

Л.Б. ЧОРНА, Г.Р. АКОПЯН,

Г.В. МАКУХ, І.М. ФЕДОРИК

ДУ «Інститут спадкової патології АМН України», Львів

E-mail: lilyachorna1@rambler.ru

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ MTHFR, MTR ТА MTRR У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЩІЛИНАМИ ВЕРХНЬОЇ ГУБИ ТА/АБО ПІДНЕБІННЯ І У ЇХНІХ МАТЕРІВ



Досліджено розподіл поліморфних варіантів генів MTHFR, MTR та MTRR в контингенті пацієнтів з несиндромальними щілинами верхньої губи та/або піднебіння (ЩВГП), матерів дітей з ЩВГП і здорових жителів західного регіону України. Показано, що наявність гомозиготного генотипу MTHFR 677TT може збільшувати ризик виникнення ЩВГП в 3 рази, а для матерів ризик народити дитину з ЩВГП зростає майже в 2 рази у порівнянні із гомозиготами MTHFR 677CC (OR = 3,3, OR = 1,92 відповідно). Наявність гетерозиготного генотипу MTR 2756AG може збільшувати ризик виникнення ЩВГП у 1,5 разу в порівнянні з генотипом 2756AA (OR = 1,48). У випадку гетерозиготного генотипу MTRR 66AG ризик виникнення ЩВГП зростає у понад 5 разів (OR = 5,56), а для матерів ризик народити дитину з ЩВГП зростає у 2,6 разу (OR = 2,6). У жителів західного регіону України поширеність алельного варіанту MTRR 66G виявилась вищою, ніж 66A, а частота генотипу 66GG – вірогідно нижчою серед пацієнтів з ЩВГП та їхніх матерів у порівнянні з контрольною групою.

© Л.Б. ЧОРНА, Г.Р. АКОПЯН, Г.В. МАКУХ, І.М. ФЕДОРИК,
2011

Вступ. На вроджені щілини верхньої губи та/або піднебіння (ЩВГП) припадає 90 % черепно-лицьових вроджених вад розвитку. Частота цієї патології в світі, за даними ВООЗ, становить 0,6–1,6 випадків на 1000 новонароджених [1]. Несиндромальні ЩВГП мають мультифакторну етіологію та є результатом адитивної дії генетичних і середовищних чинників, внаслідок чого відбувається реалізація генетичної схильності у ваду. Активний пошук маркерів генетичної схильності до розвитку ЩВГП привернув увагу вчених до однієї із груп генетичних маркерів мультифакторної патології – генів фолатного обміну. До ключових ферментів фолатного циклу належить метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR), метіонінсинтаза (MTR) та редуктаза метіонінсинтази (MTRR). MTHFR є ключовим ферментом фолатного циклу, який забезпечує перетворення фолієвої кислоти в її активну форму 5-метилтетрагідрофолат. Поліморфізм C677T (p.Ala222Val) гена MTHFR викликає зниження активності ферменту в гомозигот за поліморфним алелем на 70 %, а в гетерозигот – на 35 %. Гомозиготність за алелем 677T приводить до підвищення рівня гомоцистеїну в крові на 20 %. [2]. У гомозигот за поліморфним алелем 1298C (транзиція p.Glu429Ala в регуляторному домені MTHFR) активність ферменту становить 60 % у порівнянні із гомозиготами 1298AA [3]. В₁₂-залежна MTR безпосередньо здійснює метилювання гомоцистеїну, а поліморфний варіант A2756G гена MTR (p.Asp919Gly) веде до зниження активності ферменту. Для відновлення функції ферменту MTR необхідним є додаткове метилювання за допомогою шеперона – редуктази метіонінсинтази (MTRR). Поліморфізм A66G (p.Ile22Met) в гені MTRR впливає на активність білка і призводить до розвитку патології, яка зумовлюється гіпергомоцистеїнемією [4].

Вивченню взаємозв'язку поліморфізму генів фолатного обміну з вадами розвитку плоду, зокрема, з дефектами невральної трубки (аненцефалія, незрощення хребта – spina bifida) та незрощенням верхньої губи та/або піднебіння, присвячена ціла низка досліджень [5–11]. Отримані результати є доволі суперечливими: деякі з них засвідчують несприятливу роль низькофункціональних алелів генів фолатного циклу в розвитку ЩВГП [8, 9], інші заперечують її вірогідність [10, 11]. Більшість з відомих робіт зо-

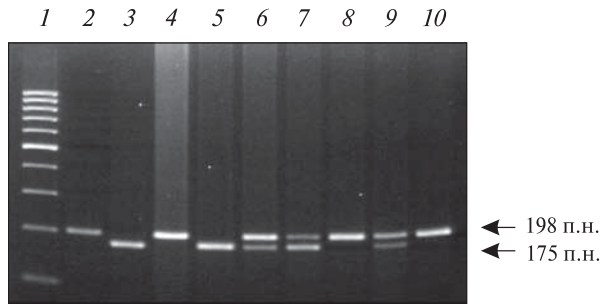


Рис. 1. Рестрикційний аналіз поліморфного локусу С677Т гена *MTHFR*, 2,5%-ний агарозний гел: 1 – маркер молекулярної маси рUC19 DNA/*MspI*; 2 – продукт ПЛР без рестрикції; 3, 5 – гомозиготні носії мутації С677Т; 4, 8, 10 – відсутність мутації С677Т; 6, 7, 9 – гетерозиготні носії мутації С677Т

