фермента, хотя и не в такой степени, как *MTHFR* 677 C > T [184].

Снижение функциональной активности ферментов фолатного обмена ассоциировано со снижением уровней фолатов и повышением уровня гомоцистеина в плазме крови, что может способствовать дисфункции эндотелия

и повышать риск развития сердечно-сосудистых осложнений [86, 132, 148, 185]. Недавние исследования показали, что уровни экспрессии гомоцистеина у женщин с преэклампсией были значимо выше, чем у беременных с нормотензией [150, 204, 214]. В то же время значимых отличий между беременными с преэклампсией и небеременными женщинами обнаружено не было [139].

Таким образом, влияние гомоцистеина на течение нормальной беременности и риск развития осложнений является предметом значительного научного интереса. В то же время очевидно, что повышенный уровень гомоцистеина у матери и полиморфизмы генов, ответственных за его метаболизм, связаны с осложнениями беременности.

Понимание взаимосвязи между уровнем гомоцистеина и беременностью несомненно обладает преимуществами. Снижение уровня гомоцистеина с помощью применения фолиевой кислоты в период прегравидарной подготовки, а также на ранних этапах беременности, может снизить риск развития осложнений беременности, связанных с гипергомоцистеинемией [25, 178]. Однако, в настоящее время не выработаны четкие схемы для профилактики и коррекции гипергомоцистеинемии и связанных с ней состояний при подготовке к беременности.

1.5. Этиопатогенетическая роль В₁₂-дефицитных состояний в развитии врожденных пороков и акушерских осложнений

Цианокобаламин (витамин В₁₂) играет ключевую роль в поддержке активности фолат-зависимого фермента метионин-синтазы *MTR*, который необходим для преобразования аминокислоты гомоцистеина в метионин. Цианокобаламин представляет собой водорастворимый витамин, являющийся важным кофактором одноуглеродного цикла, который в основном получается из продуктов животного происхождения, что делает вегетарианство/веганство фактором риска дефицита данного витамина [137, 217], дефицит так же связывают с приемом оральных контрацептивов, метформина [15, 35].

Распространенность дефицита витамина В₁₂ среди беременных и небеременных женщин репродуктивного возраста высокая и составляет от 10% до 50% [119, 126, 212]. Подтверждено метаанализом, что низкие уровни фолиевой кислоты и витамина В₁₂ в крови являются факторами риска развития ДНТ. При этом известно, что гены, кодирующие белки, связанные с метаболизмом фолатов, такие как *MTHFR 677 C > T*, *MTR 2756 A > G* и *MTRR 66 A > G*, влияют на потребление не только фолатов, но и витамина В₁₂ [64, 131].

Цианокобаламин попадает в клетки путем рецептор-опосредованного эндоцитоза [120]. Как только кобаламин доставлен к метионинсинтазе, он связывается и восстанавливается до наиболее реакционноспособной формы, предназначенной для связывания метильной группы субстрата 5-МТГФ и переноса ее на гомоцистеин с образованием метионина и ТГФ в качестве продуктов.

Снижение функции метионинсинтазы из-за полиморфизма гена *MTR* или дефицита В₁₂ приводит к накоплению гомоцистеина [120] и наблюдается феномен «Фолиевая ловушка», основные ее характеристики: дефицит витамина В₁₂ блокирует активность метионинсинтазы, уровень ГЦ увеличивается, фолатный цикл частично инвертируется, и ТГФ не образуется повторно. Внутриклеточно синтезированный метионин, наряду с экзогенными источниками, включается в белки или в дальнейшие реакции процессинга в метиониновом цикле, связанного также с фолатным циклом. Успешное образование ГЦ завершает метиониновый цикл. Молекула ГЦ, может быть, реметилирована или объединена с серином, а также реметилирована бетаин-гомоцистеин-метилтрансферазой, которая наиболее активно экспрессируется в печени и почках [73, 89].

Появляется все больше данных, свидетельствующих о роли дефицита витамина В₁₂ в развитии ДНТ [153], ГСД [66, 108, 145, 165, 197]. Так, в проведенном в Великобритании ретроспективном исследовании [210, 213] женщины с дефицитом витамина В₁₂ (<150 пмоль/л) во II и III триместрах имели повышенный риск ГСД по сравнению с женщинами без такого дефицита (скорректированное ОШ 2.59, 95% ДИ 1.35–4.98, $p = 0.004$).

Учитывая, что фолиевая кислота, витамин В₁₂ и гомоцистеин связаны с риском развития гестационного сахарного диабета (ГСД) и необходимы для одноуглеродного цикла, сложное взаимодействие этих метаболитов становится все более актуальным. Реметилирование гомоцистеина в метионин происходит через кобаламин-зависимый фермент *MTR* с 5-МТГФ в качестве необходимого кофактора [147]. Учитывая, что витамин В₁₂ необходим для усвоения 5-МТГФ, недостаток витамина В₁₂ может приводить к тому, что ФК не будет адекватно усваиваться [193, 195]. Таким образом, путь метаболизма метионина сильно зависит от адекватной доступности фолатов и потребления витамина В₁₂, а также от активности *MTR* [134,195].

Примечательно, что взаимосвязь ФК – ГЦ может быть опосредована дефицитом витамина В₁₂. В исследовании с участием здоровых взрослых концентрация гомоцистеина снижалась при увеличении уровня фолатов в сыворотке крови, когда уровень витамина В₁₂ был выше 148 пмоль/л ($p < 0.001$), однако данной картины не наблюдалось при уровне витамина В₁₂ ниже 148 пмоль/л [196]. В исследованиях на клеточных линиях хориокарциномы применение различных форм витамина В₁₂ снижало уровни ГЦ, которые повышались при супра-физиологической обработке ФК [156]. Это говорит о том, что вместо прямой роли высокого потребления ФК в нарушении реметилирования ГЦ витамин В₁₂ действует как ограничивающий фактор. Тем не менее, ФК может прямо влиять на метаболические пути, зависящие от витамина В₁₂, за счет снижения действия *MTR* [105, 129], что усугубляется в случаях, когда уровень витамина В₁₂ уже снижен. Таким образом, метаболизм кобаламина и фолатов взаимосвязан, их метаболические пути соединены в метиониновом цикле. Хотя совместная функция и регуляция через определенные метаболиты известны уже некоторое время, степень их взаимосвязи еще продолжает исследоваться. Одноуглеродный метаболизм необходим для нормальной клеточной функции и зависит от витаминов группы В, управляющих и координирующих образование метильных групп. Изменения в нем могут быть вызваны дефицитом витаминов группы В, что приводит к нарушениям развития. Адекватные уровни витаминов группы В,

в частности фолиевой кислоты и витамина В₁₂, обеспечивают нормальные паттерны метилирования гистонов [68], что говорит о значимости функции данных нутриентов в эпигенетической регуляции.

1.6. Современные стратегии фолатной поддержки

Прегавивидарная подготовка является объектом все большего интереса, что отражено в многочисленных публикациях [55], а также международных и отечественных рекомендациях ведущих организаций здравоохранения [31, 107, 114, 125, 127, 159, 218].

Период периконцепции (2-3 месяца до зачатия и после) считается критическим периодом для оптимизации функции гамет и раннего развития плаценты [72]. Состояние здоровья матери в периконцепционный период определяет исходы беременности и здоровье ребенка [16, 182].

К факторам, влияющим на здоровье женщины и плода, относятся различные предшествующие заболевания (ожирение, сахарный диабет, артериальная гипертензия и др.), а также внешние факторы, среди которых отдельно следует отметить дефицит микронутриентов. Данные факторы риска ведут к перинатальным осложнениям (преэклампсия, преждевременные роды, гестационный сахарный диабет и др.), рискам для здоровья матери (в первую очередь, риск развития кардиометаболических заболеваний впоследствии), а также кратко- и долгосрочным рискам для здоровья ребенка (нарушения неврологического развития, склонность к ожирению, синдром задержки внутриутробного развития и др.) [4, 25].

На данный момент профессиональными ассоциациями предложено множество стратегий фолатной поддержки при планировании беременности, но единый оптимальный алгоритм еще не выработан.

Имеющиеся отечественные клинические рекомендации по прегавивидарной подготовке (протокол ассоциации МАРС «Прегавивидарная подготовка» 2024 года [31] и клинические рекомендации МЗРФ «Нормальная беременность» 2023 года [17]) предлагают проводить фолатную поддержку фолиевой кислотой ФК без учета

индивидуальных генетических особенностей: ассоциация MАРС – в интервале доз ФК от 400 мкг до 4-5 г в сутки, продолжительностью от 2 до 3 месяцев [31], клинические рекомендации «Нормальная беременность» – в интервале доз ФК от 400 мкг до 800 мкг за 2-3 месяца до наступления беременности [17]. Таблица 1 содержит подробное описание различных стратегий фолатной поддержки для женщин в период прегравидарной подготовки, рекомендованных международными профессиональными сообществами.

Таблица 1 – Варианты фолатной поддержки женщин в период прегравидарной подготовки, рекомендованные зарубежными профессиональными сообществами

	WHO 2020 [218]	FIGO 2019 [125]	SOGC (Canada) 2022 [219]	US Preventive Services Task Force 2023 [114]
Тактика применения фолатов	Начать прием как можно раньше, в идеале до беременности	Начать прием минимум за 30 дней до зачатия и принимать в течение I триместра беременности	Начать прием минимум за 2-3 месяца до зачатия, принимать всю беременность и 4-6 недель после беременности	Начать прием минимум за 1 месяц до зачатия и принимать первые 2-3 месяца беременности
Доза фолиевой кислоты	400 мкг	400 мкг - всем 4000 мкг - при высоком риске ДНТ	400 мкг – при низком риске ДНТ 1000 мкг – при средних рисках ДНТ; 4000-5000 мкг или индивидуально подобранная доза - при высоком риске ДНТ	400-800 мкг всем
Доза витамина В ₁₂	2,6 мг	-	2,6 мг	2,6 мг

Продолжение Таблицы 1

Наличие полиморфизма генов фолатного цикла	-	При наличии полиморфизма в женщина относится к высокому риску ДНТ	Наличие полиморфизма является фактором риска	Полиморфизм является фактором риска
--	---	---	--	-------------------------------------

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует всем женщинам, планирующим беременность, начинать прием фолиевой кислоты в дозе 400 мкг как можно раньше, до зачатия [218].

Международная федерация акушеров-гинекологов (International Federation of Gynaecology and Obstetrics, FIGO) указывает, что прием фолиевой кислоты следует начинать не менее чем за 30 дней до зачатия, при этом рекомендуется сочетание с витамином В₁₂ [125].

Общество акушеров-гинекологов Канады (Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, SOGC) советует начинать прием фолиевой кислоты за 2-3 месяца до зачатия [219] и выделяет три группы риска, предлагая два подхода: рутинный и индивидуальный. В рамках рутинного подхода идентифицируются три группы риска развития фолат-дефицитных врожденных пороков развития (ВПР), для каждой из которых рекомендуются разные дозы фолиевой кислоты – от 400 мкг до 4-5 г в составе витаминно-минеральных комплексов (ВМК). Индивидуальный подход подразумевает персонализированный подбор дозировки фолатов [219].

Профилактическая служба США (US Preventive Services Task Force, USPSTF, 2023) также отмечает необходимость начала приема фолиевой кислоты не менее чем за месяц до зачатия в дозировке 400–800 мкг, как в виде монопрепаратов, так и в составе витаминно-минеральных комплексов [114].

Важно подчеркнуть, что Международные ассоциации, включая рабочую группу Международной федерации акушеров-гинекологов (FIGO) по клинической практике «Медицины матери и плода», Общество акушеров-гинекологов Канады (SOGC) и Профилактическую службу США (USPSTF), в своих рекомендациях

рассматривают полиморфизмы генов фолатного обмена как значимый фактор риска врожденных аномалий и осложнений беременности. В рекомендациях FIGO (2019), SOGC (2022) и USPSTF (2023) подчеркивается необходимость учета генетических факторов, снижающих уровень фолатов в сыворотке крови у женщин при планировании беременности.

Интересны отдельные работы, посвященные персонализированной фолатной поддержке, основанной на определении генотипа *MTHFR-C677T*, и рекомендуемые лицам с генотипом *MTHFR-677TT* для поддержания оптимального уровня фолатов применение более высокой суточной дозы фолиевой кислоты (на 400 мкг) и модификацию образа жизни [131]. Поэтому фолатная персонализированная поддержка, учитывающая особенности генотипа, является более эффективной, чем стандартный, рутинный подход [125]. Остаются открытыми вопросы.

1. О необходимой продолжительности фолатной поддержки при прегравидарной подготовке; рекомендации различны: от 1 месяца до 3 месяцев до зачатия.
2. О необходимости комбинации фолатов с витамином В₁₂; в рекомендациях предложены три варианта: поддержка только монопрепаратами ФК, комбинацией с витамином В₁₂, так и в составе ВМК [49, 50].
3. О возможности применения разных форм фолатов; в рекомендациях не содержится информация о возможности применения 5-МТГФ.
4. О возможностях индивидуального подхода: генотипирования [33] и определения наличия полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла. В рекомендациях FIGO, Канадских рекомендациях указано, что наличие полиморфизмов генов фолатного цикла является фактором риска, однако, без конкретных тактик ведения пациенток, учитывающих генотип и вид носительства минорного аллеля [125, 219].

Таким образом, на сегодняшний день нет сомнений в необходимости дополнительного приема фолатов для профилактики фолатного дефицита, особенно при подготовке к зачатию и на протяжении беременности. В то же время, в силу различных причин индивидуальная потребность в фолатах может колебаться

в довольно широких пределах. Целесообразно, чтобы область применения добавок фолиевой кислоты готова была эволюционировать от «одного размера для всех» к персонализированному пути [51], что является приоритетом для удовлетворения индивидуальных потребностей, максимума пользы и минимума побочных эффектов [128]. Основной причиной индивидуальных различий потребности в фолатах является полиморфизм генов ферментов фолатного цикла, что делает фармакогенетический подход оправданным при определении стратегии фолатной поддержки [10, 11, 37, 47, 53]. Использование альтернативных источников фолатов – 5-МТГФР, по сравнению с традиционно используемой фолиевой кислотой, может быть потенциально перспективным направлением дальнейшего научного поиска [20]. Требуются дальнейшие исследования фармакогенетики 5-МТГФР для разработки индивидуальных рекомендаций по его применению и дозировке с учетом не только полиморфизма гена метилентетрагидрофолат редуктазы, но и других ферментов фолатного цикла.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация исследования

Диссертационное исследование поведено в условиях клинической практики, в медицинском центре «ООО Инвитро», место работы диссертанта (юридический адрес: г. Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, д. 16, к. 3; фактический адрес базы: г. Москва, 3 Крутицкий переулок, д. 11; контактные телефоны базы: 8-495-363-03-63). На проведение работы было получено разрешение локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 14–22 от 07.07.2022 года. Всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие об участии в исследовании.

Дизайн научного исследования является когортным проспективным интервенционным наблюдательным исследованием со сбором первичных данных. Схема организации исследования представлена на Рисунке 2. Исследование состояло из 4 этапов:

1 этап – сбор первичных данных;

2 этап – изучение распространенности полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G*, выявление их взаимосвязи с уровнями фолатов, гомоцистеина, витамина В₁₂, осложнениями беременности в анамнезе;

3 этап – формирование групп пациентов в зависимости от вида фолатной поддержки и генотипа: 1 группа – пациентки, которые применяли 400 мкг монопрепарата фолиевой кислоты ФК, 2 группа – пациентки, которые принимали 451 мкг кальция L-метилфолат (400 мкг в пересчете на фолиевую кислоту) и 2,6мкг цианокобаламина в составе ВМК; в дальнейшем каждая из групп была разделена на 4 подгруппы и 12 когорт в зависимости от генотипа *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G*;

4 этап – анализ результатов применения различных схем фолатной поддержки при прегравидарной подготовке в зависимости от генотипа пациентки.

1 ЭТАП - сбор первичных данных

2 ЭТАП - анализ распространенности полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G*, выявление их взаимосвязи с уровнями фолатов, гомоцистеина, витамина В12, осложнениями беременности в анамнезе

3 ЭТАП - формирование групп пациентов в зависимости от вида фолатной поддержки и генотипа

1 группа - пациентки применяли монопрепарат ФК (n=100)

12 когорт в зависимости от генотипа:

A1 - *MTHFR-677CC* (n=52)
 A2 - *MTHFR-677CT* (n=41)
 A3 - *MTHFR-677TT* (n=7)
 A4 - *MTHFR-1298AA* (n=51)
 A5 - *MTHFR-1298AC* (n=34)
 A6 - *MTHFR-1298CC* (n=15)
 A7 - *MTR-2756AA* (n=38)
 A8 - *MTR-2756AG* (n=42)
 A9 - *MTR-2756GG* (n=20)
 A10 - *MTRR-66AA* (n=43)
 A11 - *MTRR-66AG* (n=50)
 A12 - *MTRR-66GG* (n=7)

2 группа – пациентки, которые принимали кальция L-метилфолат и цианокобаламин в составе ВМК (n=94)

12 когорт в зависимости от генотипа:

B1 - *MTHFR-677CC* (n=33)
 B2 - *MTHFR-677CT* (n=53)
 B3 - *MTHFR-677TT* (n=8)
 B4 - *MTHFR-1298AA* (n=65)
 B5 - *MTHFR-1298AC* (n=19)
 B6 - *MTHFR-1298CC* (n=10)
 B7 - *MTR-2756AA* (n=64)
 B8 - *MTR-2756AG* (n=21)
 B9 - *MTR-2756GG* (n=9)
 B10 - *MTRR-66AA* (n=10)
 B11 - *MTRR-66AG* (n=83)
 B12 - *MTRR-66GG* (n=1)

Рисунок 2 – Схема организации исследования

Схема визитов для сбора первичных данных на 1 этапе представлена на Рисунке 3.

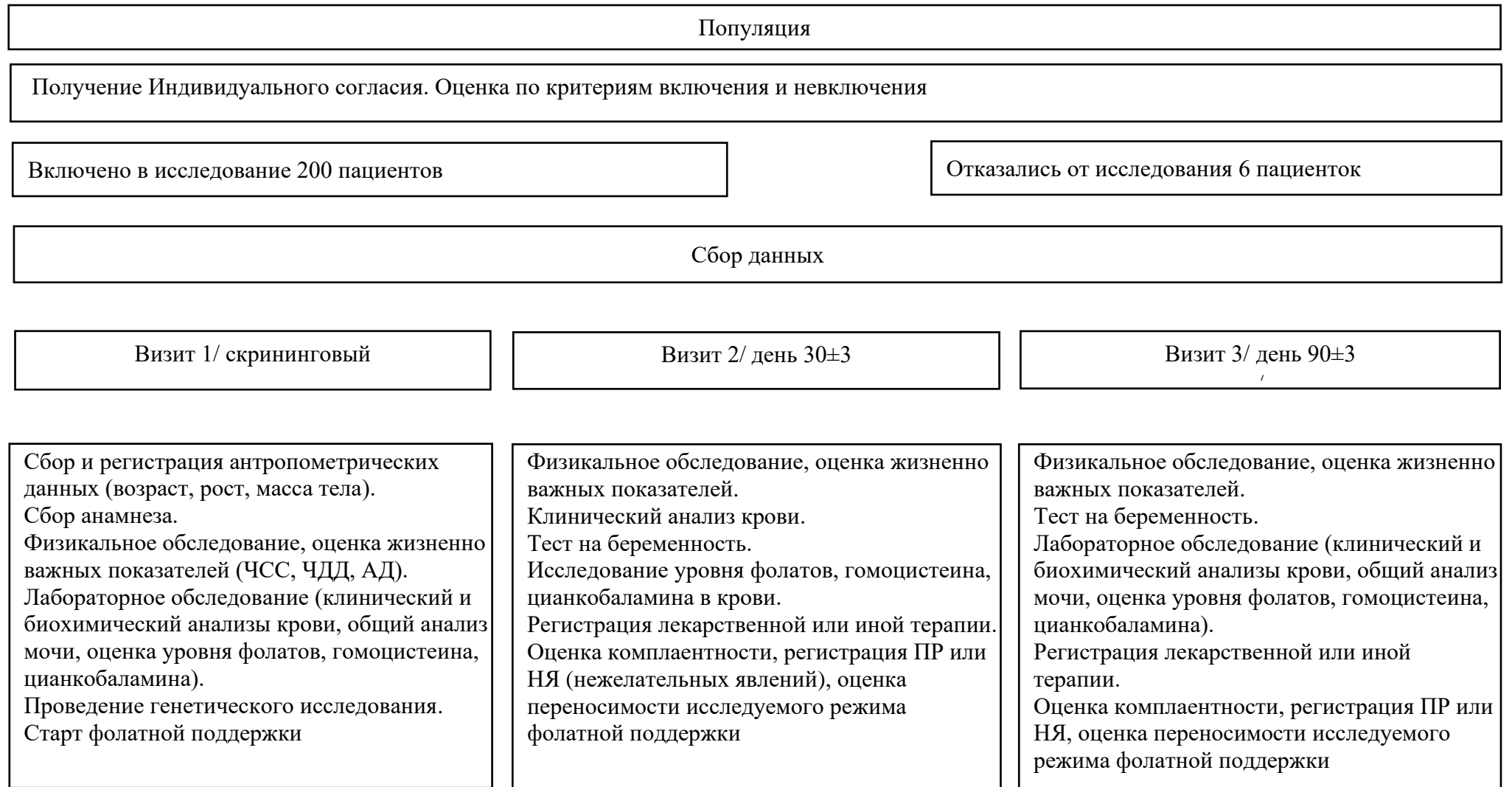


Рисунок 3 – Организационная схема сбора первичных данных

В исследование было включено 200 женщин в возрасте от 20 до 38 лет включительно, планирующих беременность.

Из 200 человек, включенных в программу, 194 пациентки (98,6%) подтвердили свое намерение участвовать, 4 пациентки отказались в связи с изменениями репродуктивных планов, 2 пациентки отказались в связи с переездом в другой регион. В рамках исследования участницы, соответствующие всем критериям включения и не отвечающие ни одному из критериев невключения, посещали исследовательский центр для получения медицинской помощи 3 раза. Срок наблюдения за каждой участницей составил 3 месяца (90 дней) на этапе прегравидарной подготовки. Поскольку это исследование наблюдательное, участницам исследования препараты бесплатно не предоставлялись. Варианты фолатного режима, за которыми в исследовании проводилось наблюдение, добровольно были выбраны участницами до включения в исследование.

Критерии для включения пациентов в исследование: наличие письменного информированного согласия на участие; возрастной диапазон от 20 до 40 лет; женский пол; женщины, обратившиеся для подготовки к беременности; принадлежность к европеоидной расе; отсутствие приема фолатов и/или витамина В₁₂ за последние 6 месяцев; решение о приеме 400 мкг фолиевой кислоты в сутки в виде монопрепарата «9 месяцев Фолиевая кислота» или 451 мкг кальция L-метилфолата и 2,6 мкг цианокобаламина в составе витаминно-минерального комплекса «Элевит® планирование и первый триместр» марки «Элевит®», принятое независимо от участия в исследовании и до включения в него; способность понимать инструкции, связанные с исследованием, и выполнять их; готовность и возможность выполнить все запланированные визиты, план лечения, лабораторные анализы и другие процедуры исследования в соответствии с протоколом исследования и стандартной медицинской практикой.

Критерии невключения пациентов в исследование: одновременное участие в интервенционном или другом не интервенционном исследовании; прием любых препаратов, содержащих фолаты и другие витамины группы В, в течение 6 месяцев до включения в исследование; применение лекарственных препаратов, влияющих

на уровень фолатов в крови (карбамазепин, вальпроевая кислота, фенитоин, фенобарбитал, метформин, метотрексат, сульфасалазин, триметоприм); злокачественные новообразования в настоящее время или в анамнезе; в анамнезе беременность с врожденными пороками развития; противопоказания к применению ВМК Элевит®, указанные в листке-вкладыше (для БАД «Элевит® планирование и первый триместр» торговой марки «Элевит®») или препарату «9 месяцев Фолиевая кислота»; сопутствующие заболевания в стадии декомпенсации; до включения в исследование диагностирована беременность; пациентки, страдающие заболеваниями ЖКТ или имеющие в анамнезе оперативные вмешательства на ЖКТ; пациентки с сахарным диабетом, ожирением, онкологическими заболеваниями, тяжелыми нарушениями со стороны сердечно-сосудистой, мочеполовой или дыхательной систем.

Критерии исключения пациентов из исследования: отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании; беременность.

Визиты и процедуры исследования

Подробное описание процедур программы на запланированных визитах представлено в Таблице 2. Проведены следующие процедуры ведения пациенток: получение письменного Информированного согласия участницы программы, оценка критериев включения/невключения, сбор исходных данных (демографические и антропометрические данные, вредные привычки, медицинский анамнез), физикальное обследование, оценка температуры тела, артериального давления (САД, ДАД), частоты сердечных сокращений (ЧСС), кинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, тест на беременность, забор биологического материала для исследования полиморфизмов: *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G*, забор биологического материала для исследования уровня цианокобаламина (витамина В₁₂), ГЦ, фолатов в крови, оценка лекарственной/иной терапии, оценка комплаентности фолатной поддержки.

Таблица 2 – Визиты и стандартные процедуры ведения пациенток

Стандартные процедуры ведения пациенток	Визит 1	Визит 2	Визит 3
	День 0	День 30±3	День 90±3
Получение письменного Информированного согласия участницы программы	X		
Оценка критериев включения/невключения	X		
Сбор исходных данных (демографические и антропометрические данные, вредные привычки, медицинский анамнез)	X		
Физикальное обследование	X	X	X
Оценка температуры тела, артериального давления (САД, ДАД), частоты сердечных сокращений (ЧСС)	X	X	X
Клинический анализ крови	X		X
Общий анализ мочи	X		X
Биохимический анализ крови	X		X
Тест на беременность	X	X	X
Забор биологического материала для исследования полиморфизмов: <i>MTHFR-677C> T</i> , <i>MTHFR-1298A> C</i> , <i>MTR-2756A> G</i> , <i>MTRR-66A> G</i>	X		
Забор биологического материала для исследования уровня фолатов в крови	X	X	X
Забор биологического материала для исследования уровня гомоцистеина в плазме крови	X	X	X
Забор биологического материала для исследования уровня цианокобаламина (витамина В ₁₂) в крови	X	X	X
Оценка лекарственной /иной терапии	X	X	X
Оценка комплаентности фолатной поддержки		X	X

2.2. Характеристика пациентов, включенных в исследование

По результатам скрининга в диссертационное исследование было включено 200 женщин европеоидной расы в возрасте от 20 до 38 лет. Закончили исследование 194 женщины в возрасте от 20 до 38 лет (средний возраст $28,5 \pm 0,3$ года). Характеристика по возрасту, антропометрическим данным, акушерско-гинекологическому анамнезу, сопутствующей патологии участниц, прошедших процедуру скрининга и включенных в исследование, представлена в Таблице 3.

Таблица 3 – Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

Параметр		Показатель
Возраст, лет		28,5±0,3
Антропометрические данные	Рост, см	166,4±0,4
	Масса тела, кг	63,1±0,7
Индекс массы тела (ИМТ)	18,5–24,9 кг/ м ²	95 (48,9%)
	25–29,9 кг/ м ²	99 (51,03%)
Количество беременностей в анамнезе	0	97 (50,0%)
	1	49 (25,3%)
	2	33 (17%)
	3 и более	15 (7,7%)
Наличие осложненного акушерско-гинекологического анамнеза (ранние потери беременности: выкидыш, привычный выкидыш, неразвивающаяся беременность, преждевременные роды и др.)		45 (23,2%)
Сопутствующая патология (заболевание щитовидной железы, недостаточность лютеиновой фазы, синдром поликистозных яичников, хронический эндометрит, эндометриоз, недостаточность витамина D, доброкачественная дисплазия молочных желез, воспалительные заболевания шейки матки, влагалища и вульвы, железодефицитная анемия)		102 (52,6%)
Прием сопутствующей терапии		99 (51,0%)

Масса тела участниц исследования колебалась от 45 до 84 кг (средняя масса тела $63,1 \pm 0,7$ кг), рост варьировал от 154 до 182 см (средний рост $166,4 \pm 0,4$ см). При сборе анамнестических данных и субъективном опросе пациенток, а также при объективном физикальном обследовании не было выявлено критериев «невключения» в исследование.

Оценка акушерско-гинекологического анамнеза показала, что среди участниц исследования 50% женщин впервые планируют беременность, до участия в программе беременностей не было. Одна беременность была зарегистрирована у 25,3% женщин, при этом у 16,7% было отмечено прерывание беременности на раннем сроке, включая аборт (до 8 недель). Также среди участниц были женщины, в анамнезе которых было 2 беременности. Процент таких женщин составил 17%. Из них у 39,4% наблюдалось прерывание беременности на раннем сроке. Интервал между беременностями у данных пациенток был от 0,5 до 10 лет, в среднем – $3,9 \pm 0,4$ года. В общей популяции участниц наблюдательной программы были и женщины (7,7%), у которых в акушерско-гинекологическом анамнезе были зарегистрированы 3 и более беременностей, из них у 60,0% имеется прерывание беременности в раннем сроке. У остальных были отмечены срочные роды в срок 39–40 недель. Интервал между беременностями у данных женщин составил от 1 года до 5 лет. Сопутствующие диагнозы пациентов, включенных в исследование, представлены в Таблице 4. В качестве сопутствующих диагнозов были диагностированы воспалительные заболевания шейки матки, влагалища и вульвы у 45 пациенток, что составило 23% от исследуемой группы, у 23 пациенток (12%) – доброкачественная дисплазия молочных желез, варикозное расширение вен нижних конечностей обнаружено у 23 пациенток (12%), 20 пациенток (10%) страдали недостаточностью лютеиновой фазы, эндометриоз был выявлен у 20 пациенток (10%), 14 пациенток (7%) страдали хроническим эндометритом, 13 (6,7%) пациенткам был выставлен диагноз железодефицитная анемия, синдром поликистозных яичников имело 10 пациенток (5%), 5 участниц (3%) наблюдались эндокринологом по поводу заболеваний щитовидной железы, у 5 женщин (3%) был диагностирован дефицит витамина D.

Оценка сопутствующей терапии не выявила отклонений от протокола. Участницы исследования принимали препараты, не оказывающие влияния на уровень содержания фолатов крови и не входящие в список запрещенных, согласно протоколу.

Таблица 4 – Сопутствующие диагнозы пациентов, включенных в исследование

Показатель	Количество пациентов (n)	Доля во всей группе (%)
Воспалительные заболевания шейки матки, влагалища и вульвы	45	23
Варикозное расширение вен нижних конечностей	23	12
Доброкачественная дисплазия молочных желез	23	12
Недостаточность лютеиновой фазы	20	10
Эндометриоз	20	10
Железодефицитная анемия	13	6,7
Хронический эндометрит	14	7,2
Синдром поликистозных яичников	10	5
Заболевание щитовидной железы	5	3
Недостаточность витамина D	5	3

Из всех участниц сопутствующую терапию принимали 99 человек, что составило 51,0%. Получаемые препараты представлены в Таблице 5.

Среди применяемых препаратов: местные антибактериальные и противомикотические препараты для вагинального применения (клиндамицин,

нифурател, нистатин); лекарственные средства (ЛС) для терапии эндометриоза и нормализации функции яичников (дигидрогестерон, диеногест); антибактериальные препараты системного действия (доксциклин, метронидазол, азитромицин) с целью терапии хронического эндометрита; средства нутриентной поддержки (омега - 3 полиненасыщенные жирные кислоты, витамин D); гормоны щитовидной железы (левотироксин) для замещения недостаточной функции щитовидной железы; препараты двухвалентного железа (железа сульфат) для терапии железодефицитной анемии.

Таблица 5 – Принимаемые препараты исследуемой группы для лечения сопутствующих заболеваний

Препараты	Количество в группе (n)	Доля во всей группе (%)
Местные антибактериальные и противогрибковые препараты	45	45,5
Гормональные препараты прогестерона	20	20
Антибактериальные препараты системного действия	14	14
Препараты двухвалентного железа	13	13
Омега - 3 полиненасыщенные жирные кислоты	10	10
Препараты гормонов щитовидной железы	5	5
Колекальциферол (витамин D)	5	5

Все ЛС участницам исследования были назначены строго по показаниям еще до включения в диссертационное исследование. Таким образом, применение сопутствующей терапии участницами клинического исследования не оказывало влияние на изучение эффективности исследуемых двух стратегий фолатной поддержки. У большинства пациенток не было отклонений по показателям витальных функций. Значения температуры тела, АД и ЧСС находились в пределах нормы. Только у одной участницы программы на скрининге при осмотре была

зарегистрирована температура тела выше нормативного значения – 37,1 °С, что было расценено нами как клинически не значимое отклонение, не влияющее на результат оценки эффективности исследуемых фолатных стратегий.

Средние значения показателей витальных функций участниц, прошедших процедуру скрининга и включенных в исследование, представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Показатели физикального обследования участниц включенных в исследование

Группа n=194	Температура тела, °С	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт.ст.	ЧСС, уд. /мин
Среднее	36,5±0,0	114,4±0,5	74,6±0,5	69,1±0,3

По витальным показателям отклонений от нормативных значений у большинства участниц выявлено не было. На 1 визите у участниц исследования был произведен забор крови для проведения лабораторных исследований и взят образец мочи.

Всем пациентам, включенным в исследование, проводилась оценка уровней гомоцистеина, витамина В₁₂ и фолатов в крови. Распределение пациентов в зависимости от уровней представлено в Таблице 7.

Оценка уровня фолатов в крови участниц исследования выявила, что у 99 женщин (51%) на 1 визите данный показатель находился в пределах оптимальных значений, при котором максимально снижен риск развития ДНТ, при этом у 95 участниц (49%) уровень фолатов был снижен.

Дефицит витамина В₁₂ выявлен у 33 пациенток (17%).

При оценке уровня ГЦ была обнаружена ГГЦ легкой степени тяжести (уровень гомоцистеина с колебаниями от 10 мкмоль/л до 15,9 мкмоль/л) у 91 пациенток, готовящихся к беременности, что составляет 47% от всей когорты участниц.

Таблица 7 – Распределение пациенток в зависимости от уровня фолатов, гомоцистеина и витамина В₁₂ в крови

Показатели крови	Уровни	Количество пациенток	
		n	%
Уровень фолатов крови	Оптимальный 7нг/мл и выше	99	51,0
	Недостаточный	95	49,0
Уровень гомоцистеина	Оптимальный	103	53,0
	Повышенный (более 10 мкмоль/л)	91	47,0
Уровень цианокобаламина (витамина В ₁₂)	Оптимальный (более 148 пмоль/л)	161	83,0
	Недостаточный (148 пмоль/л и ниже)	33	17,0

2.3. Методы исследования

2.3.1. Клинические методы исследования

Во время визита к врачу проводился сбор исходной информации о пациенте, включающий основные данные (возраст, дата рождения), антропометрические данные (вес, рост), соматический, в том числе гинекологический и аллергологический анамнез, перенесенные и сопутствующие заболевания, терапию (медикаментозная и/или иная), которую получает женщина. Все собранные данные регистрировались в соответствующих разделах ИРК. Перенесенные и сопутствующие заболевания регистрировались в виде диагнозов или синдромов в соответствии с терминологией МКБ-10. Сопутствующая терапия регистрировалась с указанием показания к применению, торгового наименования препарата, МНН, суточной дозы и длительности приема.

Физикальное обследование включало осмотр следующих органов и систем:

- Кожные покровы, волосы, ногти;
- Эндокринная система;
- ЛОР-органы;
- Сердечно-сосудистая система;
- Дыхательная система;
- Желудочно-кишечный тракт;
- Нервная система;
- Костно-мышечная система;
- Репродуктивная система;
- Мочевыделительная система.

Жизненно важные показатели (АД, ЧСС, температура тела) измерялись после 5-минутного отдыха на всех визитах. АД (систолическое и диастолическое артериальное давление) оценивалось в положении сидя, на одной и той же руке, с использованием одного и того же прибора. ЧСС оценивалось в течение 1 минуты на всех визитах. Для определения температуры тела измерялась аксиллярная температура. Данные представлены в Таблице 6.

2.3.2. Лабораторные исследования

Клинический анализ крови.

Взятие крови проводилось утром натощак, после 8–14 часов ночного периода голодания (воду можно было пить). Метод исследования: проточная цитофлуориметрия, оптический метод. Проведено автоматическим гематологическим анализатором «ADVIA 2120» (Siemens Healthineers AG, США). В ходе исследования у каждой женщины для клинического анализа крови было собрано 3 мл крови, кровь помещалась в вакуумную пробирку с сиреневой крышкой, содержащей калий ЭДТА (калиевая соль этилендиаминтетраацетата). Температура хранения и транспортировки: +2...+8°C. Клинический анализ крови включал в себя определение следующих показателей: скорость оседания эритроцитов (СОЭ), гемоглобин (Hb), количество эритроцитов, тромбоцитов,

лейкоцитов с расчетом лейкоцитарной формулы (нейтрофилы (в %), эозинофилы (в %), базофилы (в %), моноциты (в %), лимфоциты (в %), эритроцитарные индексы: MCV Mean Cell volume, средний объем эритроцитов (в фемтолитрах), MCH Mean Cell Hemoglobin, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (в пикограммах), референтные значения указаны в Таблице 8.

Таблица 8 – Показатели клинического анализа крови участниц исследования (n=194)

	СОЭ, мм/час	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, 10 ¹² /л	Тромбоциты, 10 ⁹ /л	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	Нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %	MCV, фк	MCH, пг
Референтные значения	0,0–20,0	120–140	3,72–5,06	180–350	3,17–8,40	41–80	1–7	0–1,5	3–11	19–37	81–101	27–35
Показатели	6,4±0,3	129,6±10,4	4,3±0,3	265±14,1	6,6±1,6	59,8±6,4	1,8±0,1	0,4±0,1	6,5±0,2	31,3±3,6	92±6,2	29±2,3

Диагноз железодефицитная анемия был поставлен 13 пациенткам, т. к. уровень гемоглобина был ниже 120 г/л, согласно клиническим рекомендациям 2021, также дополнительно этим 13 пациенткам был определен уровень ферритина сыворотки крови, у всех он был менее 11 нг/мл (норма 11,0–306,8 нг/мл). На фоне терапии двухвалентными препаратами железа уровень гемоглобина был скорректирован через 2 месяца. Причиной железодефицитной анемии явились обильные менструации у пациенток с аденомиозом и наружным эндометриозом.

Биохимический анализ крови.

Анализ выполнен автоматическим биохимическим анализатором «ADVIA 1800» (Siemens Healthineers AG, США). Материал для исследования – сыворотка крови. У каждой женщины был выполнен забор крови 5 мл, кровь помещалась в вакуумную пробирку с красной крышкой, с гелем, содержащим оксид кремния (активатор свертывания), затем пробирка осторожно переворачивалась 4–6 раз для перемешивания с гелем, после чего пробирка оставлялась в вертикальном положении на 30 минут при комнатной температуре. Центрифугирование выполнялось в стандартном режиме, 10 мин, 2 тыс. оборотов в минуту. Температура хранения и транспортировки: +2...+8°C.

Биохимический анализ крови включал в себя определение печеночных проб: аспаратаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), креатинина, общего билирубина, общего белка, общего холестерина, глюкозы, референтные значения указаны в Таблице 9.

Таблица 9 – Показатели биохимического анализа крови участниц исследования (n=194)

	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	Щелочная фосфатаза, Ед/л	Креатинин, мкмоль/л	Билирубин общий, мкмоль/л	Белок общий, г/л	Холестерин ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л
Референтные значения	до 31	до 31	7–270	44–80	3,4–20,5	65,0–85,0	до 6,0	3,4–6,1
Показатели	15,2±0,4	14,4±0,9	64,6±14,3	67,2±0,8	10,3±0,6	70,4±0,6	4,4±0,1	4,6±0,2

Общий анализ мочи.

Анализ проведен автоматическим анализатором «CLINITEK Novus» (Siemens Healthineers AG, США) кассетами «CLINITEK Novus 10» (Siemens

Healthineers AG, США). Стандартное лабораторное исследование мочи включало в себя: общий анализ мочи с определением наличия белка, глюкозы, эритроцитов, лейкоцитов, а также определения среды и удельной плотности; микроскопическое исследование осадка мочи с определением бактерий, цилиндров, плоского эпителия, слизи, солей, количества эритроцитов и лейкоцитов. Референтные значения указаны в Таблице 10.

Таблица 10 – Показатели общего анализа мочи участниц (n=194)

Показатель	pH	Относительная плотность (удельный вес)	Лейкоциты/ Эритроциты
Норма	5,5–7,0	1010–1028	Не обнаружено
Среднее	5,9	1015	
Стандартная ошибка	0,1	0,3	
Стандартное отклонение	0,8	4,7	

Определение полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла. Для молекулярно-генетического анализа генов ферментов фолатного цикла (*MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G*) использовалась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. Пробы были получены с помощью набора «Проба-РАПИД генетика» (ООО «ДНК-Технология», Москва). Анализ проводился методом полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени, используя амплификатор «ДТ-96» (ООО «ДНК-Технология», Москва) и реагенты «Генетика метаболизма фолатов» (ООО «ДНК-Технология», Москва). В качестве материала для анализа использовалась цельная кровь с ЭДТА (этилендиаминтетраацетат), собранная из локтевой вены утром, натощак, после 8–14-часового голодания. Объем требуемой крови составлял 2–3 мл, и она помещалась в вакуумную пробирку

с сиреневой крышкой, содержащей калиевую соль ЭДТА. Условия хранения и транспортировки были в диапазоне температур +2...+8°C.

Метод определения уровня гомоцистеина плазмы крови. Уровень гомоцистеина определялся методом хемилюминесцентного иммунного анализа на микрочастицах с использованием иммунохимического анализатора «Architect i2000», оборудованного хемилюминесцентной технологией Chemiflex (ABBOTT LABORATORIES S.A., США). Исследуемым материалом была гепаринизированная плазма. Референтные значения для женщин старше 19 лет составляли 4,44–13,56 мкмоль/л, при этом концентрация гомоцистеина >10 мкмоль/л считалась гипергомоцистеинемией (ГГЦ) [30, 89]. Забор крови у пациенток проводился из локтевой вены утром, натощак, после 8–14-часового голодания. Кровь помещалась в вакуумную пробирку с зеленой крышкой, содержащей гель и гепарин (Vacuette, Австрия), и центрифугировалась при 3900 об/мин в течение 10 минут. Объем необходимой крови составлял 4 мл. Условия хранения и транспортировки: +2...+8°C.

Метод определения уровня сыворотки крови фолатов и витамина В₁₂. Для измерения уровней фолатов и витамина В₁₂ использовался хемилюминесцентный иммунный анализ на микрочастицах с применением иммунохимического анализатора «Architect i2000» и технологии Chemiflex (ABBOTT LABORATORIES S.A., США). Материалом для исследования служила сыворотка крови. Референтные значения для фолиевой кислоты варьировали от 3,0 до 20,5 нг/мл. Согласно ВОЗ, уровень фолатов, предотвращающий развитие мегалобластной анемии, составляет более 3 нг/мл (более 6,8 нмоль/л), а оптимальный уровень фолатов для женщин репродуктивного возраста, минимизирующий риск развития дефектов нервной трубки (ДНТ), составляет 7 нг/мл и выше [131]. Референтные значения для витамина В₁₂ составляли 187–883 пг/мл (137,5–649 пмоль/л), при этом дефицит витамина В₁₂ определяется при уровне менее 148 пмоль/л (200 нг/л) [96, 196]. Забор крови у пациенток проводился из локтевой вены утром, натощак, после 8–14-часового голодания. Кровь помещалась в вакуумную пробирку с красной крышкой и гелем (Vacuette, Австрия). Для получения сыворотки пробирка с кровью

оставлялась в вертикальном положении на 30 минут при комнатной температуре, затем центрифугировалась при 2000 об/мин в течение 10 минут. Объем необходимой крови составлял 4 мл. Условия хранения и транспортировки: +2...+8°C.

2.4. Оценка комплаентности

Оценка комплаентности проводилась во время визитов 2 и 3. Во время визита врач опрашивал участницу программы на предмет установления факта приема препаратов, дозы и режима дозирования, а также длительности применения. В процессе участия в программе отклонений от назначений приема монопрепарата ФК и БАД зарегистрировано не было. Пациентки были высокомотивированы, утверждали о ежедневном приеме назначенных фолатов.

2.5. Статистическая обработка

В исследование было включено 200 женщин в возрасте от 20 до 38 лет, планирующих беременность. В статистический анализ были включены данные 194 пациенток. Данные 6 женщин были исключены из статистического анализа согласно протоколу исследования (мониторингу динамики изучаемых показателей подлежат женщины, которые полностью закончили исследование в соответствии с назначением врача). Основные лабораторные показатели, полученные в ходе исследования, обрабатывались по правилам описательной статистики. Величины подобных показателей представлены в виде среднего значения, стандартного отклонения.

Содержание фолатов, витамина В₁₂, гомоцистеина представлено в виде средней арифметической ± ошибка средней арифметической ($M \pm m$), для сравнения количественных признаков парной выборки применили t тест Стьюдента. Для оценки достоверности между группами на фоне применяемых схем фолатной

поддержки использовались параметрические и непараметрические параметры. При малых выборках и ненормальном распределении данных использовались непараметрические критерии Манно-Витни (два показателя между собой менее 30), более 30 – параметрическое распределение, использовался критерий Стьюдента. Уровень статистической значимости принят равным 0,05.

Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов в выборках использовали критерий χ^2 Пирсона. Значения считали статистически значимыми при $p < 0,05$, для статистического анализа использовалась программа «Hardy – Weinberg equilibrium calculator». Использовался программный пакет IBM SPSS Statistics версии 26 и среды вычислений R версии 4.0.5, а также программа Excel 2019.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Распространенность полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы, планирующих беременность

Анализ распространенности полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла проводился в сравнении с данными мировой популяции. Предполагалось, что полученная в исследовании частота распространения генотипов будет сопоставима с мировыми показателями. Для проверки соответствия распределений генотипов закону Харди-Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона, для статистического анализа применялась программа «Hardy – Weinberg equilibrium calculator». Нулевая гипотеза заключалась в том, что исследуемая популяция соответствует равновесию Харди-Вайнберга, при этом на уровне значимости 5% значение χ^2 для 1 степени свободы равно 3,84. Значения признавались статистически значимыми при $p < 0,05$.

У 194 женщин, включенных в исследование, планирующих беременность, исследована частота распространенности полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла (*MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*). Результаты анализа приведены в Таблице 11.

MTHFR-C677T. Полиморфизм *MTHFR-C677T* был исследован у женщин, где частотное распределение аллелей составило 68% для С-аллеля и 32% для Т-аллеля. Полиморфизм по гомозиготному типу *MTHFR-677TT*, при котором женщины являются носителями двух копий минорного аллеля Т, выявлен у 15 пациенток (7,7%). Полиморфизм по гетерозиготному типу *MTHFR-677CT*, при котором женщины являются носителями одной копии минорного аллеля Т, был выявлен у 94 пациенток (48,5%).

Анализ соответствия закону Харди-Вайнберга показал следующие ожидаемые частоты генотипов: гомозиготы по доминантному аллелю (СС) – 89,8, гетерозиготы (СТ) – 84,3, гомозиготы по рецессивному аллелю (ТТ) – 19,8.

Рассчитанное значение χ^2 составило 1,54, что указывает на соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга ($p < 0,05$).

Таблица 11 – Распространенность полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у пациенток, включенных в исследование

Генотипы	<i>MTHFR-677C>T</i>			<i>MTHFR-1298A>C</i>			<i>MTR-2756A>G</i>			<i>MTRR-66A>G</i>		
	C/C	C/T	T/T	A/A	A/C	C/C	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G
Абсолютное количество	85	94	15	116	53	25	102	63	29	53	133	8
%	43,8	48,5	7,7	59,8	27,3	12,9	52,6	32,5	14,9	27,3	68,6	4,1
Аллель С (%)	68			26,5			-			-		
Аллель Т (%)	32			-			-			-		
Аллель А (%)	-			73,5			68,8			61,6		
Аллель G (%)	-			-			31,2			38,4		
Соответствие закону Харди-Вайнберга (χ^2)	1,54 ($p < 0,05$)			7,32 ($p < 0,05$)			11,72 ($p < 0,05$)			37,36 ($p < 0,05$)		

MTHFR-A1298C. Частотное распределение аллелей для полиморфизма *MTHFR-A1298C* составило 73,5% для А-аллеля и 26,5% для С-аллеля. Гомозиготный полиморфизм *MTHFR-1298CC*, при котором женщины являются носителями двух копий минорного аллеля С, выявлен у 25 пациенток (12,9%). Гетерозиготный полиморфизм *MTHFR-1298AC*, при котором женщины являются носителями одной копии минорного аллеля С, был выявлен у 53 пациенток (27,3%). Соответствие закону Харди-Вайнберга показало следующие ожидаемые частоты генотипов: гомозиготы по доминантному аллелю (АА) – 104,7, гетерозиготы (АС) – 75,6, гомозиготы по рецессивному аллелю (СС) – 13,6. Рассчитанное значение χ^2

составило 7,32, что превышает критическое значение 3,84, указывая на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ($p < 0,05$).

MTR-A2756G. Частотное распределение аллелей для полиморфизма *MTR-A2756G* составило 68,8% для А-аллеля и 31,2% для G-аллеля. Гомозиготный полиморфизм *MTR-2756GG*, при котором женщины являются носителями двух копий минорного аллеля G, выявлен у 29 пациенток (14,9%). Гетерозиготный полиморфизм *MTR-2756AG*, при котором женщины являются носителями одной копии минорного аллеля G, был выявлен у 63 пациенток (32,5%). Анализ соответствия закону Харди-Вайнберга показал следующие ожидаемые частоты генотипов: гомозиготы по доминантному аллелю (AA) – 91,9, гетерозиготы (AG) – 83,3, гомозиготы по рецессивному аллелю (GG) – 18,7. Рассчитанное значение χ^2 составило 11,72, что превышает значение 3,84, указывая на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ($p < 0,05$).

MTRR-A66G. Частотное распределение аллелей для полиморфизма *MTRR-A66G* составило 61,6% для А-аллеля и 38,4% для G-аллеля. Гомозиготный полиморфизм *MTRR-66GG*, при котором женщины являются носителями двух копий минорного аллеля G, выявлен у 8 пациенток (4,1%). Гетерозиготный полиморфизм *MTRR-66AG*, при котором женщины являются носителями одной копии минорного аллеля G, был выявлен у 133 пациенток (68,6%). Анализ соответствия закону Харди-Вайнберга показал следующие ожидаемые частоты генотипов: гомозиготы по доминантному аллелю (AA) – 73,6, гетерозиготы (AG) – 91,7, гомозиготы по рецессивному аллелю (GG) – 28,6. Рассчитанное значение χ^2 составило 37,36, что превышает критическое значение 3,84, указывая на значительное отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ($p < 0,05$).

Таким образом, в данном исследовании выявлено, что распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма *MTHFR-C677T* соответствует равновесию Харди-Вайнберга. Полиморфизмы *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G* и *MTRR-A66G* демонстрируют значительные отклонения от ожидаемых частот, что может указывать на влияние различных факторов, таких как генетический дрейф, отбор или нарушение панмиксии в исследуемой популяции.

3.2. Уровни фолатов, гомоцистеина, витамина В₁₂ крови у женщин, с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* до проведения прегравидарной подготовки

Исследование включало анализ уровней фолатов, гомоцистеина и витамина В₁₂ в крови у женщин с выявленными полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла (*MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*) до начала прегравидарной подготовки. Результаты представлены в Таблице 12.

Согласно полученным данным, выявлены оптимальные уровни фолатов (более 7 нг/мл), ГЦ (менее 10 мкмоль/л) и витамина В₁₂ (более 148 пмоль/л) у пациенток, имеющих нормальный генотип, без носительства минорной аллели: *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*, и у пациенток, имеющих гетерозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG*.

Дефицит фолатов и повышенный уровень ГЦ обнаружены у пациенток, имеющих гетерозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG*, и у пациенток с генотипом *MTRR-66GG*.

Повышенный уровень ГЦ (более 10 мкмоль/л), дефицит фолатов (менее 7нг/мл) и витамина В₁₂ (148 пмоль/л и ниже) выявлены у пациенток, имеющих гомозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTR-2756GG*, *MTHFR-1298CC*.

Таблица 12 – Уровни фолатов, гомоцистеина, витамина В₁₂ в крови у женщин, с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* до проведения прегравидарной подготовки

Генотипы	<i>C677T MTHFR</i>			<i>A1298C MTHFR</i>			<i>A2756G MTR</i>			<i>A66G MTRR</i>		
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>AA</i>	<i>A/C</i>	<i>C/C</i>	<i>A/A</i>	<i>A/G</i>	<i>G/G</i>	<i>A/A</i>	<i>A/G</i>	<i>G/G</i>
Количество пациенток абс. (%)	85 (43,8%)	94 (48,5%)	15 (7,7%)	116 (59,8%)	53 (27,3%)	25 (12,9%)	102 (52,6%)	63 (32,5%)	29 (15,0%)	53 (27,3%)	133 (68,6%)	8 (4,1%)
Фолаты, нг/мл $M \pm m$	8,0±0,4	8,6±0,4	3,6±0,3	10,0±0,3	5,6±0,4	3,5±0,2	10,3±0,4	5,8±0,3	4,3±0,3	10,3±0,6	7,2±0,3	4,5±0,6
Различия между группами, P-VALUE		$P_{1vs2}=0,302$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}=0,002^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}=0,007^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}=0,064$ $P_{1vs3}<0,001^*$
Гомоцистеин, мкмоль/л, $M \pm m$	8,9±0,3	9,4±0,4	12,5±0,2	7,8±0,3	11,5±0,3	12,2±0,2	7,9±0,3	10,7±0,3	12,1±0,3	7,4±0,3	9,9±0,3	11,6±0,6
Различия между группами, P-VALUE		$P_{1vs2}=0,97$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}=0,01^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$
Витамин В ₁₂ , пмоль/л, $M \pm m$	179,7±3,0	189,7±3,8	124,3±4,0	193,6±3,2	172,7±2,9	145,4±4,0	197,3±3,4	176,9±2,1	136,8±1,0	198,5±4,3	175,9±2,9	164,9±9,8
Различия между группами, P-VALUE		$P_{1vs2}=0,204$	$P_{2vs3}=0,003^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}<0,001^*$ $P_{1vs3}<0,001^*$		$P_{1vs2}<0,001^*$	$P_{2vs3}=0,088$ $P_{1vs3}=0,082$

*статистически значимая разница

3.3. Взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* и риска развития осложнений беременности

Анализ ассоциаций между развитием осложнений во время беременности и генотипом. Исследование ассоциаций между развитием осложнений во время беременности и генотипом проводилось с использованием точного критерия Фишера. Различия считались статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 96 пациенток, имеющих в анамнезе от 1 до 3 беременностей. Женщины были разделены на две группы.

Группа 1 (основная группа): 45 женщин с осложненным акушерско-гинекологическим анамнезом (преждевременные роды, гестационная гипертензия, преэклампсия, синдром задержки роста плода).

Группа 2 (контрольная группа): 51 женщина с клинически нормально протекающей беременностью и родами в срок.

Результаты.

Частота аллеля Т полиморфизма *MTHFR-677C>T*. В группе с осложненным анамнезом частота аллеля Т составила 36,7% против 23,5% в контрольной группе (ОШ = 1,92; ДИ [1,00-3,80], $p < 0,041$).

Частота аллеля С была выше в контрольной группе, что свидетельствует о защитной роли этого аллеля в отношении осложнений беременности.

Частота аллеля С полиморфизма *MTHFR-1298A>C*. Частота аллеля С в группе с осложненным анамнезом составила 44,4% против 5,9% в контрольной группе (ОШ = 12,87; ДИ [4,99-39,74], $p < 0,001$). Это указывает на наличие ассоциации аллеля С с повышенным риском осложнений беременности.

Частота аллеля G полиморфизма *MTR-2756A>G*. Частота аллеля G в группе с осложненным анамнезом составила 43,3% по сравнению с 13,5% в контрольной

группе (ОШ = 4,87; ДИ [2,33-10,7], $p < 0,001$). Наличие аллеля G ассоциировано с повышенным риском осложнений беременности.

Частота аллеля G полиморфизма *MTRR-66A>G*. Частота аллеля G в группе с осложненным анамнезом составила 48,9% по сравнению с 29,8% в контрольной группе (ОШ = 2,34; ДИ [1,20-4,24], $p = 0,008$).

По результатам генетических моделей, аллель G полиморфизма *MTRR-66A>G* ассоциирован с осложненным анамнезом при беременности согласно аутосомно-доминантной модели наследования (ОШ = 5,33; ДИ [1,70-20,16], $p = 0,001$).

Результаты исследования показали, что наличие минорных аллелей T и C полиморфизмов *MTHFR-677C>T* и *MTHFR-1298A>C*, а также аллеля G полиморфизмов *MTR-2756A>G* и *MTRR-66A>G*, ассоциировано с повышенным риском развития осложнений беременности.

Эти данные подчеркивают важность генетического тестирования для выявления женщин с высоким риском и применения персонализированного подхода к ведению беременности (Таблица 13).

Таблица 13 – Взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* и риска развития осложнений беременности

	1 группа (ОАГА) n=45, абс (%)	2 группа (контроль) n=52, абс (%)	p-value	ОШ (95% ДИ)
Частоты генотипов гена фермента <i>MTHFR-677C>T</i>				
CC	19 (42,2%)	28 (53,8%)	0,31	0,63 [0,26; 1,51]
CT	19 (42,2%)	24 (46,2%)	0,838	0,85 [0,35; 2,05]
TT	7 (15,5%)	0%	0,004*	∞ [1,82; ∞]
C/C vs C/T+T/T (аутосомно-доминантная модель)			0,31	0,63 [0,26; 1,51] 1,59 [0,66; 3,86]
C/C+C/T vs T/T (аутосомно-рецессивная модель)			0,004*	0 [0,00; 0,55] ∞ [1,82; ∞]

Продолжение Таблицы 13

Частоты аллелей гена фермента MTHFR-677C> T				
C	57 (63,3%)	80 (78,4%)	0,041*	0,52 [0,26; 1,01]
T	33 (36,7%)	24 (23,5%)		1,92 [1,00; 3,80]
Частоты генотипов гена фермента MTHFR-1298A>C				
AA	13 (28,9%)	46 (88,5%)	<0,001*	0,055 [0,015; 0,17]
AC	24 (53,3%)	6 (11,5%)	<0,001*	8,54 [2,87; 29,52]
CC	8 (17,8%)	0 (%)	0,001*	∞ [2,21; ∞]
A/A vs A/C+C/C (аутосомно-доминантная модель)			<0,001*	0,055 [0,015; 0,17] 18,12 [5,9; 65,24]
A/A+A/C vs C/C (аутосомно-рецессивная модель)			0,001*	0 [0,00; 0,45] ∞ [2,21; ∞]
Частоты аллелей гена фермента MTHFR-1298A>C				
A	50 (55,6%)	98 (94,1%)	<0,001*	0,083 [0,025; 0,20]
C	40 (44,4%)	6 (5,9%)	<0,001*	12,87 [4,99; 39,74]
Частоты генотипов гена фермента MTR-2756A>G				
AA	17 (37,8%)	38 (73,1%)	0,0009*	0,23 [0,86; 0,57]
AG	17 (37,8%)	14 (26,9%)	0,281	1,64 [0,64; 4,26]
GG	11 (24,4%)	0 (0,0%)	<0,001*	∞ [3,49; ∞]
A/A vs A/G+G/G (аутосомно-доминантная модель)			0,001*	0,23 [0,86; 0,57] 4,39 [1,74; 11,6]
A/A+A/G vs G/G (аутосомно-рецессивная модель)			<0,001*	0 [0,0; 0,29] ∞ [3,49; ∞]
Частоты аллелей гена фермента MTR-2756A>G				
A	51 (56,7%)	90 (86,5%)	<0,001*	0,21 [0,09; 0,43]
G	39 (43,3%)	14 (13,5%)	<0,001*	4,87 [2,33; 10,7]
Частоты генотипов гена фермента MTRR-66A> G				
AA	5 (11,1%)	21 (40,4%)	0,001*	0,19 [0,05; 0,59]
AG	36 (80,0%)	31 (59,6%)	0,047*	2,68 [1,00; 7,69]
GG	4 (8,9%)	0 (%)	0,043*	∞ [0,78; ∞]
A/A vs A/G+G/G (аутосомно-доминантная модель)			0,001*	0,19 [0,05; 0,59] 5,33 [1,70; 20,16]
A/A+A/G vs G/G (аутосомно-рецессивная модель)			0,043*	0 [0,00; 1,27] ∞ [0,78; ∞]
Частоты аллелей гена фермента MTRR-66A> G				
A	46 (51,1%)	73 (70,2%)	0,008*	0,45 [0,23; 0,83]
G	44 (48,9%)	31 (29,8%)		2,24 [1,20; 4,24]

*статистически значимая разница

3.4. Динамика уровня фолатов, гомоцистеина, витамина В₁₂ в крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* на фоне применяемых схем фолатной поддержки

3.4.1. Динамика уровня фолатов в сыворотке крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки

Сравнительный анализ динамики уровня фолатов у женщин с различными генотипами. Исследование включало 194 пациенток, которые были распределены на две группы. Первая группа принимала кальций L-метилфолат и цианокобаламин в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК), вторая группа получала монопрепарат фолиевой кислоты.

Анализ динамики уровня фолатов крови проводился в три временные точки: исходный уровень (визит 1), уровень через месяц саплементации (визит 2) и уровень через два месяца применения (визит 3).

Для оценки достоверности между группами на фоне применяемых схем фолатной поддержки использовались параметрические и непараметрические параметры. При малых выборках и ненормальном распределении данных использовались непараметрические критерии Манно-Витни (два показателя между собой менее 30), более 30 – параметрическое распределение, использовался критерий Стьюдента. Уровень статистической значимости принят равным 0,05. Результаты полученных данных представлены в Таблице 14.

Генотипы *MTHFR-677CC*, *MTHFR-677CT*, *MTHFR-677TT*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК).

Когорта А1 (*MTHFR-677CC*, n=52). Через месяц саплементации уровень фолатов в крови увеличился в 1,8 раза относительно исходного уровня, что

является статистически значимым ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов оставался стабильным ($p = 0,933$). Когорта А2 (*MTHFR-677CT*, $n=41$). Через месяц применения уровень фолатов увеличился в 2,03 раза ($p < 0,001$). Снижение уровня фолатов со 2-го по 3-й визит с $18,1 \pm 2,0$ до $17,5 \pm 1,3$ нг/мл было статистически незначимым ($p = 0,125$). Когорта А3 (*MTHFR-677TT*, $n=7$). Через месяц приема уровень фолатов увеличился в 2,96 раза ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов продолжал увеличиваться на 1,2 раза до $11,6 \pm 3,6$ нг/мл ($p = 0,018$).

2 группа (применение монопрепарата фолиевой кислоты).

Когорта В1 (*MTHFR-677CC*, $n=33$). Через месяц применения уровень фолатов увеличился на 1,3 нг/мл относительно исходного уровня ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,4 нг/мл ($p < 0,001$). Когорта В2 (*MTHFR-677CT*, $n=53$). Через месяц саплементации уровень фолатов увеличился на 1,1 нг/мл ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,4 нг/мл ($p < 0,001$). Когорта В3 (*MTHFR-677TT*, $n=8$). Через месяц применения уровень фолатов увеличился на 0,5 нг/мл ($p = 0,012$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,6 нг/мл ($p = 0,012$).

Генотипы *MTHFR-1298AA*, *MTHFR-1298AC*, *MTHFR-1298CC*.

1 группа (применение кальция L-метилфолатата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А4 (*MTHFR-1298AA*, $n=51$). Через месяц саплементации уровень фолатов увеличился в 1,86 раза относительно исходного уровня ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов снизился на 13%, но это снижение было статистически незначимым ($p = 0,120$). Когорта А5 (*MTHFR-1298AC*, $n=34$). Через месяц применения уровень фолатов увеличился в 2,1 раза ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 13,5%, но это увеличение было статистически незначимым ($p = 0,125$). Когорта А6 (*MTHFR-1298CC*, $n=15$). Через месяц приема уровень фолатов увеличился в 2,3 раза ($p = 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 31%, что является статистически значимым ($p = 0,005$).

Таблица 14 – Динамика уровня фолатов в сыворотке крови (нг/мл) женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки

Когорты, генотипы, кол-во (n)		1 группа (применение кальция L-метилфолатата и цианокобаламина)					Статистический анализ, p-value	2 группа (применение ФК)						Статистический анализ, p-value
		Визит 1	Визит 2	Визит 3				Когорты, генотипы, кол-во (n)	Визит 1	Визит 2		Визит 3		
		Абсолютное значение нг/мл	Δ	Абсолютное значение нг/мл	Δ	Абсолютное значение нг/мл				Δ	Абсолютное значение нг/мл	Δ		
MTHFR-677C>T	Когорта А1 СС (n=52)	7,4±0,5	13,5±0,7	6,1	13,5±0,8	0,0	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,933	Когорта В1 - СС (n=33)	9,0±0,6	10,3±0,7	1,3	11,7±0,8	1,4	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта А2 СТ (n=41)	8,9±0,7	18,1±2,0	9,2	17,5±1,3	0,6	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,677	Когорта В2 - СТ (n=53)	8,4±0,6	9,5±0,6	1,1	10,9±0,7	1,4	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта А3 ТТ (n=7)	3,3±0,5	9,8±3,5	6,5	11,6±3,6	1,8	p _{1vs2} =0,018* p _{2vs3} =0,018*	Когорта В3 ТТ (n=8)	3,8±0,2	4,3±0,2	0,5	4,9±0,2	0,6	p _{1vs2} =0,012* p _{2vs3} =0,012*
MTHFR-1298A>C	Когорта А4 - АА (n=51)	10,2±0,5	19,0±1,5	8,8	16,8±1,1	2,2	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,120	Когорта В4 АА (n=65)	9,8±0,5	11,1±0,5	1,3	12,7±0,6	1,6	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта А5 - АС (n=34)	5,9±0,6	12,6±1,0	6,7	14,3±1,1	1,7	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,125	Когорта В5 АС (n=19)	5,2±0,4	5,9±0,5	0,7	6,7±0,5	0,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта А6 - СС (n=15)	3,5±0,2	8,0±0,6	4,5	10,5±1,3	2,5	p _{1vs2} =0,001* p _{2vs3} =0,005*	Когорта В6 СС (n=10)	3,7±0,5	4,3±0,5	0,6	4,9±0,6	0,6	p _{1vs2} =0,005* p _{2vs3} =0,005*
MTR-2756A>G	Когорта А7 - АА (n=38)	11,2±0,7	19,0±1,9	7,8	17,5±1,2	1,5	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,386	Когорта В7 АА (n=64)	9,8±0,5	11,1±0,5	1,3	12,7±0,6	1,6	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта А8 - АГ (n=42)	6,1±0,3	13,3±1,2	7,2	14,1±1,1	0,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,488	Когорта В8 АГ (n=21)	5,4±0,4	6,1±0,5	0,7	7,0±0,5	0,9	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта А9 - ГГ (n=20)	4,7±0,4	11,6±1,4	6,9	12,3±0,9	0,7	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,100	Когорта В9 ГГ (n=9)	3,5±0,3	3,9±0,3	0,4	4,5±0,3	0,6	p _{1vs2} =0,008* p _{2vs3} =0,008*
MTRR-66A>G	Когорта А10 АА (n=43)	10,8±0,7	19,1±1,7	8,3	17,7±1,2	1,4	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =0,373	Когорта В10 АА (n=10)	8,0±0,6	9,1±0,7	1,1	10,3±0,8	1,2	p _{1vs2} =0,005* p _{2vs3} =0,005*
	Когорта А11 АГ (n=50)	5,6±0,3	12,2±0,9	6,6	13,0±0,8	0,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,333	Когорта В11 АГ (n=83)	8,2±0,5	9,4±0,5	1,2	10,7±0,6	1,3	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,333
	Когорта А12 ГГ (n=7)	4,2±0,5	12,0±3,2	7,8	13,3±2,2	1,3	p _{1vs2} =0,018* p _{2vs3} =0,237	Когорта В12 ГГ (n=1)	7,1	8,1	1,0	9,3	1,2	-

*статистически значимая разница

2 группа (прием монопрепарата фолиевой кислоты).

Когорта В4 (*MTHFR-1298AA*, n=65). Через месяц применения уровень фолатов увеличился на 1,3 нг/мл ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,6 нг/мл ($p < 0,001$). Когорта В5 (*MTHFR-1298AC*, n=19). Через месяц саплементации уровень фолатов увеличился на 0,7 нг/мл ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,8 нг/мл ($p < 0,001$). Когорта В6 (*MTHFR-1298CC*, n=10). Через месяц приема уровень фолатов увеличился на 0,6 нг/мл ($p = 0,005$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,6 нг/мл ($p = 0,005$).

Генотипы *MTR-2756AA*, *MTR-2756AG*, *MTR-2756GG*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК).

Когорта А7 (*MTR-2756AA*, n=38). Через месяц саплементации уровень фолатов увеличился в 1,7 раза относительно исходного уровня ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов снизился на 1,5 нг/мл, но это снижение было статистически незначимым ($p = 0,386$). Когорта А8 (*MTR-2756AG*, n=42). Через месяц применения уровень фолатов увеличился в 2,2 раза ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,8 нг/мл, но это увеличение было статистически незначимым ($p = 0,488$). Когорта А9 (*MTR-2756GG*, n=20). Через месяц приема уровень фолатов увеличился в 2,5 раза ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,7 нг/мл, но это увеличение было статистически незначимым ($p = 0,1$).

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты).

Когорта В7 (*MTR-2756AA*, n=64). Через месяц саплементации уровень фолатов увеличился на 1,3 нг/мл ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,6 нг/мл ($p < 0,001$). Когорта В8 (*MTR-2756AG*, n=21). Через месяц применения уровень фолатов увеличился на 0,7 нг/мл ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,9 нг/мл ($p < 0,001$). Когорта В9 (*MTR-2756GG*, n=9). Через месяц приема уровень фолатов увеличился на 0,4 нг/мл ($p = 0,008$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,6 нг/мл ($p = 0,008$).

Генотипы *MTRR-66AA*, *MTRR-66AG*, *MTRR-66GG*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК).

Когорта A10 (*MTRR-66AA*, n=43). Через месяц саплементации уровень фолатов в сыворотке крови увеличился в 1,8 раза относительно исходного уровня, что является статистически значимым ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов снизился на 1,4 нг/мл, но это снижение было статистически незначимым ($p = 0,373$).

Когорта A11 (*MTRR-66AG*, n=50). Через месяц применения уровень фолатов увеличился в 2,2 раза ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 0,8 нг/мл, но это увеличение было статистически незначимым ($p = 0,333$).

Когорта A12 (*MTRR-66GG*, n=7). Через месяц приема уровень фолатов увеличился в 2,9 раза ($p = 0,018$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,3 нг/мл, но это увеличение было статистически незначимым ($p = 0,237$).

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты).

Когорта B10 (*MTRR-66AA*, n=10). Через месяц саплементации уровень фолатов в сыворотке крови увеличился на 1,1 нг/мл относительно исходного уровня, что является статистически значимым ($p < 0,005$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,2 нг/мл ($p < 0,005$). Когорта B11 (*MTRR-66AG*, n=83). Через месяц применения уровень фолатов увеличился на 1,2 нг/мл ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,3 нг/мл, но это увеличение было статистически незначимым ($p = 0,333$). Когорта B12 (*MTRR-66GG*, n=1). Через месяц саплементации уровень фолатов увеличился на 1 нг/мл. Со 2-го по 3-й визит уровень фолатов увеличился на 1,2 нг/мл.

3.4.2. Динамика уровня гомоцистеина в плазме крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки

Сравнительный анализ динамики уровня гомоцистеина у женщин с различными генотипами представлен в Таблице 15.

Исследование включало 194 пациенток, которые были распределены на две группы. Первая группа принимала кальций L-метилфолат и цианокобаламин в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК), вторая группа получала монопрепарат фолиевой кислоты. Анализ динамики уровня ГЦ в плазме крови проводился в три временные точки: исходный уровень (визит 1), уровень через месяц саплементации (визит 2) и уровень через два месяца применения (визит 3). Для оценки достоверности между группами использовались параметрические и непараметрические параметры. При малых выборках и ненормальном распределении данных использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни (при этом в каждой выборке было не менее 3 наблюдений, допускалось, чтобы в одной выборке было 2 наблюдения, но тогда во второй их было не менее 5). При 30 наблюдениях и более – параметрическое распределение, использовался критерий Стьюдента. Уровень статистической значимости принят равным 0,05.

Генотипы *MTHFR-677CC*, *MTHFR-677CT*, *MTHFR-677TT*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А1 (*MTHFR-677CC*, n=52). Через месяц саплементации средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 30,1% от исходного уровня, что является статистически значимым ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит средний уровень гомоцистеина дополнительно снизился на 12,3% ($p < 0,001$), достигнув значения $5,7 \pm 0,1$ мкмоль/л. Когорта А2 (*MTHFR-677CT*, n=41). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина снизился на 28,4% ($p < 0,001$), достигнув уровня $6,8 \pm 0,4$ мкмоль/л. В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось дальнейшее статистически значимое снижение на 32,4% до $4,6 \pm 0,1$ мкмоль/л.

Таблица 15 – Динамика уровня ГЦ (мкмоль/л) в плазме крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки

Когорты, генотипы, кол-во (n)		1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина)					p-value	2 группа (применение ФК)					p-value			
		Визит 1		Визит 2		Визит 3		Когорты, генотипы, кол-во (n)	Визит 1		Визит 2			Визит 3		
		Абсолютное значение мкмоль/л		Δ%		А значение			Абсолютное значение мкмоль/л		Δ%			Абс-ное значение		Δ%
MTHFR677	Когорта А1 СС (n=52)	9,3±0,4	6,5±0,3	-30,1	5,7±0,1	-12,3	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В1 СС (n=33)	8,3±0,5	7,5±0,4	-9,6	6,0±0,3	-20,0	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*		
	Когорта А2 СТ (n=41)	9,5±0,5	6,8±0,4	-28,4	4,6±0,1	-32,4		p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В2 СТ (n=53)	9,3±0,4	8,4±0,4	-9,7	6,9±0,2		-17,9	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта 3 ТТ (n=7)	13,0±0,3	9,7±0,2	-25,4	5,2±0,1	-46,4			p _{1vs2} =0,018* p _{2vs3} =0,018*	Когорта В3 ТТ (n=8)	12,1±0,3	11,1±0,2	-8,3		10,2±0,2	
MTHFR-1298	Когорта 4 АА (n=51)	7,6±0,4	5,8±0,3	-23,6	4,4±0,1	-24,1	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В4 АА (n=65)	8,0±0,3	7,2±0,3	-10,0	5,9±0,2	-18,1	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*		
	Когорта 5 АС (n=34)	11,2±0,4	8,7±0,3	-22,3	4,9±0,08	-43,7		p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 5 АС (n=19)	11,7±0,4	10,6±0,3	-9,4	8,5±0,2		-19,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта 6 СС (n=15)	12,2±0,1	9,0±0,2	-26,2	5,6±0,08	-37,8			p _{1vs2} =0,001* p _{2vs3} =0,005*	Когорта 6 СС (n=10)	12,1±0,5	11±0,4	-9,1		10,2±0,3	
MTR-2756	Когорта 7 АА (n=38)	7,4±0,4	5,8±0,3	-21,6	4,4±0,1	-24,1	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 7 АА (n=64)	8,1±0,4	7,2±0,3	-11,1	6,2±0,2	-13,9	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*		
	Когорта 8 АГ (n=42)	10,3±0,4	7,9±0,3	-23,3	4,8±0,1	-39,2		p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 8 АГ (n=21)	11,2±0,5	10,2±0,4	-8,9	8,8±0,2		-13,7	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта 9 ГГ (n=20)	11,9±0,4	8,9±0,3	-25,2	5,3±0,1	-40,4			p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 9 ГГ (n=9)	12,3±0,4	11,1±0,3	-9,8		10,4±0,2	
MTRR-66	Когорта 10 АА (n=43)	7,0±0,3	5,3±0,2	-24,3	4,2±0,1	-20,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 10 АА (n=10)	9,1±0,6	8,2±0,6	-9,9	6,6±0,4	-19,5	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*		
	Когорта 11 АГ (n=50)	11,5±0,3	8,8±0,2	-23,5	5,2±0,06	-40,9		p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 11 АГ (n=83)	9,2±0,3	8,3±0,3	-9,8	7,3±0,2		-12,0	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*
	Когорта 12 ГГ (n=7)	11,4±0,6	8,6±0,4	-24,6	5,2±0,1	-39,5			p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта 12 ГГ (n=1)	11,6	10,8	-6,9		10,3	

*статистически значимые отличия, p_{1vs2} – статистическая значимость отличий показателей между визитом 1 и визитом 2; p_{2vs3} – *статистическая значимость отличий показателей между 2 визитом и 3 визитом

Когорта А3 (*MTHFR-677TT*, n=7). В течение первого месяца приема средний уровень гомоцистеина снизился на 25,4% ($p = 0,018$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина снизился дополнительно на 46,4%, достигнув $5,2 \pm 0,1$ мкмоль/л ($p = 0,018$).

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты). Когорта В1 (*MTHFR-677CC*, n=33). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 9,6% ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина дополнительно снизился на 20% ($p < 0,001$), достигнув значения $6,0 \pm 0,3$ мкмоль/л. Когорта В2 (*MTHFR-677CT*, n=53). В течение первого месяца саплементации средний уровень гомоцистеина снизился на 9,7% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось дальнейшее снижение на 17,9% до $6,9 \pm 0,2$ мкмоль/л ($p < 0,001$). Когорта В3 (*MTHFR-677TT*, n=8). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина снизился на 8,3% ($p = 0,012$). Со 2-го по 3-й визит отмечено снижение на 8,1% до уровня $10,2 \pm 0,2$ мкмоль/л, что является статистически значимым ($p < 0,001$).

Генотипы *MTHFR-1298AA*, *MTHFR-1298AC*, *MTHFR-1298CC*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А4 (*MTHFR-1298AA*, n=51). В течение первого месяца саплементации средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 23,6% ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит наблюдалось дополнительное снижение на 24,1% ($p < 0,001$) до оптимального уровня. Когорта А5 (*MTHFR-1298AC*, n=34). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина снизился на 22,3% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина значительно снизился на 43,7% ($p < 0,001$). Когорта А6 (*MTHFR-1298CC*, n=15). Через месяц приема средний уровень гомоцистеина снизился на 26,2% ($p = 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина продолжал снижаться на 37,8% ($p = 0,005$) до нормального уровня $5,6 \pm 0,08$ мкмоль/л.

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты). Когорта В4 (*MTHFR-1298AA*, n=65). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 10% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось

дополнительное снижение на 18,1% ($p < 0,001$). Когорта В5 (*MTHFR-1298AC*, $n=19$). Через месяц саплементации средний уровень гомоцистеина снизился на 9,4% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось статистически значимое снижение уровня гомоцистеина на 19,8% ($p < 0,001$). Когорта В6 (*MTHFR-1298CC*, $n=10$). В течение первого месяца приема средний уровень гомоцистеина снизился на 9,1% ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит также отмечено снижение уровня гомоцистеина на 7,3% ($p < 0,001$) до уровня $10,2 \pm 0,3$ мкмоль/л.

Генотипы *MTR-2756AA*, *MTR-2756AG*, *MTR-2756GG*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А7 (*MTR-2756AA*, $n=38$). Через месяц саплементации средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 21,6% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось дополнительное снижение на 24,1% ($p < 0,001$) до уровня $4,4 \pm 0,1$ мкмоль/л. Когорта А8 (*MTR-2756AG*, $n=42$). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина снизился на 23,3% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина снизился на 39,2% ($p < 0,001$) до уровня 4,8 мкмоль/л. Когорта А9 (*MTR-2756GG*, $n=20$). Через месяц приема средний уровень гомоцистеина снизился на 25,2% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина статистически значимо снизился на 40,4% до уровня $5,3 \pm 0,1$ мкмоль/л ($p < 0,001$).

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты). Когорта В7 (*MTR-2756AA*, $n=64$). Через месяц саплементации средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 11,1% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось дополнительное снижение на 13,9% ($p < 0,001$) до уровня $6,2 \pm 0,2$ мкмоль/л. Когорта В8 (*MTR-2756AG*, $n=21$). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина снизился на 8,9% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось дальнейшее снижение на 13,7% ($p < 0,001$) до уровня $8,8 \pm 0,2$ мкмоль/л. Когорта В9 (*MTR-2756GG*, $n=9$). В течение первого месяца приема средний уровень гомоцистеина снизился на 9,8% ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит наблюдалось дополнительное снижение уровня гомоцистеина на 6,3% до уровня $10,4 \pm 0,2$ мкмоль/л, что является статистически значимым ($p < 0,001$).

Генотипы *MTRR-66AA*, *MTRR-66AG*, *MTRR-66GG*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А10 (*MTRR-66AA*, n=43). Через месяц саплементации средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 24,3% относительно исходного уровня, что является статистически значимым ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина снизился дополнительно на 20,8% ($p < 0,001$), достигнув $4,2 \pm 0,1$ мкмоль/л. Когорта А11 (*MTRR-66AG*, n=50). В течение первого месяца применения средний уровень гомоцистеина снизился на 23,5% ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина снизился на 40,9% ($p < 0,001$), достигнув уровня $5,2 \pm 0,06$ мкмоль/л. Когорта А12 (*MTRR-66GG*, n=7). Через месяц приема средний уровень гомоцистеина снизился на 24,6% ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина снизился дополнительно на 39,5% до уровня $5,2 \pm 0,1$ мкмоль/л ($p < 0,001$).

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты). Когорта В10 (*MTRR-66AA*, n=10). Через месяц саплементации средний уровень гомоцистеина в плазме крови снизился на 9,9% относительно исходного уровня, что является статистически значимым ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина продолжал снижаться на 19,5% ($p < 0,001$), достигнув уровня $6,6 \pm 0,4$ мкмоль/л. Когорта В11 (*MTRR-66AG*, n=83). Через месяц применения средний уровень гомоцистеина снизился на 9,8% ($p < 0,001$). В период со 2-го по 3-й визит наблюдалось дальнейшее снижение уровня гомоцистеина на 12% ($p < 0,001$), достигнув уровня $7,3 \pm 0,2$ мкмоль/л. Когорта В12 (*MTRR-66GG*, n=1). В течение первого месяца саплементации средний уровень гомоцистеина снизился на 6,9%. Со 2-го по 3-й визит уровень гомоцистеина снизился дополнительно на 4,6% до уровня 10,3 мкмоль/л.

Результаты исследования показали, что использование кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК) приводит к значительному снижению уровня гомоцистеина в плазме крови у женщин с различными генотипами *MTHFR*, *MTR* и *MTRR*. Эти изменения были статистически значимыми в течение первого месяца саплементации. В то время как

дальнейшее снижение уровня гомоцистеина со 2-го по 3-й визит также наблюдалось, оно было менее выраженным по сравнению с первым месяцем. Во 2 группе, получавшей монопрепарат фолиевой кислоты, также наблюдалось снижение уровня гомоцистеина, однако изменения были менее выраженными по сравнению с группой, принимавшей ВМК. Это свидетельствует о потенциальной большей эффективности комбинированной терапии (кальций L-метилфолат и цианокобаламин) по сравнению с монопрепаратом фолиевой кислоты для снижения уровня гомоцистеина в плазме крови у женщин с определенными генетическими полиморфизмами. Таким образом, данные исследования подчеркивают необходимость индивидуализированного подхода к саплементации фолатов у женщин с различными генотипами.

3.4.3. Динамика уровня витамина В₁₂ в сыворотке крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки

Данные сравнительного анализа динамики уровня витамина В₁₂ у женщин с различными генотипами представлены в Таблице 16.

Генотипы *MTHFR-677CC*, *MTHFR-677CT*, *MTHFR-677TT*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК).

Когорта А1 (*MTHFR-677CC*, n=52). Через месяц саплементации средний уровень витамина В₁₂ в крови увеличился на 29,2 пмоль/л относительно исходного уровня, что является статистически значимым ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ достоверно повысился на 31,4 пмоль/л ($p < 0,001$), достигнув уровня $240,7 \pm 4,3$ пмоль/л. Когорта А2 (*MTHFR-677CT*, n=41). Через месяц применения средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 27,9 пмоль/л ($p < 0,001$), достигнув уровня $210,0 \pm 5,3$ пмоль/л. Со 2-го по 3-й визит выявлено статистически значимое увеличение уровня витамина В₁₂ на 31,5 пмоль/л ($p < 0,001$) до уровня

241,5 ± 6,1 пмоль/л. Когорта А3 (*MTHFR-677TT*, n=7). В течение первого месяца приема средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 7,6 пмоль/л (p = 0,018). Со 2-го по 3-й визит отмечено дальнейшее увеличение содержания витамина В₁₂ на 27,4 пмоль/л (p = 0,018), достигнув уровня 209,7 ± 6,7 пмоль/л.

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты).

Когорта В1 (*MTHFR-677CC*, n=33). Через месяц применения средний уровень витамина В₁₂ в крови снизился на 1,8 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ не изменился, оставаясь на уровне 177,4 ± 5,2 пмоль/л.

Когорта В2 (*MTHFR-677CT*, n=53). В течение первого месяца саплементации средний уровень витамина В₁₂ повысился на 2,9 пмоль/л (p = 0,142). Со 2-го по 3-й визит выявлено статистически незначимое увеличение уровня витамина В₁₂ на 0,3 пмоль/л до уровня 198,7 ± 5,1 пмоль/л (p = 0,322). Когорта В3 (*MTHFR-677TT*, n=8). Через месяц применения средний уровень витамина В₁₂ снизился на 3,9 пмоль/л (p = 0,012). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ остался стабильным на уровне 133,7 ± 1,8 пмоль/л.

Генотипы *MTHFR-1298AA*, *MTHFR-1298AC*, *MTHFR-1298CC*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А4 (*MTHFR-1298AA*, n=51). В течение первого месяца саплементации средний уровень витамина В₁₂ в крови увеличился на 29,1 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ увеличился на 33,1 пмоль/л (p < 0,001), достигнув уровня 254 ± 4,6 пмоль/л. Когорта А5 (*MTHFR-1298AC*, n=34). Через месяц применения средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 27,7 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ увеличился на 30,1 пмоль/л (p < 0,001). Когорта А6 (*MTHFR-1298CC*, n=15). Через месяц приема средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 31,9 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ продолжил увеличиваться на 26,8 пмоль/л (p < 0,001), достигнув уровня 205,7 ± 6,7 пмоль/л.

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты).

Когорта В4 (*MTHFR-1298AA*, n=65). Через месяц применения средний уровень витамина В₁₂ в крови увеличился на 1 пмоль/л, что является статистически незначимым (p = 0,505).

Таблица 16 – Динамика уровня витамина В₁₂ в сыворотке крови (пмоль/л) женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла на фоне применяемых схем фолатной поддержки

Когорты, генотипы, кол-во (n)		1 группа				p-value	2 группа				p-value					
		Визит 1		Визит 2			Визит 3		Когорты, генотипы, кол- во (n)	Визит 1		Визит 2		Визит 3		
		Абсолютное значение		Δ%			Абсолютное значение			Абсолютное значение		Δ%		Абсолютное значение		Δ%
MTHFR-677	Когорта А1 СС (n=52)	180,1±3,6	209,3±3,7	29,2	240,7±4,3	31,4	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В1 СС (n=33)	179,2±5,3	177,4±5,2	1,8	177,4±5,2	0	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} =1,000		
	Когорта А2 СТ (n=41)	182,1±4,7	210,0±5,3	27,9	241,5±6,1	31,5	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В2 СТ (n=53)	195,5±5,6	198,4±5,2	2,9	198,7±5,1	0,3	p _{1vs2} =0,142 p _{2vs3} =0,322		
	Когорта А3 ТТ (n=7)	174,7±8,1	182,3±5,9	7,6	209,7±6,7	27,4	p _{1vs2} =0,018* p _{2vs3} =0,018*	Когорта В3 ТТ (n=8)	137,6±1,6	133,7±1,8	3,9	133,7±1,8	0	p _{1vs2} =0,012* p _{2vs3} =1,000		
MTHFR-1298	Когорта А4 АА (n=51)	191,8±3,6	220,9±4,0	29,1	254,0±4,6	33,1	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В4 АА (n=65)	193,8±4,9	194,8±4,7	1,0	194,8±4,7	0	p _{1vs2} =0,505 p _{2vs3} =1,000		
	Когорта А5 АС (n=34)	172,9±3,8	200,6±4,0	27,7	230,7±4,6	30,1	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В5 АС (n=19)	172,2±4,3	172,9±4,2	0,7	173,9±4,3	1,0	p _{1vs2} =0,098 p _{2vs3} =0,317		
	Когорта А6 СС (n=15)	147,0±6,0	178,9±5,8	31,9	205,7±6,7	26,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В6 СС (n=10)	143,0±4,8	141,5±6,5	1,5	141,5±6,5	0	p _{1vs2} =0,059 p _{2vs3} =1,000		
MTR-2756	Когорта А7 АА (n=38)	200,4±3,5	230,5±4,0	30,1	265,1±4,6	34,6	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В7 АА (n=64)	195,5±5,0	195,9±4,8	0,4	196,2±4,8	0,3	p _{1vs2} =0,764 p _{2vs3} =0,321		
	Когорта А8 АГ (n=42)	178,8±2,4	205,7±2,8	26,9	236,5±3,2	30,8	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В8 АГ (n=21)	173,1±4,1	176,4±4,4	3,3	176,4±4,4	0	p _{1vs2} =0,053 p _{2vs3} =1,000		
	Когорта А9 ГГ (n=20)	136,9±1,3	168,7±2,5	31,8	194,0±2,9	25,3	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В9 ГГ (n=9)	136,5±1,9	132,9±1,9	3,6	132,9±1,9	0	p _{1vs2} =0,008* p _{2vs3} =1,000		
MTR-66	Когорта А10 АА (n=43)	193,9±4,1	223,4±4,6	29,5	256,9±5,3	33,5	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В10 АА (n=10)	218,2±13,1	216,0±12,9	2,2	216,0±12,9	0	p _{1vs2} =0,005* p _{2vs3} =1,000		
	Когорта А11 АГ (n=50)	168,4±3,4	197,4±3,4	29	227,0±3,9	29,6	p _{1vs2} <0,001* p _{2vs3} <0,001*	Когорта В 11 АГ (n=83)	180,5±4,0	181,6±4,0	1,1	181,8±4,0	0,2	p _{1vs2} =0,423 p _{2vs3} =0,320		
	Когорта А12 ГГ (n=7)	158,3±8,4	184,8±8,4	26,5	212,5±9,7	27,7	p _{1vs2} =0,018* p _{2vs3} =0,018*	Когорта В12 ГГ (n=1)	211	208,9	2,1	208,9	0	-		

*статистическая значимость

Когорта В5 (*MTHFR-1298AC*, n=19). В течение первого месяца саплементации средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 0,7 пмоль/л (p = 0,098). Со 2-го по 3-й визит выявлено незначительное повышение уровня витамина В₁₂ на 1 пмоль/л (p = 0,317), достигнув уровня $173,9 \pm 4,3$ пмоль/л.

Когорта В6 (*MTHFR-1298CC*, n=10). Через месяц приема средний уровень витамина В₁₂ снизился на 1,5 пмоль/л (p = 0,059). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ оставался без изменений, оставаясь на низком уровне $141,5 \pm 6,5$ пмоль/л.

Генотипы *MTR-2756AA*, *MTR-2756AG*, *MTR-2756GG*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А7 (*MTR-2756AA*, n=38). В течение первого месяца саплементации средний уровень витамина В₁₂ в крови увеличился на 30,1 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ увеличился на 34,6 пмоль/л (p < 0,001), достигнув уровня $265,1 \pm 4,6$ пмоль/л. Когорта А8 (*MTR-2756AG*, n=42). Через месяц применения средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 26,9 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ увеличился на 30,8 пмоль/л (p < 0,001), достигнув уровня $236,5 \pm 3,2$ пмоль/л. Когорта А9 (*MTR-2756GG*, n=20). В течение первого месяца приема средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 31,8 пмоль/л (p < 0,001). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ увеличился на 25,3 пмоль/л (p < 0,001), достигнув уровня $194,0 \pm 2,9$ пмоль/л.

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты). Когорта В7 (*MTR-2756AA*, n=64). Через месяц саплементации средний уровень витамина В₁₂ в крови увеличился на 0,4 пмоль/л, что является статистически незначимым (p = 0,764). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ увеличился на 0,3 пмоль/л (p = 0,321), достигнув уровня $196,2 \pm 4,8$ пмоль/л. Когорта В8 (*MTR-2756AG*, n=21). В течение первого месяца применения средний уровень витамина В₁₂ увеличился на 3,3 пмоль/л (p = 0,053). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина В₁₂ остался без изменений на уровне $176,4 \pm 4,4$ пмоль/л (p = 1,0). Когорта В9 (*MTR-2756GG*, n=9). Через месяц саплементации средний уровень витамина В₁₂ снизился на 3,6 пмоль/л

($p = 0,008$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} остался стабильным на низком уровне $132,9 \pm 1,9$ пмоль/л.

Генотипы *MTRR-66AA*, *MTRR-66AG*, *MTRR-66GG*.

1 группа (применение кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК). Когорта А10 (*MTRR-66AA*, $n=43$). В течение первого месяца саплементации средний уровень витамина B_{12} в крови увеличился на $29,5$ пмоль/л ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} увеличился на $33,5$ пмоль/л ($p < 0,001$), достигнув уровня $256,9 \pm 5,3$ пмоль/л. Когорта А11 (*MTRR-66AG*, $n=50$). Через месяц применения средний уровень витамина B_{12} увеличился на 29 пмоль/л ($p < 0,001$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} увеличился на $29,6$ пмоль/л ($p < 0,001$), достигнув уровня $227,0 \pm 3,9$ пмоль/л. Когорта А12 (*MTRR-66GG*, $n=7$). В течение первого месяца приема средний уровень витамина B_{12} увеличился на $26,5$ пмоль/л ($p = 0,018$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} увеличился на $27,7$ пмоль/л ($p = 0,018$), достигнув уровня $212,5 \pm 9,7$ пмоль/л.

2 группа (монопрепарат фолиевой кислоты). Когорта В10 (*MTRR-66AA*, $n=10$). Через месяц саплементации средний уровень витамина B_{12} в крови снизился на $2,2$ пмоль/л ($p = 0,005$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} оставался без изменений на уровне $216,0 \pm 12,9$ пмоль/л. Когорта В11 (*MTRR-66AG*, $n=83$). В течение первого месяца применения средний уровень витамина B_{12} увеличился на $1,1$ пмоль/л, что является статистически незначимым ($p = 0,423$). Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} незначительно увеличился на $0,2$ пмоль/л ($p = 0,320$), достигнув уровня $181,8 \pm 4,0$ пмоль/л. Когорта В12 (*MTRR-66GG*, $n=1$). В течение первого месяца саплементации средний уровень витамина B_{12} снизился на $2,1$ пмоль/л. Со 2-го по 3-й визит уровень витамина B_{12} остался стабильным на уровне 208 пмоль/л.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Современная демографическая ситуация в России вызывает серьезную обеспокоенность. Именно поэтому в стране уделяется особое внимание поддержке семьи и деторождения. Угрозу представляют высокая распространенность осложненного течения беременности и врожденных пороков развития, которые оказывают негативное влияние на здоровье ребенка в долгосрочной перспективе. Коррекция модифицируемых факторов риска в период прегравидарной подготовки – основной путь профилактики неблагоприятных исходов гестации.

Дефицит фолатов, витамина В₁₂ приводит к накоплению ГЦ и увеличивает риск развития ВПР, осложнений беременности. Многочисленные исследования показывают, что однонуклеотидные полиморфизмы (*SNP*) генов, кодирующих активность ферментов фолатного цикла, снижают активность ферментов фолатного цикла до 60% (при гомозиготном носительстве минорного аллеля *T*, генотип *MTHFR-677TT*), что приводит к развитию дефицита фолатов и витамина В₁₂, нарушению метаболизма ГЦ, его накоплению, вплоть до формирования ГГЦ [59].

Одной из тенденций современной медицины является поиск оптимальной схемы фолатной поддержки при подготовке к беременности, которая бы позволила идентифицировать пациентов с потенциальными неблагоприятными исходами и обеспечить максимальный эффект при минимальной дозе фолатов, т. к. доказано, что применение высоких доз фолатов приводит к увеличению уровня в крови неметаболизированной фолиевой кислоты, которая оказывает негативное влияние на деятельность нервной системы и увеличивает риск развития онкологических заболеваний [118]. Международные эксперты разработали рекомендации по прегравидарной подготовке, чтобы не допустить фолатного дефицита, для этого женщинам с наличием полиморфизмов основных генов рекомендуют повышенные дозы фолиевой кислоты, комбинацию с синергистами фолатного цикла (витамин В₁₂), применение метаболически активной формы фолатов – метафолина. Однако рекомендации противоречивы, не содержат конкретных указаний по оптимальной

продолжительности. Поэтому врачу, рутинно отвечающему за прегравидарную подготовку, сложно разобраться в особенностях и предлагаемых нюансах.

Развитие клинической фармакологии и генетики открывает новые возможности персонализации прегравидарной подготовки путем учета генетических особенностей женщины с целью оптимизации фолатной поддержки, особенно в случаях прогнозируемого риска развития репродуктивных нарушений.

По результатам генотипирования, проведенного в диссертационном исследовании, получены данные о высокой распространенности полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин европеоидной расы, проживающих в г. Москва и планирующих беременность: *MTHFR-677CT* – 48,5%, *MTHFR-677TT* – 7%; *MTHFR-1298AC* – 27,3%, *MTHFR-1298CC* – 12,9%, *MTR-2756AG* – 32,5%, *MTR-2756GG* – 14,9%, *MTRR-66AG* – 68,6%, *MTRR-66 GG* – 4,1%, результаты представлены на Рисунке 4.

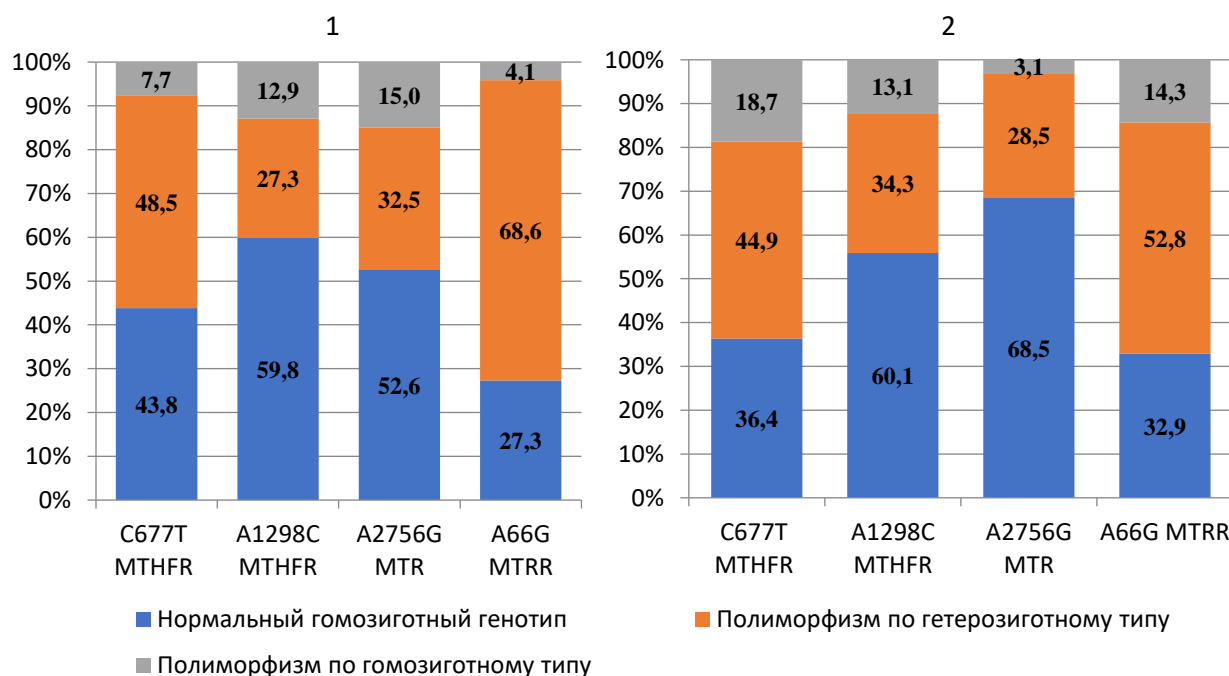


Рисунок 4 – Распределение полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла у участниц исследования (1) в сравнении со среднемировыми данными (2) (%)

Распространенность характеризуется среднестатистической частотой встречаемости полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла по сравнению с данными современной популяционной генетики. В результате проведенного сравнения распространенности частоты минорных аллелей полиморфных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G* с данными мировой популяции выявлено, что частоты минорных аллелей полиморфных генов ферментов фолатного цикла у участниц исследования аналогичны мировым общепопуляционным показателям, результаты представлены в Таблице 17.

Установлено, что распределение генотипов *MTHFR-C677T* ($\chi^2 = 1,54$; $p < 0,05$) соответствует равновесию Харди-Вайнберга, распределение генотипов *MTHFR-A1298C* ($\chi^2 = 7,32$; $p < 0,05$), *MTR-A2756G* ($\chi^2 = 11,72$; $p < 0,05$), *MTR-A2756G* ($\chi^2 = 37,36$; $p < 0,05$) не соответствуют равновесию Харди-Вайнберга, что объясняется существенным влиянием на исследуемую популяцию в г. Москва таких факторов, как миграция.

В ходе исследования выявлена взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* с уровнем фолатов в крови обследованных женщин до проведения прегравидарной подготовки. Дефицит фолатов обнаружен только у пациенток, имеющих носительство минорной аллели, с генотипами: *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG*; пациенток, имеющих гомозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами: *MTHFR-677TT*, *MTR-2756GG*, *MTHFR-1298CC*, *MTRR-66GG*. Оптимальные уровни фолатов, более 7 нг/мл, при которых развитие осложнений и ВПР минимальны, диагностированы у женщин с нормальным генотипом, без носительства минорной аллели: *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*; и у пациенток, имеющих гетерозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами: *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG*. Данные представлены на Рисунке 5

Таблица 17 – Распространенность минорных аллелей полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTR-2756A>G*, *MTRR-66A>G* в группе пациенток, включенных в исследование в сравнении с международными данными

Исследование	Кол-во участников исследования, абс.	Частота Т-аллели гена <i>MTHFR-C677T</i> , %	Р	Частота аллели С гена <i>MTHFR-A1298C</i> , %	Р	Частота G-аллели гена <i>MTR-A2756G</i> , %	Р	Частота G-аллели гена <i>MTRR-A66G</i> , %	Р
Настоящее исследование	194	32	-	32	-	31	-	38	-
Agodi A. et al [140]	614	44	P=0,3	44	P=0,3	N	N	N	N
Cirillo M. et al. [135]	393	56	P=0,12	56	P=0,12	N	N	N	N
Barbosa P.R. et al. [61]	275	31	P=0,8	31	P=0,8	16	P=0,18	43	P=0,4
Zara-Lopes T. et al. [192]	144	32	P=1	32	P=1	31	P=1	N	N
Li W. X. et al.[144]	425	50	P=0,08	50	P=0,08	19	P=0,34	42	P=0,5
Brandalize A. et al. [173]	100	36	P=0,3	36	P=0,3	22	P=0,41	36	P=0,8
Hiraoka M., Kagawa Y.[131]	250	41	P=0,26	41	P=0,26	17	P=0,27	23	P=0,08
De Marco P. et al. [200]	2010	N	N	N	N	10	P=0,09	N	N
Cakina S. et al.[189]	80	N	N	N	N	N	N	42	P=0,5
Alset D. et al. [65]	56	N	N	N	N	N	N	52	P=0,09

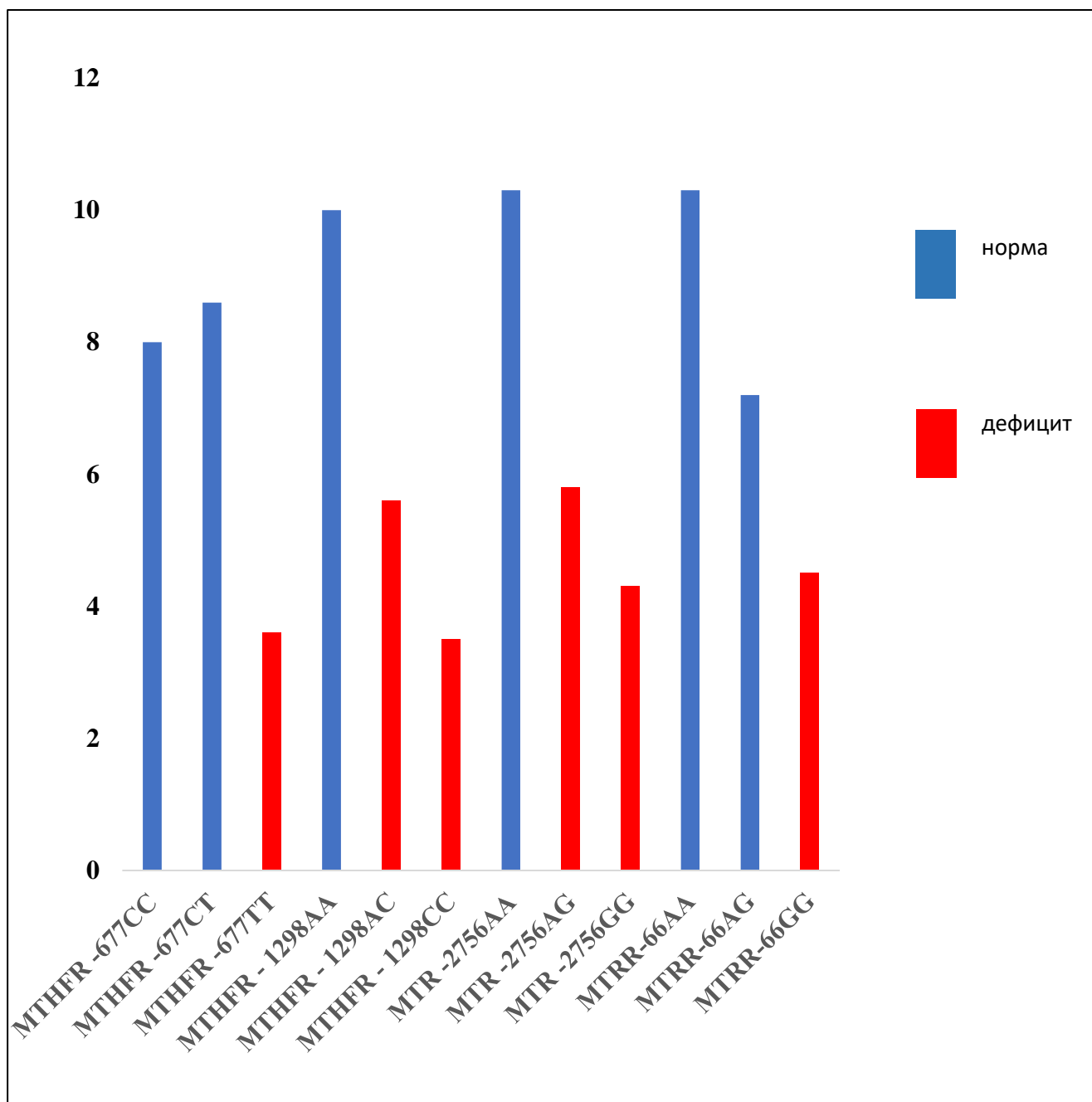


Рисунок 5 – Уровень фолатов крови (нг/мл) в зависимости от генотипа

Полиморфизмы *MTR-A2756G* и *MTRR-A66G* связаны с пониженной активностью ферментов, что приводит к повышению уровня гомоцистеина и незначительно влияет на уровень фолатов в крови.

Выполнение дополнительного анализа с целью объяснения дефицита фолатов у женщин с генотипами *MTR-2756AG*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66GG* подтвердило, что наличие сочетанного генотипа *MTR-A2756G/MTHFR-C677T*,

MTR-A2756G/MTHFR-A1298C, *MTRR-A66G/MTHFR-C677T*, *MTRR-A66G/MTHFR-A1298C* оказывает значительное влияние на уровень фолатов в крови.

Результаты представлены в Таблице 18. У пациенток с сочетанным генотипом, имеющими два однонуклеотидных (*SPN*) полиморфизма в гомозиготном варианте, *MTR-2756GG/MTHFR-1298CC*, наблюдался дефицит фолатов ($3,4 \pm 0,19$ нг/мл; $p < 0,001$), в сравнении с уровнем фолатов $7,3 \pm 0,48$ нг/мл у женщин с сочетанным генотипом *MTR-2756GG/MTHFR-1298AA*, где ген *MTHFR* является гомозиготным по нормальному «дикому» аллелю А.

Полученные результаты исследования показывают, что сочетание *SPN* полиморфизмов генов *MTR*, *MTRR* и *MTHFR* усиливает метаболический дефицит фолатов. Вероятной причиной является кумулятивное снижение активности ключевых ферментов фолатного цикла, что приводит к снижению уровня фолатов в крови [15].

Таблица 18 – Уровни фолатов сыворотки крови у женщин имеющих комбинации полиморфизмов *MTR-A2756G* и *MTRR-A66G* с полиморфизмами гена *MTHFR* (*A1298C* и *C677T*) до начала прегравидарной подготовки

Вид сочетанного генотипа двух полиморфизмов		Количество пациентов		Уровень фолатов (нг/мл), $M \pm m$	Различие между группами (p-value, U-критерий Манна-Уитни)
		(n)	%		
<i>MTR-2756GG</i>	<i>MTHFR-1298CC</i>	17	59%	$3,4 \pm 0,19$	$p1vs3 < 0,001^*$
	<i>MTHFR-1298AC</i>	8	28%	$4,7 \pm 0,4$	$p2vs3 < 0,001^*$
	<i>MTHFR-1298AA</i>	4	14%	$7,3 \pm 0,48$	-
Всего		29			
<i>MTR-2756AG</i>	<i>MTHFR-1298CC</i>	8	13%	$3,9 \pm 0,54$	$p1vs3 < 0,001^*$
	<i>MTHFR-1298AC</i>	29	46%	$5,1 \pm 0,25$	$p2vs3 < 0,001^*$
	<i>MTHFR-1298AA</i>	26	41%	$7,2 \pm 0,38$	-
Всего		63			

Продолжение Таблицы 18

<i>MTRR-66GG</i>	<i>MTHFR-677CC</i>	3	37%	7,01±0,8	-
	<i>MTHFR-677CT</i>	4	50%	4,9±0,78	p1vs2<0,001*
	<i>MTHFR-677TT</i>	2	25%	3,34±0,9	p1vs3<0,001*
Всего		9			
<i>MTR-2756GG</i>	<i>MTHFR-677CC</i>	8	28%	7,08±0,35	-
	<i>MTHFR-677CT</i>	11	38%	5,2±0,65	p1vs2<0,001*
	<i>MTHFR-677TT</i>	10	34%	3,5±0,2	p1vs3<0,001*
Всего		29			
<i>MTR-2756AG</i>	<i>MTHFR-677CC</i>	31	49%	7,3±0,31	-
	<i>MTHFR-677CT</i>	27	43%	6,4±0,32	p1vs2<0,002*
	<i>MTHFR-677TT</i>	5	8%	3,6±0,7	p1vs3<0,001*
Всего		63			

*статистически значимое различие

Выявлена взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* с уровнем ГЦ до проведения прегравидарной подготовки.

Повышенный уровень ГЦ обнаружен только у пациенток, имеющих носительство минорной аллели, с генотипами *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG*; пациенток, имеющих гомозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTR-2756GG*, *MTHFR-1298CC*, *MTRR-66GG*. Оптимальный уровень ГЦ менее 10 мкмоль/л, при котором частота развития осложнений беременности и ВПР минимальна, диагностирован у женщин с нормальным генотипом, без носительства минорной аллели: *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*; и у пациенток, имеющих

гетерозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG* (данные представлены на Рисунке 6).

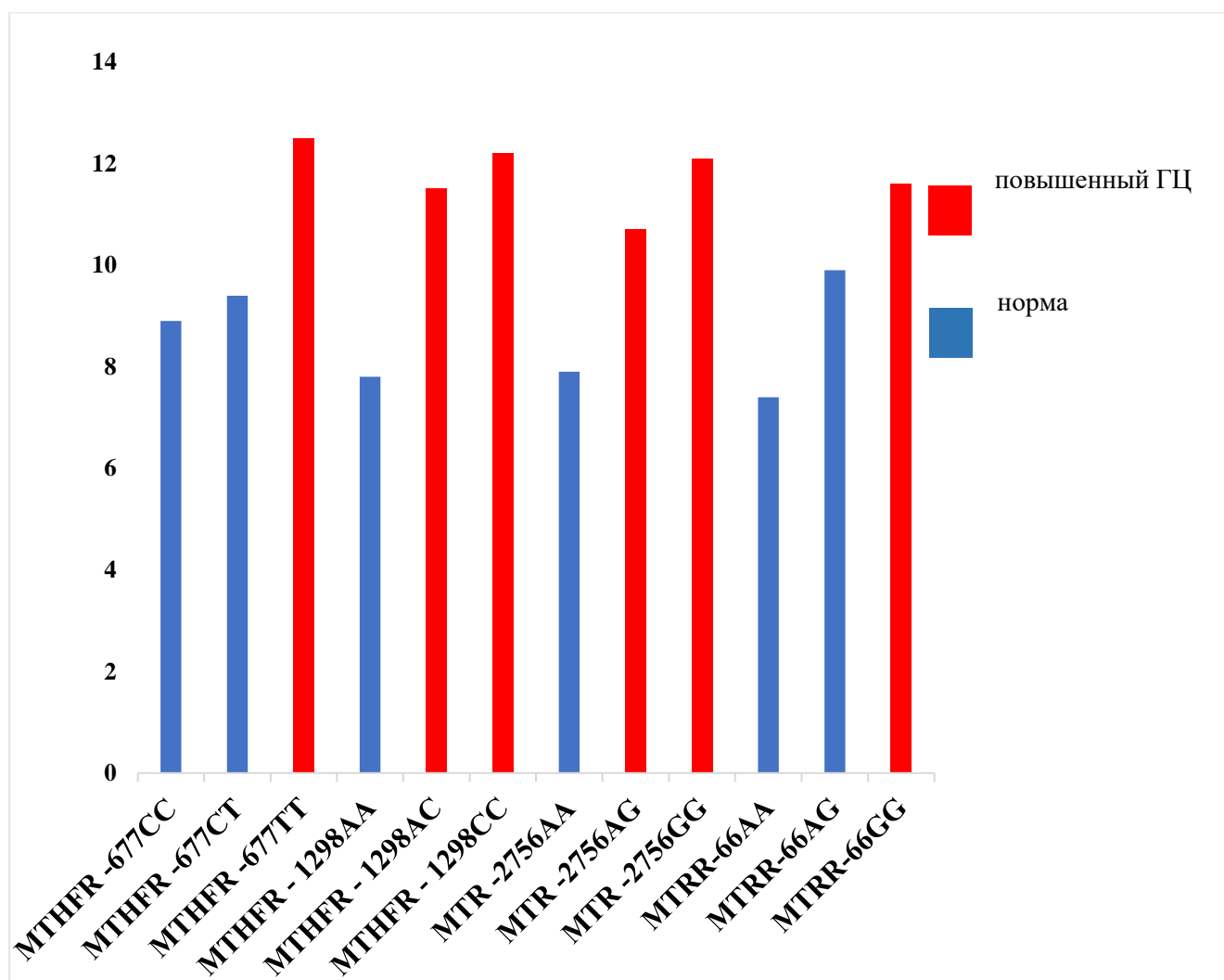


Рисунок 6 – Уровень ГЦ плазмы крови (μмоль/л) в зависимости от генотипа

Установлена взаимосвязь полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G* с дефицитом уровня витамина В₁₂ (данные представлены на Рисунке 7). Дефицит витамина В₁₂ (менее 148 пмоль/л) обнаружен только у пациенток, имеющих гомозиготный вариант носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTR-2756GG*, *MTHFR-1298CC*.

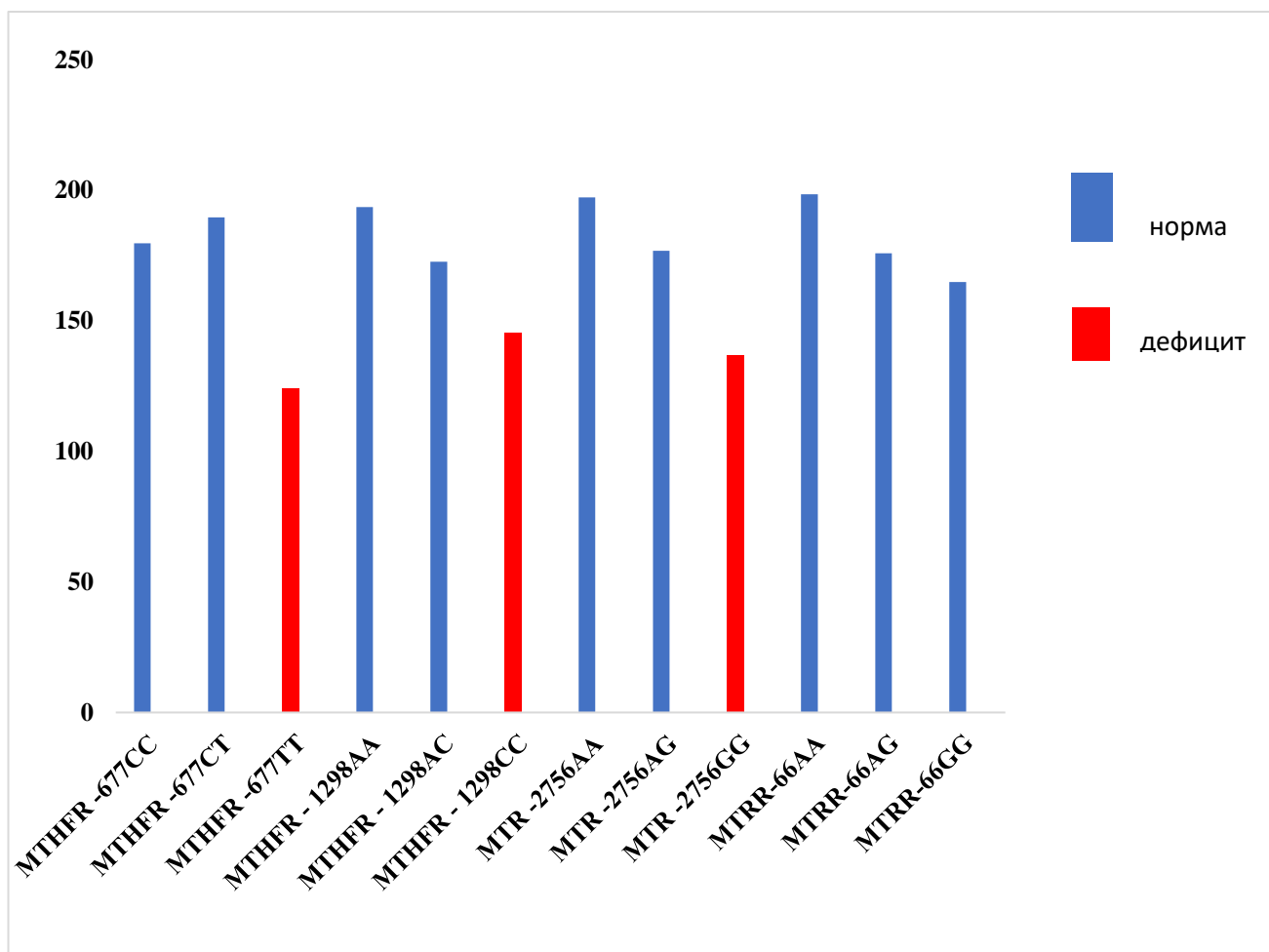


Рисунок 7 – Уровень витамина В₁₂ в крови (пмоль/л) в зависимости от генотипа

Полученные данные соответствуют опубликованным в литературе, согласно которым у женщин до проведения прегравидарной подготовки наличие минорной аллели полиморфизмов основных генов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* ассоциировано с дефицитом фолиевой кислоты и повышенным уровнем ГЦ, а дефицит витамина В₁₂ ассоциирован с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTR-2756GG*, *MTHFR-1298CC*.

В ходе настоящего диссертационного исследования достоверно подтверждена ассоциация полиморфизма генов ферментов фолатного цикла с риском развития таких осложнений беременности, как преждевременные роды, гестационная гипертензия, преэклампсия, синдром задержки роста плода. Распределение частоты минорных аллелей основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин с осложненной беременностью в анамнезе был достоверно выше, по сравнению

с женщинами контрольной группы. Показано, что генетическим маркером повышенного риска развития осложнений беременности являются: аллель Т полиморфизма *C677T* гена *MTHFR*, аллель С полиморфизма *A1298C* гена *MTHFR*, аллель G полиморфизма *A2756G* гена *MTR*, аллель G полиморфизма *A66G* гена *MTRR* (данные представлены на Рисунке 8).

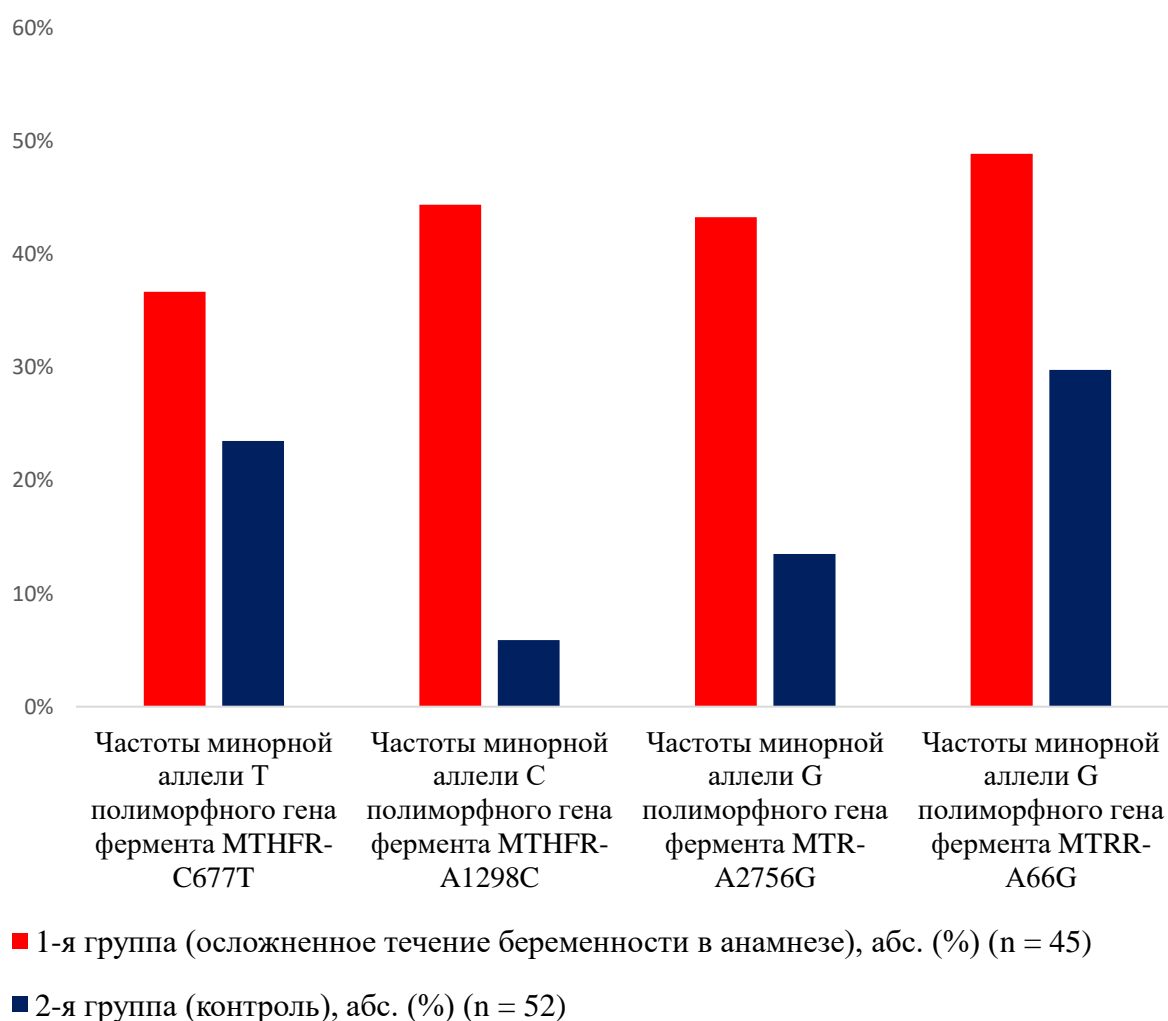


Рисунок 8 – Распределение частоты минорных аллелей основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* у женщин с осложненной беременностью в анамнезе и контрольной группы

Следовательно, при планировании прегравидарной подготовки женщин, у которых определяется носительство минорных аллелей основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*, целесообразно выделять в группы риска и контролировать более тщательно уровень фолатов, ГЦ и витамина В₁₂, с целью профилактики перинатальных

осложнений. Результаты исследования и их анализ отражены в предложенной схеме оптимизации прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* (схема представлена на Рисунке 9).

В ходе диссертационного исследования проведен анализ динамики уровня фолатов, ГЦ, витамина В₁₂ в крови женщин с полиморфизмами основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* на фоне применения двух схем фолатной поддержки. Первая группа женщин применяла кальция L-метилфолат и цианокобаламин в составе ВМК, вторая группа – монопрепарат фолиевой кислоты (ФК) в течение 3 месяцев. Сравнительная оценка этих стратегий проведена впервые.

Анализ полученных результатов показал, что у женщин с генотипами, при которых отсутствует носительство минорной аллели *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA* отсутствует дефицит фолатов и витамина В₁₂, уровень ГЦ в пределах нормальных значений, в связи с чем оба режима микронутриентной фолатной коррекции эффективны для поддержания оптимальных значений, профилактики фолатного дефицита и могут быть использованы с целью прегравидарной подготовки. Средний уровень фолатов в группе применения кальция L-метилфолат и цианкобаламина в составе ВМК у женщин с генотипами *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA* до начала применения составлял 7,4±0,5нг/мл, 10,2±0,5нг/мл, 11,2±0,7нг/мл, 10,8±0,5нг/мл соответственно, через 1 месяц применения наблюдалось увеличение уровня фолатов до 13,5±0,7нг/мл, 19,0±1,5нг/мл, 19,0±1,9нг/мл, 19,1±1,7нг/мл соответственно; средний уровень ГЦ до начала применения составлял 9,3±0,4мкмоль/л, 7,6±0,4мкмоль/л, 7,4±0,4мкмоль/л, 7,0±0,3мкмоль/л и после 1 месяца применения – 6,5±0,3мкмоль/л, 5,8±0,3мкмоль/л, 5,8±0,3мкмоль/л, 5,3±0,2мкмоль/л соответственно. Средний уровень фолатов в группе применения монопрепарата ФК у женщин с генотипами *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA* составлял 9,0±0,6 нг/мл, 9,8±0,5 нг/мл, 9,8±0,5 нг/мл,

8,0±0,6 нг/мл соответственно, через 1 месяц применения наблюдалось достоверное увеличение уровня фолатов до 10,3±0,7 нг/мл, 11,0±0,5 нг/мл, 11,1±0,5 нг/мл, 9,1±0,7 нг/мл соответственно; средний уровень ГЦ до начала применения составлял 8,3±0,5 мкмоль/л, 8,0±0,3 мкмоль/л, 8,1±0,4 мкмоль/л, 9,1±0,6 мкмоль/л и после 1 месяца применения – 7,5±0,4 мкмоль/л, 7,2±0,3 мкмоль/л, 7,2±0,3 мкмоль/л, 8,2±0,6 мкмоль/л соответственно.

У женщин с гетерозиготным вариантом носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677CT*, *MTRR-66GA* оба режима микронутриентной фолатной поддержки могут быть использованы с целью прегравидарной подготовки. Однако более значимое повышение уровня фолатов и витамина В₁₂, снижение уровня ГЦ выявлено у женщин 1-й группы на фоне применения кальция L-метилфолат и цианокобаламина в составе ВМК (средний уровень фолатов до начала приема составлял 8,9±0,7 нг/мл, 5,6±0,3 нг/мл и после 1 месяца применения – 18,1±2,0 нг/мл, 12,2±0,9 нг/мл соответственно; средний уровень ГЦ до начала применения составлял 9,5±0,5 мкмоль/л, 11,5±0,3 мкмоль/л и после 1 месяца применения – 6,8±0,4 мкмоль/л, 8,8±0,2 мкмоль/л соответственно; средний уровень витамина В₁₂ составлял 182,1±4,7 пмоль/л, 158,3±8,4 пмоль/л и после 1 месяца приема – 210,0±5,3 пмоль/л, 197,4±3,4 пмоль/л). У женщин с генотипами *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG* применение монопрепарата ФК поддерживает оптимальный уровень фолатов, ГЦ и витамина В₁₂, в течение 1 месяца проведения прегравидарной подготовки средний уровень фолатов до начала приема составлял 8,4±0,6 нг/мл, 8,2±0,5 нг/мл и после 1 месяца применения – 9,5±0,6 нг/мл, 9,4±0,5 нг/мл соответственно; средний уровень ГЦ до начала приема 9,3±0,4 мкмоль/л, 9,2±0,3 мкмоль/л и после 1 месяца применения – 8,4±0,4 мкмоль/л, 8,3±0,3 мкмоль/л.

Для женщин с гетерозиготным вариантом носительства минорной аллели с генотипом *MTHFR-1298AC* предпочтителен режим с применением кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК. Этот режим обеспечивает в течение 1 месяца применения устранение дефицита фолатов и ГЦ (до применения уровень фолатов 5,9±0,6 нг/мл после 12,6±1,0 нг/мл, уровень ГЦ –

11,2±0,4 мкмоль/л и после 1 месяца применения – 8,7±0,3 мкмоль/л). У женщин с генотипом *MTHFR-1298AC* применение монопрепарата ФК не скорректировало фолатный дефицит даже после 3 месяцев применения (до применения 5,2±0,5 нг/мл, после – 6,7±0,5 нг/мл), при этом достоверно скорректировало ГЦ (до начала уровень ГЦ 11,7±0,4 мкмоль/л и после 3 месяцев применения – 8,5±0,2 мкмоль/л).

У женщин с гетерозиготным вариантом носительства минорной аллели, с генотипом *MTR-2756AG* оба режима микронутриентной фолатной поддержки могут быть использованы с целью прегравидарной подготовки. Режим с применением кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК обеспечивает в течение 1 месяца применения устранение дефицита фолатов и ГЦ (до применения уровень фолатов 6,1±0,3 нг/мл, после – 13,3±1,2 нг/мл, уровень ГЦ 10,3±0,4 мкмоль/л и после 1 месяца применения – 7,9±0,3 мкмоль/л). Использование монопрепарата ФК менее эффективно: через 1 месяц саплементации дефицит фолатов и ГЦ не были скорректированы, только через 3 месяца саплементации уровни фолатов и ГЦ достигли среднего оптимального значения (до применения уровень фолатов – 5,4±0,4 нг/мл, после – 7,0±0,5 нг/мл, уровень ГЦ – 11,2±0,5 мкмоль/л, и после 3-х месяцев применения – 8,8±0,2 мкмоль/л). В связи с чем женщинам с гетерозиготным вариантом носительства минорной аллели с генотипом *MTR-2756AG* целесообразно при применении схемы с монопрепаратом ФК рекомендовать продолжительность прегравидарной подготовки не менее 3-х месяцев под контролем уровня фолатов.

У женщин с гомозиготным вариантом носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66GG* предпочтителен режим прегравидарной подготовки с применением кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе ВМК, только этот режим обеспечивает быстрое устранение дефицита фолатов. Уровень фолатов до начала применения составлял соответственно 3,3±0,5 нг/мл, 3,5±0,2 нг/мл, 4,7±0,4 нг/мл, 4,2±0,5 нг/мл и после 1 месяца применения составил 9,8±3,5 нг/мл, 8,0±0,6 нг/мл, 11,6±1,4 нг/мл, 12,0±3,2 нг/мл соответственно; средний уровень ГЦ до начала применения –

13,0±0,3 мкмоль/л, 12,2±0,1 мкмоль/л, 11,9±0,4 мкмоль/л, 11,4±0,6 мкмоль/л и после 1 месяца применения – 9,7±0,2 мкмоль/л, 9,0±0,2 мкмоль/л, 8,9±0,3 мкмоль/л, 8,6±0,4 мкмоль/л. У женщин с генотипами *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG* дефицит цианкобаламина за период наблюдения был скорректирован: до начала применения – 147,0±6,0 пмоль/л, 136,9±8,7 пмоль/л, 194, после 1 месяца применения – 178,9±5,8 пмоль/л, 168,7±2,5 пмоль/л соответственно. Использование монопрепарата фолиевой кислоты не эффективно у пациентов, имеющих генотипы *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66GG*, через 3 месяца саплементации дефицит фолатов и ГГЦ не были скорректированы. Уровень фолатов до начала применения – 3,8±0,2 нг/мл, 3,7±0,5 нг/мл, 3,5±0,3 нг/мл, 7,1 нг/мл, и после 3-х месяцев применения – 4,9±2,0 нг/мл, 4,9±0,6 нг/мл, 4,5±0,3 нг/мл, 9,3 нг/мл соответственно; уровень ГЦ до начала применения – 12,1±0,3 мкмоль/л, 12,1±0,5 мкмоль/л, 12,3±0,4 мкмоль/л, 11,6 мкмоль/л, и после 3-х месяцев применения – 10,2±0,2 мкмоль/л, 10,2±0,3 мкмоль/л, 10,4±0,2 мкмоль/л, 10,3 мкмоль/л. У женщин с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG* дефицит цианкобаламина за период наблюдения усугублялся: до начала применения – 137,6±1,6 пмоль/л, 143,0±4,8 пмоль/л, 136,5±1,9 пмоль/л соответственно, и после 3-х месяцев применения монопрепарата ФК уровень снизился до 133,7±1,8 пмоль/л, 141,5±6,5 пмоль/л, 132,9±1,9 пмоль/л соответственно.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты позволяют разработать схему оптимальной прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G* (схема представлена на Рисунке 9).

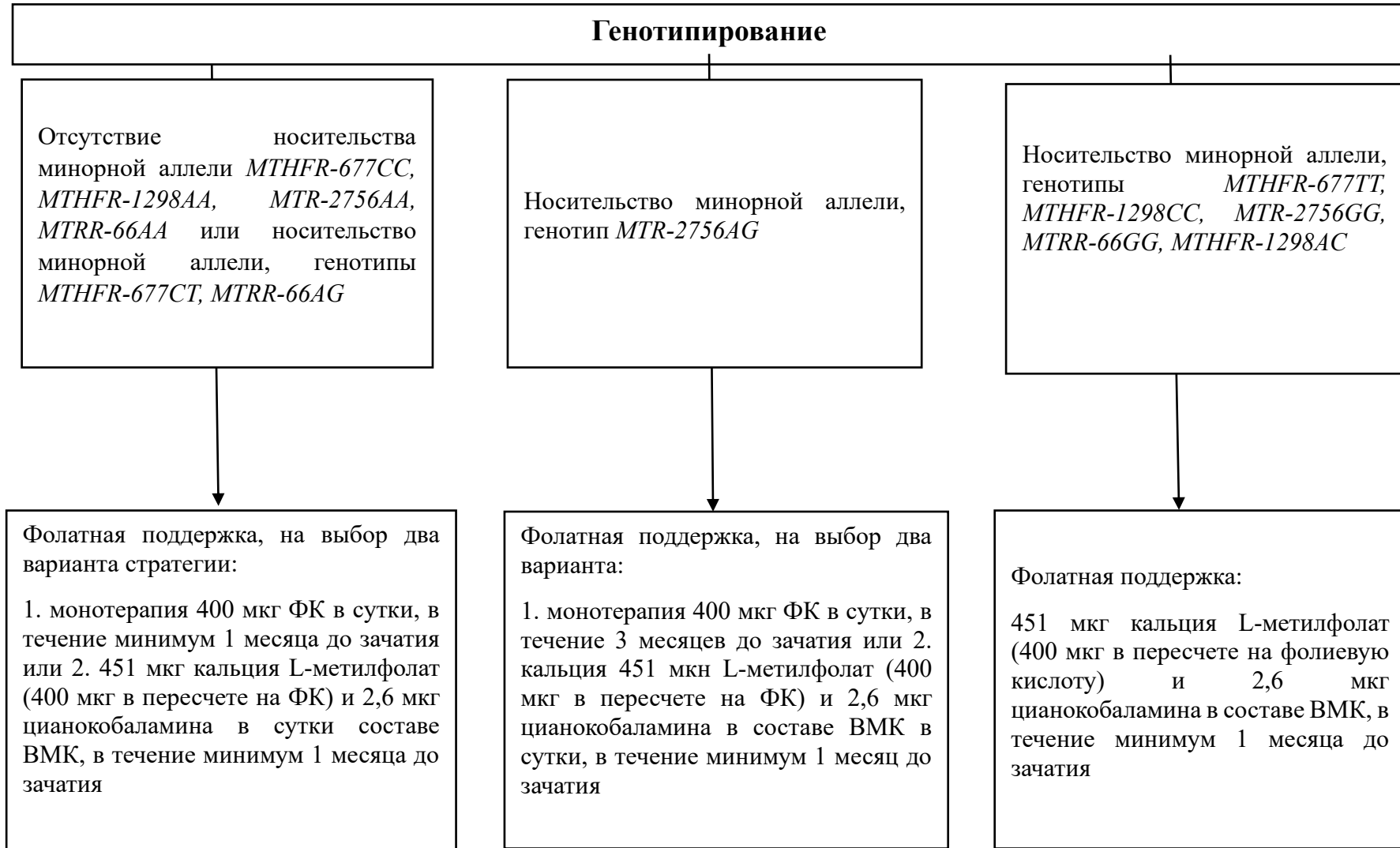


Рисунок 9 – Схема оптимизации прегравидарной подготовки путем применения различных форм фолатов у пациенток в зависимости от вариантов носительства минорной аллели основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Текущее диссертационное исследование посвящено оптимизации прегравидарной подготовки с целью профилактики фолат-дефицитных состояний, которые ассоциируются с повышенным риском врожденных пороков и осложнений беременности.

Международные и отечественные профессиональные ассоциации едины в своих рекомендациях – необходима дотация ФК для устранения фолат-дефицитного состояния, снижения рисков развития ВПР и осложнений беременности. Однако, естественные фолаты пищи, фолат-содержащие препараты демонстрируют вариабельность биодоступности, которая определяется наличием или отсутствием однонуклеотидных полиморфизмов генов, кодирующих активность основных ферментов фолатного цикла: *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*. Фолатный цикл сопряжен с циклом синтеза аминокислоты метионина из гомоцистеина, при участии витамина В12 и двух ферментов: метионин-синтазы (MTR) и метионин-синтаз-редуктазы (MTRR).

Распространенность полиморфизмов основных генов фолатного цикла в европейской популяции высока, например частота встречаемости гетерозиготного по минорной аллели T генотипа *MTHFR-C677T* достигает 50%.

Доказано, что однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов, кодирующих активность ферментов фолатного цикла, достоверно являются одной из основных причин гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и ассоциированных с ней осложнений беременности, таких как ВПР, преждевременные роды, отслойка плаценты, задержка роста плода, преэклампсия.

В рамках работы было установлено, что у женщин с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66AA*, *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG*, в которых присутствуют минорные аллели полиморфизмов основных генов фолатного цикла, наблюдается статистически значимо повышенный уровень гомоцистеина и сниженный уровень фолатов по сравнению с женщинами, не

имеющими носительства минорной аллели ($p < 0,001$). Эти изменения отклонялись от пороговых значений, обеспечивающих минимальный риск развития осложнений беременности.

У женщин европеоидной расы с различными вариантами носительства минорных аллелей генов фолатного цикла (*MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*) были исследованы уровни фолатов, гомоцистеина и витамина В12 в крови в динамике во время прегравидарной подготовки с использованием 400 мкг фолиевой кислоты (ФК) или кальция L-метилфолата и цианокобаламина в составе витаминно-минерального комплекса (ВМК).

На основе этих данных была разработана персонализированная схема применения различных форм фолатов в прегравидарный период, учитывающая индивидуальные генетические особенности женщин. Эта схема позволяет достичь оптимальной коррекции дефицита фолатов и минимизировать риск развития врожденных пороков и осложнений беременности.

ВЫВОДЫ

1. У женщин европеоидной расы, репродуктивного возраста, встречаемость полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла сопоставима с мировым общепопуляционным показателями. Частота *MTHFR-677CT* – 48,5%, *MTHFR-677TT* – 7%; *MTHFR-1298AC* – 27,3%, *MTHFR-1298CC* – 12,9%, *MTR-2756AG* – 32,5%, *MTR-2756GG* – 14,9%, *MTRR-66AG* – 68,6%, *MTRR-66 GG* – 4,1%.

2. У женщин с генотипами *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*, *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG* уровень фолатов крови превышал значение 7 нг/мл, а уровень ГЦ плазмы крови составил менее 10 мкмоль/л, что находится в пределах оптимальных значений, при которых развитие осложнений беременности и ВПП минимальны.

3. У женщин с носительством минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66AA*, *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG* в сравнении с женщинами, не имеющими носительства минорной аллели, отмечался статистически значимо повышенный средний уровень ГЦ ($p < 0,001$) и сниженный уровень фолатов ($p < 0,001$), что отклонялось от пороговых значений, обеспечивающих минимальный риск развития осложнений беременности и ВПП.

4. Женщины с гомозиготным вариантом носительства минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTR-2756GG*, *MTHFR-1298CC* имеют статистически значимо более низкий уровень витамина В₁₂ по сравнению с женщинами, не имеющими носительства минорной аллели: $124,3 \pm 4,0$ vs $179,7 \pm 3,0$ пмоль/л ($p < 0,001$), $145,4 \pm 4,0$ vs $193,6 \pm 3,2$ пмоль/л ($p < 0,001$), $136,8 \pm 1,0$ vs $197,3 \pm 3,4$ пмоль/л ($p < 0,001$) соответственно.

5. У женщин с генотипами, в которых присутствуют минорные аллели полиморфизмов генов *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*, выявлен повышенный риск осложнений беременности, ОШ: 1,92, ДИ [1,00-3,80], $p=0,004$; 12,87, ДИ [4,99-39,74], $p < 0,001$; 4,87, ДИ [2,33-10,7], $p < 0,001$; 2,24, ДИ [1,20-4,24], $p=0,008$ соответственно.

6. У женщин с генотипами *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*, *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG* применение кальция L-метилфолата (451мкг) и цианокобаламина (2,6 мкг) в составе ВМК через 1 месяц применения в течение месяца увеличивает уровень фолатов и снижает уровень ГЦ. Средний уровень фолатов увеличился на 82%, 87%, 70%, 77%, 103%, 118% ($p < 0,001$), средний уровень ГЦ снизился на 30%, 24%, 22%, 24%, 28%, 23% ($p < 0,001$) соответственно. При применении монопрепарата фолиевой кислоты (400 мкг) в течение 1 месяца средний уровень фолатов вырос на 14%, 12%, 13% ($p < 0,001$), 14% ($p < 0,005$), 13%, 30% ($p < 0,001$); средний уровень ГЦ снизился на 10%, 10%, 11%, 10%, 10%, 10% ($p < 0,001$) соответственно. В обеих группах у всех женщин уровни фолатов и ГЦ достигли целевых значений и поддерживались на оптимальном уровне.

7. У женщин с носительством минорной аллели, с генотипами *MTHFR-1298AC*, *MTR-2756AG* применение кальция L-метилфолата (451мкг) и цианокобаламина (2,6 мкг) в составе ВМК в течение 1 месяца привело к достижению целевых уровней фолатов и ГЦ ($p < 0,001$). Применение монопрепарата ФК (400мкг) у женщин с генотипом *MTHFR-2756AG* в течение 3 месяцев скорректировало фолатный дефицит и ГГЦ ($p < 0,001$), у женщин с генотипом *MTHFR-1298AC* фолатный дефицит не был скорректирован ($p < 0,001$).

8. У женщин с гомозиготным вариантом носительства минорной аллели, имеющих генотипы *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66GG*, применение кальция L-метилфолата (451 мкг) и цианокобаламина (2,6 мкг) в течение первого месяца приема привело к достижению целевого уровня фолатов, витамина В₁₂ и коррекции уровня ГГЦ у всех пациенток. Уровень фолатов увеличился до $9,8 \pm 3,5$ нг/мл ($p=0,018$); $8,0 \pm 0,6$ нг/мл ($p=0,001$); $11,6 \pm 1,4$ нг/мл ($p < 0,001$); $12,0 \pm 3,2$ нг/мл ($p=0,018$) соответственно, а средний уровень гомоцистеина снизился до $9,7 \pm 0,2$ мкмоль/л ($p=0,018$); $9,0 \pm 0,2$ мкмоль/л ($p=0,001$); $8,9 \pm 0,3$ мкмоль/л ($p < 0,001$); $8,6 \pm 0,4$ мкмоль/л ($p < 0,001$) соответственно. Уровень витамина В₁₂ вырос при генотипе *MTHFR-1298CC* до $178,9 \pm 5,8$ пмоль/л ($p < 0,001$), *MTR-2756GG* – до $168,7 \pm 2,5$ пмоль/л ($p < 0,001$). У женщин с генотипами *MTHFR-*

677TT, MTHFR-1298CC, MTR-2756GG, MTRR-66GG применение монопрепарата ФК (400мкг) не привело к достижению целевого уровня фолатов и ГЦ после 3 месяцев прегравидарной подготовки, а дефицит цианкобаламина за период наблюдения усугубился.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью персонализации прегравидарной подготовки и стратификации риска развития осложнений будущей беременности, ассоциированных с недостаточной обеспеченностью фолатами и гипергомоцистеинемией, целесообразно определение полиморфизмов основных генов ферментов фолатного цикла *MTHFR-C677T*, *MTHFR-A1298C*, *MTR-A2756G*, *MTRR-A66G*.

2. У женщин с генотипами, при которых отсутствует носительство минорной аллели: *MTHFR-677CC*, *MTHFR-1298AA*, *MTR-2756AA*, *MTRR-66AA*, у женщин, имеющих носительство минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677CT*, *MTRR-66AG*, может применяться в качестве стратегии фолатной поддержки для прегравидарной подготовки кальция L-метилфолат (451 мкг, в пересчете на ФК – 400 мкг) и цианокобаламин (2,6 мкг) в составе ВМК или монопрепарат ФК (400 мкг) в течение не менее 1 месяца до зачатия (схема представлена на Рисунке 9).

3. У женщин, имеющих носительство минорной аллели, с генотипом *MTR-2756AG* может применяться в качестве стратегии фолатной поддержки для прегравидарной подготовки: кальция L-метилфолат (451 мкг, в пересчете на ФК – 400 мкг) и цианокобаламин (2,6 мкг) в составе ВМК продолжительностью не менее 1 месяца или монопрепарат ФК (400 мкг) продолжительностью не менее 3-х месяцев до зачатия (схема представлена на Рисунке 9).

4. У женщин, имеющих носительство минорной аллели, с генотипами *MTHFR-677TT*, *MTHFR-1298CC*, *MTR-2756GG*, *MTRR-66GG*, *MTHFR-1298AC* целесообразно для фолатной поддержки применение кальция L-метилфолат (451 мкг, в пересчете на ФК – 400 мкг) и цианокобаламина (2,6 мкг) в составе ВМК продолжительностью не менее одного месяца до зачатия (схема представлена на Рисунке 9).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АД – артериальное давление;
- БАД – биологически активная добавка к пище;
- ВМК – витаминно-минеральный комплекс;
- ВПр – врожденные пороки развития;
- ГГЦ – гипергомоцистеинемия;
- ГСД – гестационный сахарный диабет;
- ГЦ – гомоцистеин;
- ДАД – диастолическое артериальное давление;
- ДФР – дигидрофолатредуктаза;
- ДНТ – дефект нервной трубки;
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;
- ЗРП – задержка роста плода;
- ИМТ – индекс массы тела;
- ИРК – индивидуальная регистрационная карта;
- ЛС – лекарственные средства;
- МАРС – Междисциплинарная ассоциация специалистов репродуктивной
медицины;
- МЗРФ – Министерство здравоохранения Российской Федерации;
- МТ – масса тела при рождении;
- НФК – неметаболизированная фолиевая кислота;
- НЭК – независимый этический комитет;
- НЯ – нежелательное явление;
- ПП – прегравидарная подготовка;
- ПР – побочные реакции;
- САД – систолическое артериальное давление;
- СНФК – синдром неметаболизированной фолиевой кислоты;
- ТГФ – тетрагидрофолат;
- ФК – фолиевая кислота;

ЧДД – число дыхательных движений;

ЧСС – частота сердечных сокращений;

5-MTHF – 5-метил-тетрагидрофолат;

ECN (Expected Common Homozygotes) – ожидаемое распределение нормального генотипа без носительства минорной аллели;

EN (Expected Heterozygotes) – ожидаемое распределение гетерозиготного варианта носительства минорной аллели;

ERN (Expected Rare Homozygotes) – ожидаемое распределение гомозиготного варианта носительства минорной аллели;

MS – метионинсинтетаза;

MTHFR – метилтетрагидрофолат-редуктаза;

MTR – метионинсинтетаза;

MTRR – метионинсинтетазы редуктаза;

NCBI – National Center for Biotechnology Information;

SNP – однонуклеотидных генных полиморфизмов;

SOGC – Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada;

FIGO – International Federation of Gynaecology and Obstetrics;

USPSTF – United States Preventive Services Task Force;

Vs – в сравнении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимбекова, О.А. Исследование отечественного и зарубежного опыта оценки влияния фолиевой кислоты на сохранение женского здоровья / О.А. Алимбекова // Синергия наук. – 2018. – № 20. – С. 755–768.
2. Ассоциация полиморфизма генов F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR с нарушениями репродуктивной функции у женщин / А.Н. Киселева, Е.В. Бутина, Г.А. Зайцева [и др.] // Вятский медицинский вестник. – 2017. – № 2. – С. 24–29.
3. Белобородова, Е.В. Гипергомоцистинемиия и осложненное течение беременности / Е.В. Белобородова, В.О. Бицадзе, С.М. Баймурадова // РМЖ. – 2006. – С. 44–48.
4. Белокриницкая, Т.Е. Молекулярно-генетические предикторы осложнений беременности: монография / Т.Е. Белокриницкая, Н.И. Фролова, Л.И. Анохова. – Новосибирск: Наука, 2019. – 188 с. – ISBN: 978-5-02-038849-9.
5. Витаминно-минеральные комплексы: подготовка к беременности, течение беременности, влияние на плод / А.З. Хашукоева, М.З. Дугиева, И.Ю. Ильина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 9. – С. 126–131.
6. Влияние нарушения обмена фолиевой кислоты и витамина В12 на развитие тяжелых врожденных дефектов нервной трубки у плода и патологии / Э.З. Иругова, А.З. Мидов, З.Ж. Шогенова, Р.К. Сабанова // Проблемы современной науки и образования. – 2019. – № 1. – С. 94–97.
7. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под редакцией В.С. Баранова. – Санкт-Петербург: Эко-Вектор, 2009. – 528 с. – ISBN 978-5-94869-084-1. – Текст: непосредственный.
8. Гипергомоцистеинемия в клинической практике: руководство / Л.А. Озолия, А.З. Кашежева, В.С. Ефимов [и др.]; под редакцией Л.А. Озолия, А.З. Кашежева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 79 с. – ISBN: 5970423203, 9785970423202. – Текст: непосредственный.

9. Демидова, М.А. Фолаты и репродуктивное здоровье женщин: современный взгляд на проблему / М.А. Демидова, А.С. Малыгин // *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* – 2021. – Т. 9. – № 3. – С. 29–34.
10. Донников, А.Е. Мультивитаминные препараты для прегравидарной подготовки: оптимальное содержание фолиевой кислоты / А.Е. Донников // *Медицинский Алфавит.* – 2016. – Т. 2. – № 17. – С. 13–19.
11. Донников, А.Е. Фармакогенетический подход при профилактике фолатного дефицита. L-5-метилтетрагидрофолат или фолиевая кислота? / А.Е. Донников // *Акушерство и гинекология.* – 2015. – № 10. – С. 11–18.
12. Иевлева, К.Д. Распространенность полиморфизма 2756A> G гена метионинсинтазы в популяциях Восточной Сибири / К.Д. Иевлева, Т.А. Баирова // *Геномика и протеомика, Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* – 2014. – № 6. – С. 108–110.
13. Исследование полиморфизма генов фолатного цикла у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий / А.Т. Сугурова, А.Г. Ящук, А.А. Тюрина, Б.И. Ялаев, З.И. Харисова, Р.И. Хусаинова // *Проблемы репродукции.* – 2023. – Т. 29. – №1. – С. 39-47. URL: <https://doi.org/10.17116/repro20232901139> (дата обращения: 16.01.2023)
14. Карева, Е.Н. Тетрагидрофолат: роль в прегравидарной подготовке и ведении беременности / Е.Н. Карева, М.В. Судницына // *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* – 2019. – № 2. – С. 59–63.
15. Клиническая фармакология и фармакотерапия: учебник / под редакцией академика В.Г. Кукеса, профессора А.К. Стародубцева, профессора Е.В. Ших. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 880с. – ISBN: 978-5-9704-5279-0. – Текст: непосредственный.
16. Клиническая фармакология. Акушерство. Гинекология. Бесплодный брак / под ред. В.Е. Радзинского, Р. Н. Аляутдина. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 672 с. – ISBN 978-5-9704-3738-4. – Текст: непосредственный.

17. Клинические рекомендации “Нормальная беременность”. Утверждены Министерством здравоохранения Российской Федерации, 2023. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/288_2. Дата размещения: 15.02.2024. Режим доступа: по подписке.
18. Кодирова, Д.А. Внутрисосудистая активация тромбоцитов у женщин с невынашиванием беременности с наличием и без гипергомоцистеинемии / Д.А. Кодирова, З.И. Убайдуллаева, А.А. Хаджиметов // Журнал междисциплинарных инноваций и научных исследований в Узбекистане. – 2023. – Т. 2. – №15. – С. 166–171.
19. Конорев, М.Р. Роль фолиевой кислоты при планировании и в период беременности / М.Р. Конорев // Вестник фармации. – 2022. – № 1. – С. 68–79.
20. Коррекция фолатного статуса – проблемы и перспективы в Российской Федерации / И.К. Камилова, О.П. Миклин, О.В. Гудзь, А.А. Зинченко // Акушерство и гинекология: новости мнения, обучение. – 2019. – Т. 7. – № 3. – С. 120–129.
21. Кузнецова, И.В. Применение фолиевой кислоты в процессе прегравидарной подготовки и во время беременности / И.В. Кузнецова, В.А. Коновалов // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – №1. – С. 24–31.
22. Кузнецова, И.В. Фолиевая кислота и ее роль в женской репродукции / И.В. Кузнецова, В.А. Коновалов // Гинекология. – 2014. – Т. 16. – № 4. – С. 17–23.
23. Курмачева, Н.А. Акушерские и перинатальные аспекты выбора фолатсодержащих препаратов при невынашивании беременности / Н.А. Курмачева, О.М. Харитонова, Е.В. Верижникова // Гинекология. – 2016. – Т. 18. – № 6. – С. 51–55.
24. Михайлюкова, В.А. Идеальный фолат: миф или реальность? // Доктор. Ру. – 2020. – № 19(8). – С. 55–60. – URL: <https://journaldoctor.ru/catalog/akusherstvo/idealnyy-folat-mif-ili-realnost/>. Дата публикации: 30.10.2020. Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
25. Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине: IV Международный конгресс. 24–27 апреля 2019 г. / Под ред. Н.М.

- Пасман, М.Ю. Денисова: научные материалы конгресса, программа и каталог IV Международного конгресса. – Новосибирск: ИПЦ НГУ, 2019. – 240 с. – ISBN 978-5-4437-0858-4
26. О перспективах использования комбинаций фолиевой кислоты и активных фолатов для нутрициальной поддержки беременности / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Н.К. Тетруашвили, А.Н. Галустян, Н.А. Курицына // *Акушерство и гинекология*. – 2019. – № 4. – С. 87–94.
27. Оптимизация прегравидарной подготовки у пациенток с акушерскими потерями в анамнезе / Л.С. Логутова, Т.С. Будыкина, А.П. Мельников, З.М. Чурсина, Е.А. Таривердиева // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2017. – Т 17. – № 2. – С. 74–77.
28. Особенности прегравидарной подготовки и профилактики репродуктивных потерь при нарушениях фолатного метаболизма / А.М. Щелочков, Е.Ю. Романова, Н.М. Полушина, А.В. Знобишина, А.С. Слепова, М.Т. Тугушев // *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения*. – 2018. – № 4 (22). – С. 59–64.
29. Полиморфизм генов фолатного цикла как фактор риска формирования гипергомоцистеинемии / А.М. Иванов, А.Ж. Гильманов, Н.Н. Малютина [и др.] // *Медико-биологические аспекты оценки воздействия факторов риска*. – 2020. – № 4. – С. 137–146.
30. Прегравидарная подготовка глазами генетика / И.Н. Фетисова, А.И. Малышкина, И.А. Панова [и др.] // *Вестник Ивановской медицинской академии*. – 2020. – Т. 25. – № 3-4. – С. 91–95.
31. Прегравидарная подготовка. Клинический протокол Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС). Версия 3.1 / [Коллектив авторов]. – Москва: Редакция журнала StatusPraesens, 2024. – 124 с. – ISBN 978-5-907218-95-6. – Текст: непосредственный.
32. Прегравидарная подготовка: доказанная польза. Эссенциальные микронутриенты в составе поливитаминных комплексов / В.Е. Радзинский, А.В. Соловьева, О.А. Кузнецова, Т.В. Смирнова // *Доктор. Ру*. – 2020. – № 6. – С. 30–

35. URL: <https://journaldoctor.ru/catalog/akusherstvo/pregravidarnaya-podgotovka-dokazannaya-polza-essentsialnye-mikronutrienty-v-sostave-polivitaminnykh/>. Дата публикации: 23.07.2020. Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
33. Прикладная фармакогенетика: монография / под редакцией Д.А. Сычева. – М.: ООО «Издательство "Триада"», 2021. – 496 с. – ISBN: 5947899825. – Текст: непосредственный.
34. Применение фолатов в профилактике задержки роста плода при беременности / Н.Е. Кан, З.В. Хачатрян, В.Л. Тютюнник, Н.А. Ломова, А.Е. Донников // Медицинский совет. – 2018. – № 13. – С. 65–67.
35. Проблема дефицита витамина В12: актуальность, диагностика и таргетная терапия (по материалам междисциплинарного совета экспертов с международным участием) / Е.В. Екушева, Е.В. Ших, А.С. Аметов, О.Д. Остроумова, В.В. Захаров, С.А. Живолупов, М. Джукич // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2021. – Т. 121. – № 11. – С. 17–25.
36. Пустотина, О.А. Достижения и риски применения фолатов вне и во время беременности / О.А. Пустотина // Медицинский совет. – 2015. – № 9. – С. 92–99. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dostizheniya-i-riski-primeneniya-folatov-vne-i-vo-vremya-beremennosti> (дата обращения: 29.05.2024). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
37. Путинцева, А.В. Ассоциация полиморфизма генов ферментов фолатного цикла и риска развития осложнений беременности / А.В. Путинцева, Е.В. Ших // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2023. – Т. 22. – № 2. – С. 28–32.
38. Путинцева, А.В. Влияние различных режимов фолатной поддержки в прегравидарный период на уровень фолатов, цианокобаламина и гомоцистеина в зависимости от полиморфизма генов ферментов фолатного цикла / А.В. Путинцева // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2023. – № 2. – С. 26–27.
39. Путинцева, А.В. Влияние различных режимов фолатной поддержки в прегравидарный период на уровень гомоцистеина в зависимости от

- полиморфизма генов ферментов фолатного цикла / А. В. Путинцева, Е.В. Ших // Фармакология & Фармакотерапия. – 2022. – № 5. – С. 80–85.
40. Романов, А.Ю. Фолиевая кислота, прегравидарная подготовка и беременность: современные аспекты / А.Ю. Романов, Н.В. Долгушина // Медицинский Совет. – 2021. – № 3. – С. 50–53. URL: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-3-50-53>. Дата публикации: 18.02.2021. Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.
41. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии: учебное пособие / под научной редакцией В.Н. Серова, Г.Т. Сухих, В.Н. Прилепской, В.Е. Радзинского. – 3-е изд. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1134 с. – ISBN: 978-5-9704-4004-9. – Текст: непосредственный.
42. Ферас, А. Активность фермента MTHFR и привычное невынашивание беременности / А. Ферас // Сборник статей XLIV международной научно-практической конференции. – Москва: Научно-издательский центр «Актуальность. РФ». 2022. – 252 с. – ISBN 978-5-6048247-3-3
43. Фетисова, И.Н. Полиморфизм генов фолатного цикла у женщин с невынашиванием беременности / И.Н. Фетисова, А.И. Малышкина, Н.С. Фетисов // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2019. – Т. 24, № 1. – С. 33–36.
44. Фолатдефицитные состояния в акушерской практике и проблема их коррекции / В.О. Бицадзе, Н.В. Самбурова, Н.А. Макацария, А.Л. Мищенко // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2016. – № 10. – С. 38–48.
45. Фролова, Н.И. Потребление фолатов и полиморфизм генов фолатного цикла у здоровых студенток с позиций прогноза репродуктивных нарушений / Н.И. Фролова, Т.Е. Белокриницкая // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2015. – № 5. – С. 29–32.
46. Хилькевич, Е.Г. Витамины для беременных. Активные фолаты со стопроцентным усвоением / Е.Г. Хилькевич, О.И. Языкова // Медицинский совет. – 2017. – № 2. – С. 48–50.
47. Ших, Е.В. Витаминно-минеральный комплекс при беременности / Е.В. Ших, А.А. Махова. – 2-е изд., перераб, и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 432

- с. – ISBN 978-5-9704-6785-5. – Текст: электронный. – URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970467855.html> (дата обращения: 24.05.2024). – Режим доступа: по подписке.
48. Ших, Е.В. Вопросы выбора формы фолата для коррекции фолатного статуса / Е. В. Ших, А. А. Махова // *Акушерство и гинекология*. – 2018. – № 8. – С. 33–40.
49. Ших, Е.В. Коррекция витаминно-минерального статуса во время беременности: реальность и перспективы / Е.В. Ших, А.А. Махова // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 78–87.
50. Ших, Е.В. Многокомпонентные витаминноминеральные комплексы как основа профилактики микронутриентной недостаточности в репродуктивном возрасте / Е.В. Ших, А.А. Махова // *Акушерство и гинекология*. – 2020. – № 1. – С. 54–62.
51. Ших, Е.В. От обезличенной витаминoproфилактики – к персонализированной нутритивной поддержке / Е.В. Ших, Ю.А. Бриль // *Status Praesens*. – 2019. – № 1. – С. 59.
52. Ших, Е.В. Перспективы использования дополнительных не контрацептивных эффектов комбинированных оральных контрацептивов с метафолином у женщин с функциональными нарушениями менструального цикла / Е.В. Ших, Е.Д. Хайтович // *Проблемы репродукции*. – 2019. – Т. 25. – № 5. – С. 78-85.
53. Ших, Е.В. Полиморфизмы генов ферментов фолатного цикла: распространенность, взаимосвязь с уровнем гомоцистеина, фолиевой кислоты и витамина В12 плазмы крови / Е.В. Ших, А.В. Путинцева // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – № 3. – С. 104–111.
54. Ших, Е.В. Фармакогенетические подходы к оптимизации режимов микронутриентной поддержки в период прегравидарной подготовки / Е.В. Ших, А.В. Путинцева // *Фарматека*. – 2022 – Т. 29. – № 9. – С. 38–45.
55. Ших, Е.В. Эндемичность территории по дефициту микронутриентов как критерий формирования состава базового витаминно-минерального комплекса для периконцепционного периода / Е.В. Ших, А.А. Махова // *Акушерство и гинекология*. – 2018. – № 10. – С. 25–32.

- 56.[6S] -5-methyltetrahydrofolate increases plasma folate more effectively than folic acid in women with the homozygous or wild-type 677C→ T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase / R. Prinz-Langenohl, S. Brämswig, O. Tobolski, [et al.] // *British journal of pharmacology*. – 2009. – Vol. 158. – № 8. – P. 2014–2021.
- 57.[6S]-5-Methyltetrahydrofolate is at least as effective as folic acid in preventing a decline in blood folate concentrations during lactation / L.A. Houghton, K.L. Sherwood, R. Pawlosky, S. Ito, D.L. O'Connor // *The American journal of clinical nutrition*. – 2006. – Vol. 83. – № 4. – P. 842–850.
- 58.5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase genotype determines the plasma homocysteine-lowering effect of supplementation with 5-methyltetrahydrofolate or folic acid in healthy young women / I.P. Fohr, R. Prinz-Langenohl, A. Brönstrup, [et al.] // *The American journal of clinical nutrition*. – 2002. – Vol. 75. – № 2. – P. 275–282.
- 59.A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity / I. Weisberg, P. Tran, B. Christensen, [et al.] // *Molecular genetics and metabolism*. – 1998. – Vol. 64. – № 3. – P. 169–172.
- 60.Argyridis, S. Folic acid in pregnancy / S. Argyridis // *Obstetrics, gynecology & reproductive medicine*. – 2019. – Vol. 29. – № 4. – P. 118–120.
- 61.Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women / P.R. Barbosa, S.P. Stabler, A.L.K. Machado, [et al.] // *European journal of clinical nutrition*. Nature Publishing Group. – 2008. – Vol. 62. – № 8. – P. 1010–1021.
- 62.Association Between Hyperhomocysteinemia and Recurrent Miscarriages: A Cross-Sectional Study Set in Saudi Arabia / E.A. Elagab, M.S. Alshahrani, M.Y. Alasmary, [et al.] // *Bahrain Medical Bulletin*. – 2022. – Vol. 44. – № 3.
- 63.Association Between Interpregnancy Interval and Risk of Preterm Birth and Its Modification by Folate Intake: The Japan Environment and Children's Study / K. Tanigawa, S. Ikehara, M. Cui, [et al.] // *Journal of Epidemiology*. Japan Epidemiological Association. – 2023. – Vol. 33. – № 3. – P. 113–119.

64. Association between MTHFR 677C> T polymorphism and vitamin B12 deficiency: a case-control study / K.M Al-Batayneh, M. S. Al Zoubi, M. Shehab, [et al.] // *Journal of medical biochemistry*. – 2018. – Vol. 37(2). – P. 141–147.
65. Association of maternal genetic polymorphisms with fetal growth restriction syndrome in Russian pregnant women from Rostov region / D. Alse, E. Butenko, I. Pokudina, [et al.] // *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. Springer. – 2023. – Vol. 24. – № 1. – P. 73.
66. Association of maternal vitamin B 12 and folate levels in early pregnancy with gestational diabetes: a prospective UK cohort study (PRiDE study) / P. Saravanan, N. Sukumar, A. Adaikalakoteswari, [et al.] // *Diabetologia*. – 2021. – Vol. 64. – P. 2170–2182.
67. Association of MTHFR 677C > T gene polymorphism with neonatal defects: a meta-analysis of 81444 subjects / Juan Li, Danqin Feng, Shiwei He, Hua Yang, Zhiying Su, Huiming Ye // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2022. – Vol. 42. – № 6. – P. 1811–1822. Available at: <https://doi.org/10.1080/01443615.2022.2039908>.
68. B vitamins and one-carbon metabolism: implications in human health and disease / P. Lyon, V. Strippoli, B. Fang, L. Cimmino // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12. – № 9. – P. 2867.
69. Bailey, L.B. Folate status in women of reproductive age as basis of neural tube defect risk assessment / L.B. Bailey, D.B. Hausman // *Annals of The New York Academy of Sciences*. – 2018. – Vol. 1414. – № 1. – P. 82–95.
70. Bailey, S. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake / S. Bailey, J.E. Ayling // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2009. – Vol. 106. – P. 15424–15429.
71. Bayes, J. The bioavailability of various oral forms of folate supplementation in healthy populations and animal models: a systematic review / J. Bayes, N. Agrawal, J. Schloss // *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. – 2019. – Vol. 25. – № 2. – P. 169–180.

72. Before the beginning: nutrition and lifestyle in the preconception period and its importance for future health / J. Stephenson, N. Heslehurst, J. Hall, [et al.] // *The Lancet*. – 2018. – Vol. 391. – № 10132. – P. 1830–1841.
73. Betaine–homocysteine methyltransferase expression in porcine and human tissues and chromosomal localization of the human gene / S.L. Sunden, M.S. Renduchintala, E.I. Park, S.D. Miklasz, T. A. Garrow // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 1997. – Vol. 345. – № 1. – P. 171–174.
74. Blom, H.J. Folic acid, methylation and neural tube closure in humans // *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*. – 2009. – Vol. 85. – № 4. – P. 295–302.
75. Carboni, L. Active Folate Versus Folic Acid: The Role of 5-MTHF (Methylfolate) in Human Health / L. Carboni // *Integrative Medicine*. – 2022. – Vol. 21. – № 3. – P. 36–41.
76. Choline and risk of neural tube defects in a folate-fortified population / G.M. Shaw, R.H. Finnell, H J. Blom, [et al.] // *Epidemiology*. – 2009. – P. 714–719.
77. Common polymorphisms that affect folate transport or metabolism modify the effect of the MTHFR 677C> T polymorphism on folate status / O. Bueno, A.M. Molloy, J.D. Fernandez-Ballart, [et al.] // *The journal of nutrition*. – 2016. – Vol. 146. – № 1. – P. 1–8.
78. Comparative effectiveness of a prenatal medical food to prenatal vitamins on hemoglobin levels and adverse outcomes: a retrospective analysis/ S. Bentley, A. Hermes, D. Phillips, [et al.] // *Clinical therapeutics*. Elsevier. – 2011. – Vol. 33. – № 2. – P. 204–210.
79. Comparison of (6S)-5-methyltetrahydrofolic acid v. folic acid as the reference folate in longer-term human dietary intervention studies assessing the relative bioavailability of natural food folates: comparative changes in folate status following a 16-week placebo-controlled study in healthy adults / A.J. Wright, M.J. King, C.A. Wolfe, [et al] // *British Journal of Nutrition*. – 2010. – Vol. 103. – № 5. – P. 724–729.
80. Concentrations of unmetabolized folic acid and primary folate forms in pregnant women at delivery and in umbilical cord blood / R. Obeid, M. Kasoha, S.H. Kirsch,

- W. Munz, W. Herrmann // *The American journal of clinical nutrition*. – 2010. – Vol. 92. – № 6. – P. 1416–1422.
81. Controlled comparison of L-5-methyltetrahydrofolate versus folic acid for the treatment of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients / A.G. Bostom, D. Shemin, P. Bagley, [et al.] // *Circulation. Am Heart Assoc.* – 2000. – Vol. 101. – № 24. – P. 2829–2832.
82. Copp, A.J. Neural tube defects—disorders of neurulation and related embryonic processes / A.J. Copp, N.D. Greene // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*. – 2013. – Vol. 2. – № 2. – P. 213–227.
83. Coppedè, F. Polymorphisms in folate-metabolizing genes, chromosome damage, and risk of Down syndrome in Italian women: identification of key factors using artificial neural networks / F. Coppedè, E. Grossi, F. Migheli // *BMC medical genomics. BioMed Central*. – 2010. – Vol. 3. – № 1. – P. 1–10.
84. Crider, K.S. Folic acid food fortification—its history, effect, concerns, and future directions / K.S. Crider Bailey, L.B. Bailey, R.J. Berry // *Nutrients. MDPI*. – 2011. – Vol. 3. – № 3. – P. 370–384.
85. Czeizel, A.E. Folate deficiency and folic acid supplementation: the prevention of neural-tube defects and congenital heart defects / A.E. Czeizel, I. Dudás, A. Vereczkey // *Nutrients. MDPI*. – 2013. – Vol. 5. – № 11. – P. 4760–4775.
86. D'Souza, S.W. Homocysteine Metabolism in Pregnancy and Developmental Impacts / S.W. D'Souza, J.D. Glazier // *Front. Cell Dev. Biol.* – 2022. – Vol. 10. – P. 802285. – Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.802285>.
87. Decreased HLA-C1 alleles in couples of KIR2DL2 positive women with recurrent pregnancy loss / X. Yang, E. Yang, W.J. Wang, [et al.] // *Journal of Reproductive Immunology*. – 2020. – Vol. 142. – P. 103186.
88. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion / Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine // *Fertility and sterility*. – 2020. – Vol. 113. – № 3. – P. 533–535.
89. Delgado-Reyes, C.V. Immunohistochemical detection of betaine–homocysteine S-methyltransferase in human, pig, and rat liver and kidney / C.V. Delgado-Reyes, M.A.

- Wallig, T.A. Garrow // Archives of Biochemistry and Biophysics. Elsevier. – 2001. – Vol. 393. – № 1. – P. 184–186.
- 90.Desai, A. The metabolic basis for developmental disorders due to defective folate transport / A. Desai, J. M. Sequeira, E. V. Quadros // Biochimie. – 2016. – Vol. 126. – P. 31–42.
- 91.Describing the prevalence of neural tube defects worldwide: a systematic literature review / I. Zaganjor, A. Sekkarie, B.L. Tsang, [et al.] // PloS one. – 2016. – Vol. 11. – № 4. – P. e0151586.
- 92.Devalia, V. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders / Devalia V., Hamilton M.S., Molloy A.M.; British Committee for Standards in Haematology // British journal of haematology. Wiley Online Library. – 2014. – Vol. 166. – № 4. – P. 496–513.
- 93.Effect of folate deficiency on placental DNA methylation in hyperhomocysteinemic rats / J.M. Kim, K. Hong, J.H. Lee, S. Lee, N. Chang // The Journal of Nutritional Biochemistry. – 2009. – Vol. 20. – № 3. – P. 172–176.
- 94.Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: a systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight, and length of gestation / K. Fekete, C. Berti, M. Trovato, [et al.] // Nutrition journal. – 2012. – Vol. 11. – № 1. – P. 1–8.
- 95.Effect of genetic polymorphisms involved in folate metabolism on the concentration of serum folate and plasma total homocysteine (p-tHcy) in healthy subjects after short-term folic acid supplementation: a randomized, double blind, crossover study / R. Cabo, S. Hernes, A. Slettan, [et al.] // Genes & nutrition. – 2015. – Vol. 10. – P. 1–12.
- 96.Effects and safety of periconceptional oral folate supplementation for preventing birth defects / L.M. De-Regil, J. P. Peña-Rosas, A.C. Fernández-Gaxiola, P. Rayco-Solon // Cochrane database of systematic reviews. – 2015. – № 12. – P. 1-155.
- 97.Epidemiology and (Patho)Physiology of Folic Acid Supplement Use in Obese Women before and during Pregnancy / M. Van Der Windt, S. Schoenmakers, B. Van Rijn, [et al.] // Nutrients. – 2021. – Vol. 13. – № 2. – P. 331. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu13020331>.

98. Estimating the serum folate concentration that corresponds to the red blood cell folate concentration threshold associated with optimal neural tube defects prevention: A population-based biomarker survey in Southern India / A. Fothergill, K.S. Crider, C.E. Rose, [et al.] // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2023. – Vol. 117. – № 5. – P. 985–997.
99. Evaluation of folate metabolism gene polymorphisms as risk factors for open and closed neural tube defects / K. Doudney, J. Grinham, J. Whittaker, [et al.] // *American Journal of Medical Genetics Part A*. – 2009. – Vol. 149. – № 7. – P. 1585–1589.
100. Excessive supplementation with folic acid during prenatal care: literature review / A.C.M. Alessio, L. Junior, Y. Hernandez, [et al.] // *Seven Editora*. – 2023. – P. 1107–1119. URL: <https://sevenpublicacoes.com.br/index.php/editora/article/view/2017>.
101. Fava, M. Evidence for the use of l-methylfolate combined with antidepressants in MDD / M. Fava, R.C. Shelton, J.M. Zajecka // *The Journal of Clinical Psychiatry*. – 2011. – Vol. 72. – № 8. – P. 27693.
102. Ferrazzi, E. Folic acid versus 5- methyl tetrahydrofolate supplementation in pregnancy / E. Ferrazzi, G. Tiso, D. Di Martino // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2020. – Vol. 253. – P. 312–319. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.06.012>.
103. Field, M.S. Safety of folic acid / M.S. Field, P. J. Stover // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2018. – Vol. 1414. – № 1. – P. 59–71.
104. Folate and fetal programming: a play in epigenomics? / J.L. Guéant, F. Namour, R.M. Gueant-Rodriguez, J.L. Daval // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2013. – Vol. 24. – № 6. – P. 279–289.
105. Folate deficiency and over-supplementation causes impaired folate metabolism: regulation and adaptation mechanisms in *Caenorhabditis elegans* / M. Ortbauer, D. Ripper, T. Fuhrmann, [et al.] // *Molecular Nutrition & Food Research*. – 2016. – Vol. 60. – № 4. – P. 949–956.
106. Folate Pathway Gene Single Nucleotide Polymorphisms and Neural Tube Defects: A Systematic Review and Meta-Analysis / A. Almekawi, M. AlJardali, M. Daadaa,

- [et al.] // *Journal of Personalized Medicine*. MDPI. – 2022. – Vol. 12. – № 10. – P. 1609.
107. Folate supplementation during the preconception period, pregnancy and puerperium. Polish Society of Gynecologists and Obstetricians Guidelines / D. Bomba-Opoń, L. Hirnle, J. Kalinka, [et al.] // *Ginekologia Polska*. – 2017. – Vol. 88. – № 11. – P. 633–636.
108. Folic acid and risk of preterm birth: a meta-analysis / B. Li, X. Zhang, X. Peng, S. Zhang, X. Wang, C. Zhu // *Frontiers in Neuroscience*. – 2019. – Vol. 13. – P. 1284.
109. Folic acid and the prevention of birth defects: 30 years of opportunity and controversies / K.S. Crider, Y.P. Qi, L.F. Yeung, [et al.] // *Annual review of nutrition*. Annual Reviews. – 2022. – Vol. 42. – P. 423–452.
110. Folic acid supplementation during early pregnancy and the risk of gestational hypertension and preeclampsia / Z. Li, R. Ye, L. Zhang, H. Li, J. Liu, A. Ren // *Hypertension*. – 2013. – Vol. 61(4). – P. 873-879.
111. Folic acid supplementation during pregnancy for maternal health and pregnancy outcomes / Z.S. Lassi, R.A. Salam, B.A. Haider, Z.A. Bhutta // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2013. – № 3. Published 2013 Mar 28. Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006896.pub2>.
112. Folic acid supplementation in early second trimester and the risk of preeclampsia / S.W. Wen, X.K. Chen, M. Rodger, [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2008. – Vol. 198. – № 1. – P. 45-e1.
113. Folic acid supplementation in pregnancy and the risk of pre-eclampsia a cohort study / S.W. Wen, Y. Guo, M. Rodger, [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – № 2. – P. e0149818.
114. Folic Acid Supplementation to Prevent Neural Tube Defects: US Preventive Services Task Force Reaffirmation Recommendation Statement / US Preventive Services Task Force [et al.] // *JAMA*. – 2023. – Vol. 330. – № 5. – P. 454. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2023.12876>.
115. Folic acid supplementation, preconception body mass index, and preterm delivery: findings from the preconception cohort data in a Chinese rural population / Y. Wang,

- Z. Cao, Z. Peng, [et al] // *BMC pregnancy and childbirth*. – 2015. – Vol. 15. – № 1. – P. 1–9.
116. Folic acid supplementation: what is new? Fetal, obstetric, long-term benefits and risks / N. Moussa, S. Nasab, Z. Haidar, S. Blackwell, B. Sibai // *Future science OA*. – 2016. – Vol. 2 (2). – P. FSO116. Available at: <https://doi.org/10.4155/fsoa-2015-0015>.
117. Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders / H. Blencowe, S. Cousens, B. Modell, J. Lawn // *International journal of epidemiology*. – 2010. – Vol. 39. – P. i110–i121.
118. Folic Acid, Folinic Acid, 5 Methyl TetraHydroFolate Supplementation for Mutations That Affect Epigenesis through the Folate and One-Carbon Cycles / Y. Menezes, K. Elder, A. Clement, P. Clement // *Biomolecules*. – 2022. – Vol. 12. – № 2. – P. 197. Available at: <https://doi.org/10.3390/biom12020197>.
119. Fothergill, A. Vitamin B12 status in women of reproductive age, NHANES 2013–2014 / A. Fothergill, J. Finkelstein // *The FASEB Journal*. – 2017. – Vol. 31. – P. 1b439–1b439.
120. Froese, D.S. Vitamin B12, folate, and the methionine remethylation cycle—biochemistry, pathways, and regulation / D.S. Froese, B. Fowler, M.R. Baumgartner // *Journal of inherited metabolic disease*. – 2019. – Vol. 42. – № 4. – P. 673–685.
121. Garrido-Gimenez, C. Recurrent miscarriage: causes, evaluation, and management / C. Garrido-Gimenez, J. Alijotas-Reig // *Postgraduate medical journal*. – 2015. – Vol. 91. – № 1073. – P. 151–162.
122. Geiman, T.M. DNA methylation in early development / T.M. Geiman, K. Muegge // *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*. – 2010. – Vol. 77. – № 2. – P. 105–113.
123. Genetic Variants in Folate and Cobalamin Metabolism-Related Genes in Pregnant Women of a Homogeneous Spanish Population: The Need for Revisiting the Current Vitamin Supplementation Strategies / G. Rodriguez-Carnero, P.M. Lorenzo, A. Canton-Blanco, [et al.] // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14. – № 13. – P. 2702. <https://doi.org/10.3390/nu14132702>.

124. Global folate status in women of reproductive age: a systematic review with emphasis on methodological issues / L.M. Rogers, A.M. Cordero, C.M. Pfeiffer, [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2018. – Vol. 1431. – № 1. – P. 35–57.
125. Good clinical practice advice: Micronutrients in the periconceptional period and pregnancy / FIGO Working Group on Good Clinical Practice in Maternal–Fetal Medicine // *International journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2019. – Vol. 144. – № 3. – P. 317-321. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijgo.12739>.
126. Gramer, G. Vitamin B12 deficiency in newborns and their mothers – novel approaches to early detection, treatment, and prevention of a global health issue / G. Gramer, G.F. Hoffmann // *Current Medical Science*. – 2020. – Vol. 40. – № 5. – P. 801–809.
127. Guideline: optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects // World Health Organization. – 2015. – 38 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/161988>. (Accessed: 16 September 2023).
128. He, Q. The evolution of folate supplementation—from one size for all to personalized, precision, poly-paths / Q. He, J. Li // *Journal of Translational Internal Medicine*. – 2023. – Vol. 11. – № 2. – P. 128–137.
129. High-dose folic acid supplementation results in significant accumulation of unmetabolized homocysteine, leading to severe oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* / K. Koseki, Y. Maekawa, T. Bito, Y. Yabuta, F. Watanabe // *Redox Biology*. Elsevier. – 2020. – Vol. 37. – P. 101724.
130. Higher maternal plasma folate, vitamin B12 and homocysteine levels in women with preeclampsia / H. Pisal, K. Dangat, K. Randhir, A. Khaire, S. Mehendale, S. Joshi // *Journal of Human Hypertension*. – 2019. – Vol. 33. – № 5. – P. 393–399.
131. Hiraoka, M. Genetic polymorphisms and folate status / M. Hiraoka, Y. Kagawa // *Congenital Anomalies*. – 2017. – Vol. 57. – № 5. – P. 142–149.

132. Homocysteine levels, H-Hypertension, and the MTHFR C677T genotypes: A complex / C. Al Hageh, E. Alefishat, M. Ghassibe-Sabbagh, [et al.] // *Heliyon*. Elsevier. – 2023. – Vol. 9. – № 6. – P. 1–9.
133. Homocysteine, folate, vitamin B12 and B6 in mothers of children with neural tube defects in Xinjiang, China / Q. Gu, Li Y, Z. Cui, X. Luo // *Acta Paediatrica*. – 2012. – Vol. 101. – № 11. – P. e486–e490.
134. Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology / M. De la Calle R. Usandizaga, M. Sancha, [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2003. – Vol. 107. – № 2. – P. 125–134.
135. Homocysteine, vitamin B status and MTHFR polymorphisms in Italian infertile women / M. Cirillo, M.E. Coccia, M. Attanasio, [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2021. – Vol. 263. – P. 72–78.
136. Homocysteine-methionine cycle is a metabolic sensor system controlling methylation-regulated pathological signaling / W. Shen, C. Gao, R. Cueto, [et al.] // *Redox biology*. – 2020. – Vol. 28. – P. 101322.
137. How prevalent is vitamin B 12 deficiency among vegetarians? / R. Pawlak, S.J. Parrott, S. Raj, D. Cullum-Dugan, D. Lucas // *Nutrition reviews*. – 2013. – Vol. 71. – № 2. – P. 110–117.
138. Huemer, M. When to measure plasma homocysteine and how to place it in context: The homocystinurias / M. Huemer // *Journal of mother and child*. – 2020. – Vol. 24. – №2. – P. 39–46. – Published 2020 Oct 2. doi:10.34763/jmotherandchild.20202402si.2016.000007.
139. Hyperhomocysteinaemia: a risk factor for preeclampsia? / M.T. Raijmakers, P.L. Zusterzeel, E.A. Steegers, W.H. Peters // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2001. – Vol. 95. – № 2. – P. 226–228.
140. Increase in the prevalence of the MTHFR 677 TT polymorphism in women born since 1959: potential implications for folate requirements / A. Agodi, M. Barchitta, G. Valenti [et al.] // *European journal of clinical nutrition*. – 2011. – Vol. 65. – № 12. – P. 1302–1308.

141. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos / H. Zetterberg, B. Regland, M. Palmér, [et al.] // *European Journal of Human Genetics*. – 2002. – Vol. 10. – № 2. – P. 113–118.
142. Influence of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism on whole-blood folate concentrations measured by LC-MS/MS, microbiologic assay, and bio-rad radioassay / Z. Fazili, C.M. Pfeiffer, M. Zhang, R.B. Jain, D. Koontz // *Clinical chemistry*. – 2008. – Vol. 54. – № 1. – P. 197–201.
143. Is natural (6 S)-5-methyltetrahydrofolic acid as effective as synthetic folic acid in increasing serum and red blood cell folate concentrations during pregnancy? A proof-of-concept pilot study / K.M. Cochrane, C. Mayer, A.M. Devlin, R. Elango, J.A. Hutcheon, C.D. Karakochuk // *Trials*. – 2020. – Vol. 21. – P. 1–12.
144. Joint associations of folate, homocysteine and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study / W.X. Li, W.W. Lv, S.X. Dai, M.L. Pan, J.F. Huang // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – Vol.14. – P. 1–11.
145. Joint effects of folate and vitamin B12 imbalance with maternal characteristics on gestational diabetes mellitus / S. Li, Y. Hou, X. Yan [et al.] // *Journal of diabetes*. – 2019. – Vol. 11. – № 9. – P. 744–751.
146. Kalhan, S.C. One carbon metabolism in pregnancy: Impact on maternal, fetal and neonatal health / S.C. Kalhan // *Molecular and cellular endocrinology*. – 2016. – Vol. 435. – P. 48–60.
147. Lan, X. Cell cycle regulation of folate-mediated one-carbon metabolism / X. Lan, M.S. Field, P.J. Stover // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*. – 2018. – Vol. 10. – № 6. – P. e1426.
148. Lentz, S. R. Homocysteine is it a clinically important cardiovascular risk factor? / S. R. Lentz, W.G. Haynes // *Cleveland Clinic journal of medicine*. – 2004. – Vol. 71. – № 9. – P. 729.

149. LINE-1 DNA methylation is inversely correlated with cord plasma homocysteine in man: a preliminary study / A.A. Fryer, T.M. Nafee, K.M. Ismail, W.D. Carroll, R.D. Emes, W.E. Farrell // *Epigenetics*. – 2009. – Vol. 4. – № 6. – P. 394–398.
150. Maru, L. Homocysteine as predictive marker for pregnancy-induced hypertension – a comparative study of homocysteine levels in normal versus patients of PIH and its complications / L. Maru, M. Verma, N. Jinsiwale // *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. – 2016. – Vol. 66. – P. 167–171.
151. Maternal biomarkers for early prediction of the neural tube defects pregnancies / U. Yadav, P. Kumar, V. Rai [et al] // *Birth Defects Research*. – 2021. – Vol. 113. – № 7. – P. 589–600.
152. Maternal inositol status and neural tube defects: a role for the human yolk sac in embryonic inositol delivery? / S.W. D'Souza, A. J. Copp, N. D. E. Greene, J. D. Glazier // *Advances in Nutrition*. Oxford University Press. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 212–222.
153. Metabolic Analysis of Methylenetetrahydrofolate Reductase Single Nucleotide Polymorphisms (MTHFR 677C< T and MTHFR 1298A< C), Serum Folate and Vitamin B12 in Neural Tube Defects / M.H. Hassan, M.A. Raslan, M. Tharwat [et al.] // *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. – 2023. – Vol. 38. – № 3. – P. 305–315.
154. Methionine synthase (MTR) 2756 (A→G) polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are three risk factors for having a child with Down syndrome / P. Bosco, R.M. Guéant-Rodriguez, G. Anello, [et al.] // *American Journal of Medical Genetics Part A*. – 2003. – Vol. 121. – № 3. – P. 219–224.
155. Methylene tetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene polymorphisms as genetic determinants of pre-eclampsia / V. Osunkalu, I. Taiwo, C. Makwe, R. Quao // *Pregnancy Hypertension*. – 2020. – Vol. 20. – P. 7–13.
156. Molecular and cellular effects of vitamin B12 forms on human trophoblast cells in presence of excessive folate / T. Shah, K. Joshi, S. Mishra, S. Otiv, V. Kumbar // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2016. – Vol. 84. – P. 526–534.

157. Molloy, A.M. Should vitamin B12 status be considered in assessing risk of neural tube defects? / A.M. Molloy // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2018. – Vol. 1414. – № 1. – P. 109–125.
158. Mostowska, A. Maternal MTR genotype contributes to the risk of non-syndromic cleft lip and palate in the Polish population / A. Mostowska, K. Hozyasz, P. Jagodzinski // *Clinical genetics*. – 2006. – Vol. 69. – № 6. – P. 512–517.
159. Mullins, E. Annual Report of the Chief Medical Officer, 2014 The Health of the 51%: Women / E. Mullins, S. Davies // *Department of Health* - 2015.
160. Murphy, M.M. Homocysteine in pregnancy / M.M. Murphy, J.D. Fernandez-Ballart // *Advances in clinical chemistry*. – 2011. – Vol. 53. – № 53. – P. 105–137.
161. Novel Review of Homocysteine and Pregnancy Complications / C. Dai, Y. Fei, J. Li, Y. Shi, X. Yang // *BioMed Research International*. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1–14.
162. Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: a multicenter case–control study / M. Candito, R. Rivet, B. Herbeth [et al.] // *American Journal of Medical Genetics Part A*. – 2008. – Vol. 146. – № 9. – P. 1128–1133.
163. One carbon metabolism and mammalian pregnancy outcomes / S. Cai, S. Quan, G. Yang [et al.] // *Molecular Nutrition & Food Research*. – 2021. – Vol. 65. – № 2. –P. 2000734.
164. Parental genetic variants, MTHFR 677C> T and MTRR 66A> G, associated differently with fetal congenital heart defect / Q.N. Guo, H. D. Wang, L. Z. Tie [et al.] // *BioMed Research International*. – 2017. – Vol. 2017. – Epub 2017 Jul 3. <https://doi.org/10.1155/2017/3043476>.
165. Paul, L. Interaction between excess folate and low vitamin B12 status / L. Paul, J. Selhub // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2017. – Vol. 53. –P. 43–47.
166. Periconception folic acid supplementation, fetal growth and the risks of low birth weight and preterm birth: the Generation R Study / S. Timmermans, V.W. Jaddoe, A. Hofman [et al.] // *British Journal of Nutrition*. – 2009. – Vol. 102. –№ 5. – P. 777–785.

167. Periconceptional dietary intake of choline and betaine and neural tube defects in offspring / G.M. Shaw, S.L. Carmichael, W. Yang [et al.] // *American journal of epidemiology*. – 2004. – Vol. 160. – № 2. – P. 102–109.
168. Periconceptional multivitamin use reduces the risk of preeclampsia / L.M. Bodnar, G. Tang, R. Ness [et al.] // *American journal of epidemiology*. – 2006. – Vol. 164. – № 5. – P. 470–477.
169. Pharmacokinetic study on the utilisation of 5-methyltetrahydrofolate and folic acid in patients with coronary artery disease / F.F. Willems, G.H. Boers, H.J. Blom [et al.] // *British journal of pharmacology*. – 2004. – Vol. 141. – № 5. – P. 825–830.
170. Pietrzik, K. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics / K. Pietrzik, L. Bailey, B. Shane // *Clinical pharmacokinetics*. – 2010. – Vol. 49. – P. 535–548.
171. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine / S.E. Vollset, H. Refsum, L.M. Irgens, [et al.] // *The American journal of clinical nutrition*. – 2000. – Vol. 71. – № 4. – P. 962–968.
172. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis / U. Yadav, P. Kumar, S.K. Yadav [et al.] // *Metabolic brain disease*. – 2015. – Vol. 30. – P. 7–24.
173. Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil / A.P.C. Brandalize, E. Bandinelli, J. Borba [et al.] // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 2007. – Vol. 40. – P. 787–791.
174. Polymorphisms in genes related to folate and cobalamin metabolism and the associations with complex birth defects / R. Brouns, N. Ursem, J. Lindemans [et al.] // *Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation with the International Society for Prenatal Diagnosis*. – 2008. – Vol. 28. – № 6. – P. 485–493.
175. Polymorphisms in vitamin B12 and folate metabolising genes and their association with adverse pregnancy outcome: secondary analysis of a population-based case control study / P. Dhiman, B. Bharadwaj, P. Veena, S. Rajendiran // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2022. – Vol. 42. – № 5. – P. 962–967.

176. Preconceptional folate supplementation and the risk of spontaneous preterm birth: a cohort study / R. Bukowski, F. D. Malone, F. T. Porter [et al.] // *PLoS medicine*. – 2009. – Vol. 6. – № 5. – P. e1000061.
177. Pregnancy homocysteine and cobalamin status predict childhood metabolic health in the offspring / A. Rojas-Gómez, P. Solé-Navais, P. Cavallé-Busquets [et al.] // *Pediatric research*. – 2023. – Vol. 93. – № 3. – P. 633–642.
178. Prenatal stress in maternal hyperhomocysteinemia: impairments in the fetal nervous system development and placental function / A.V. Arutjunyan, G.O. Kerkeshko, Y.P. Milyutina [et al.] // *Biochemistry (Moscow)*. – 2021. – Vol. 86. – № 6. – P. 716–728.
179. Preventing birth defects, saving lives, and promoting health equity: an urgent call to action for universal mandatory food fortification with folic acid / V. Kancherla, L.D. Botto, L.A. Rowe [et al.] // *The Lancet Global Health*. – 2022. – Vol. 10. – № 7. – P. e1053–e1057.
180. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study / MRC Vitamin Study Research Group // *The Lancet*. – 1991. – Vol. 338. – № 8760. – P. 131–137.
181. Prevention of neural-tube defects with periconceptional folic acid, methylfolate, or multivitamins? / A.E. Czeizel, I. Dudás, L. Paput [et al.] // *Annals of Nutrition and Metabolism*. – 2011. – Vol. 58. – № 4. – P. 263–271.
182. Prevention of noncommunicable diseases by interventions in the preconception period: a FIGO position paper for action by healthcare practitioners / C.M. Jacob, S.L. Killeen, F.M. McAuliffe, [et al.] // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2020. – Vol. 151. – P. 6–15. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13331>.
183. Quantitative, high-resolution epigenetic profiling of CpG loci identifies associations with cord blood plasma homocysteine and birth weight in humans / A.A. Fryer, R.D. Emes, K.M. Ismail, [et al.] // *Epigenetics*. – 2011. – Vol. 6. – № 1. – P. 86–94.

184. Raghubeer, S. Methylenetetrahydrofolate (MTHFR), the one-carbon cycle, and cardiovascular risks / S. Raghubeer, T.E. Matsha // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13. – № 12. – P. 4562.
185. Ray, J. Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: a systematic review / J. Ray, C. Laskin // *Placenta*. – 1999. – Vol. 20. – № 7. – P. 519–529.
186. Recurrent pregnancy loss: what is the impact of consecutive versus non-consecutive losses? / O.B. Christiansen, P. Egerup, A.M. Kolte [et al.] // *Human Reproduction*. – 2016. – Vol. 31. – № Suppl 1. – P. i182.
187. Red blood cell folate concentrations increase more after supplementation with [6S]-5-methyltetrahydrofolate than with folic acid in women of childbearing age / Y. Lamers, R. Prinz-Langenohl, S. Brämshwig, K. Pietrzik // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2006. – Vol. 84. – № 1. – P. 156–161.
188. Reduced folate, increased vitamin B12 and homocysteine concentrations in women delivering preterm / M. Dhobale, P. Chavan, A. Kulkarni, [et al.] // *Annals of Nutrition and Metabolism*. – 2012. – Vol. 61. – № 1. – P. 7–14.
189. Relationship between genetic polymorphisms MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes and multiple sclerosis: a case-control study / S. Cakina, O. Ocak, A. Ozkan, [et al.] // *Folia Neuropathologica*. – 2019. – Vol. 57. – № 1. – P. 36–40.
190. Response of serum and red blood cell folate concentrations to folic acid supplementation depends on methylenetetrahydrofolate reductase C 677 T genotype: Results from a crossover trial / C. Anderson, M. Beresford, M. McLerran [et al.] // *Molecular nutrition & food research*. – 2013. – Vol. 57. – № 4. – P. 637–644.
191. Risk of gestational hypertension in relation to folic acid supplementation during pregnancy / S. Hernández-Díaz, M.M. Werler, C. Louik, A. A. Mitchell // *American Journal of Epidemiology*. – 2002. – Vol. 156. – № 9. – P. 806–812.
192. Role of MTHFR C677T and MTR A2756G polymorphisms in thyroid and breast cancer development / T. Zara-Lopes, A. Gimenez-Martins, C. Nascimento-Filho [et al.] // *Genet Mol Res*. – 2016. – Vol. 15. – № 2. – P. 11.

193. Rush, E. Vitamin B12: one carbon metabolism, fetal growth and programming for chronic disease / E. Rush, P. Katre, C. Yajnik // *European journal of clinical nutrition*. – 2014. – Vol. 68. – № 1. – P. 2–7.
194. Salari, N. Global prevalence of congenital anencephaly: a comprehensive systematic review and meta-analysis / N. Salari, B. Fatahi, R. Fatahian // *Reproductive health*. – 2022. – Vol. 19. – № 1. – P. 201.
195. Scaglione, F. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing / F. Scaglione, G. Panzavolta // *Xenobiotica*. – 2014. – Vol. 44. – № 5. – P. 480–488.
196. Selhub, J. In vitamin B12 deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations / J. Selhub, M.S. Morris, P.F. Jacques // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2007. – Vol. 104. – № 50. – P. 19995–20000.
197. Serum homocysteine and vitamin B12 levels in women with gestational diabetes mellitus / S. Radzicka, K. Ziolkowska, M.P. Zaborowski, J. Brazert, M. Pietryga // *Ginekologia polska*. – 2019. – Vol. 90. – № 7. – P. 381–387.
198. Smith, A. Homocysteine—from disease biomarker to disease prevention / A. Smith, H. Refsum // *Journal of internal medicine*. – 2021. – Vol. 290. – № 4. – P. 826–854.
199. Study exploring the effects of daily supplementation with 400 µg of folic acid on the nutritional status of folate in women of reproductive age / L.D. Arias, B.E. Parra, A.M. Muñoz [et al.] // *Birth Defects Research*. – 2017. – Vol. 109. – № 8. – P. 564–573.
200. Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population / P. De Marco, M.G. Calevo, A. Moroni // *Journal of human genetics*. – 2002. – Vol. 47. – № 6. – P. 319–324.
201. Supplementation of folic acid in pregnancy and the risk of preeclampsia and gestational hypertension: a meta-analysis / C. Liu, C. Liu, Q. Wang, Z. Zhang // *Archives of gynecology and obstetrics*. – 2018. – Vol. 298. – P. 697–704.
202. Supplementation with [6 S]-5-methyltetrahydrofolate or folic acid equally reduces plasma total homocysteine concentrations in healthy women / Y. Lamers, R. Prinz-

- Langenohl, R. Moser, K. Pietrzik // *The American journal of clinical nutrition*. – 2004. – Vol. 79. – № 3. – P. 473–478.
203. The Effect of interactions between folic acid supplementation and one carbon metabolism gene variants on small-for-gestational-age births in the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) cohort study / R.E. Bulloch, C.R. Wall, M.E. Lesley McCowan, [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12. – № 6. – P. 1677.
204. The evaluation of homocysteine level in patients with preeclampsia / F. Şanlıkan, F. Tufan, A. Göçmen [et al.] // *Ginekologia polska*. – 2015. – Vol. 86. – № 4. – P. 287–291.
205. The impact of MTHFR 677 C/T genotypes on folate status markers: a meta-analysis of folic acid intervention studies / N.J. Colson, H.L. Naug, E. Nikbakht [et al.] // *European journal of nutrition*. – Springer, 2017. – Vol. 56. – P. 247–260.
206. The potential use of folate and its derivatives in treating psychiatric disorders: A systematic review / N.S.K Lam, X.X. Long, X. Li [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2022. – Vol. 146. – P. 112541.
207. Transcobalamin and methionine synthase reductase mutated polymorphisms aggravate the risk of neural tube defects in humans / R. Gueant-Rodriguez, C. Rendeli, B. Namour [et al.] // *Neuroscience letters*. – 2003. – Vol. 344. – № 3. – P. 189–192.
208. Variants c. 677 C> T, c. 1298 A> C in MTHFR, and c. 66 A> G in MTRR Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women / Y. Zhang, W. Zhan, Q. Du [et al.] // *Genetic testing and molecular biomarkers*. – 2020. – Vol. 24. – № 11. – P. 717–722.
209. Vascular dysfunction in mother and offspring during preeclampsia: contributions from Latin-American Countries / F.R. Giachini, C. Galaviz-Hernandez, A.E. Damiano [et al.] // *Current hypertension reports*. – 2017. – Vol. 19. – P. 1–22.
210. Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: The pune maternal nutrition study / C.S. Yajnik, S.S. Deshpande, A.A. Jackson [et al.] // *Diabetologia*. – 2008. – № 51. – P. 29–38.
211. Vitamin B₁₂ and the risk of neural tube defects in a folic-acid-fortified population / J.G. Ray, P.R. Wyatt, M.D. Thompson, [et al.] // *Epidemiology*. – 2007. – P. 362–366.

212. Vitamin B12 deficiency / R. Green, L.H. Allen, A.L. Bjørke-Monsen [et al.] // Nature reviews Disease primers. – 2017. – Vol. 3. – № 1. – P. 1–20.
213. Vitamin B12 status among pregnant women in the UK and its association with obesity and gestational diabetes / S. Nithya, V. Hema, S. Wilson [et al.] // Nutrients. MDPI AG. – 2016. – Vol. 8. – № 12. – P. 768. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu8120768>.
214. Wadhvani, N.S. Increased homocysteine levels exist in women with preeclampsia from early pregnancy / N.S. Wadhvani, V.V. Patil, S.S. Mehendale // The journal of maternal-fetal & neonatal medicine. – 2016. – Vol. 29. – № 16. – P. 2719–2725.
215. Wahbeh, F. The role of Vitamin B12 and genetic risk factors in the etiology of neural tube defects: A systematic review / F. Wahbeh, M. Manyama // International Journal of Developmental Neuroscience. – 2021. – Vol. 81. – № 5. – P. 386–406.
216. Wald, N.J. Folic acid and neural tube defects: discovery, debate and the need for policy change / N.J. Wald // Journal of Medical Screening. – 2022. – Vol. 29. – № 3. – P. 138–146.
217. Watanabe, F. Vitamin B12 sources and bioavailability / F. Watanabe // Experimental biology and medicine. – 2007. – Vol. 232. – № 10. – P. 1266–1274.
218. WHO antenatal care recommendations for a positive pregnancy experience: nutritional interventions update: multiple micronutrient supplements during pregnancy / WHO Guidelines. Human Reproduction Programme // World Health Organization. – 2020.
219. Wilson, R.D. Guideline No. 427: Folic Acid and Multivitamin Supplementation for Prevention of Folic Acid–Sensitive Congenital Anomalies / R.D. Wilson, D.L. O'Connor // Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada. – 2022. – Vol. 44. – № 6. – P. 707–719.e1. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2022.04.004>.
220. Yang, X. MicroRNA-431 affects trophoblast migration and invasion by targeting ZEB1 in preeclampsia / X. Yang, T. Meng // Gene. – 2019. – Vol. 683. – P. 225–232.
221. Yang, Y.-L. Meta-prediction of MTHFR gene polymorphisms and air pollution on the risk of hypertensive disorders in pregnancy worldwide / Y.-L. Yang, H.-L. Yang,

S.P.K. Shiao // International journal of environmental research and public health. – 2018. – Vol. 15. – № 2. – P. 326.

222. Zhao, R. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues / R. Zhao, L.H. Matherly, I.D. Goldman // Expert reviews in molecular medicine. – 2009. – Vol. 11. – P. e4.