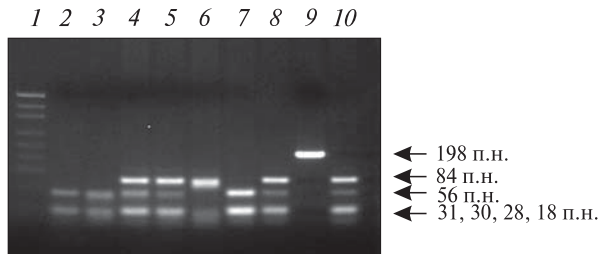


Рис. 2. Рестрикційний аналіз поліморфного локусу А1298С гена *MTHFR*, 2,5%-ний агарозний гел: 1 – маркер молекулярної маси рUC19 DNA/*MspI*; 2, 3, 7 – відсутність мутації А1298С; 4, 5, 8, 10 – гетерозиготні носії мутації А1298С; 6 – гомозиготний носій мутації А1298С; 9 – продукт ПЛР без рестрикції

середжені на вибірковому дослідженні пацієнтів із ЩВГП або їхніх батьків. Метою даного дослідження було встановити характер розподілу алелів та генотипів поліморфних локусів С677Т і А1298С гена *MTHFR*, А2756G гена *MTR* і А66G гена *MTRR* серед пацієнтів з ЩВГП та їхніх матерів із західного регіону України.

Матеріали і методи. Групу обстеження склали 33 пацієнти з ЩВГП та 27 матерів таких дітей – мешканців західноукраїнського регіону, які проходили обстеження в ДУ «Інститут спадкової патології АМНУ», Львівському міжобласному медико-генетичному центрі, Тернопільському медико-генетичному кабінеті та перебували на стаціонарному лікуванні у Львівській обласній спеціалізованій клінічній дитячій лікарні. Матеріалом для досліджень служила ДНК, виділена з лейкоцитів периферійної крові, яку забирали після отри-

мання інформованої згоди пацієнта. Контрольна вибірка була сформована з 50 здорових осіб (без ЩВГП), які народили двох та більше здорових дітей без ускладненого генетичного та акушерського анамнезу. Всі вони проживають у західному регіоні України. Проводили виділення та очистку ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом висолювання [12]. На подальших етапах дослідження здійснювали ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), яку проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія). Олігонуклеотидні праймери синтезовані фірмою «Fermentas» (Литва). Використовували ендонуклеази рестрикції та термостабільну Таq-полімеразу («Fermentas», Литва). Для детекції поліморфних локусів С677Т та А1298С гена *MTHFR*, А2756G гена *MTR* та А66G гена *MTRR* застосовували аналіз продуктів ПЛР методом ПДРФ [13–16].

Електрофорез проводили у 2,5%-ному агарозному гелі та сканували на УФ-трансліюмінаторі. Статистичний аналіз здійснювали з використанням критерію χ^2 та застосовували точний критерій Фішера. Відносний ризик оцінювали за величиною співвідношення шансів (OR).

Результати досліджень та їхнє обговорення. Проведено молекулярно-генетичний аналіз поліморфних локусів С677Т та А1298С гена *MTHFR*, А2756G гена *MTR*, а також А66G гена *MTRR* у 33 пацієнтів з ЩВГП, 27 матерів дітей з ЩВГП та у 50 осіб групи контролю. Молекулярно-генетичний аналіз поліморфного локусу С677Т та А1298С гена *MTHFR* методом ПДРФ наведено на електрофореграмах (рис. 1 та 2).

За результатами генетичного тестування і статистичних розрахунків встановлено розподіл генотипів поліморфних локусів генів *MTHFR*, *MTR* і *MTRR* серед пацієнтів ЩВГП (табл. 1) та серед матерів дітей з ЩВГП (табл. 2) у порівнянні з групою контролю. Для кожного із поліморфних локусів наведено результати статистичного обрахунку відносного ризику за рецесивною та домінантною моделями.

Аналіз розподілу генотипів поліморфного локусу С677Т гена *MTHFR* показав вищу частоту генотипу 677ТТ в групах пацієнтів з ЩВГП

Таблиця 1

Розподіл генотипів генів *MTHFR*, *MTR* і *MTRR* серед пацієнтів з ЩВГП

Генотип	Пацієнти з ЩВГП (n = 33)		Контроль (n = 50)		P	OR (CI–95 %)
	n	%	n	%		
<i>MTHFR</i> C677T						
C/C	12	36	22	44	–	1,00
C/T	17	52	26	52	>0,05	0,98 (0,41–2,36)
T/T	4	12	2	4	>0,05	3,31 (0,57–19,21)
C/T + T/T	21	64	28	56	>0,05	1,37 (0,56–3,39)
<i>MTHFR</i> A1298C						
A/A	19	58	24	48	–	1,00
A/C	12	36	22	44	>0,05	0,73 (0,3–1,79)
C/C	2	6	4	8	>0,05	0,74 (0,13–4,30)
A/C + C/C	14	42	26	52	>0,05	0,68 (0,28–1,65)
<i>MTR</i> A2756G						
A/A	16	49	26	52	–	1,00
A/G	15	45	18	36	>0,05	1,48 (0,60–3,56)
G/G	2	6	6	12	>0,05	0,47 (0,09–2,50)
A/G + G/G	17	51	24	48	>0,05	0,98 (0,41–2,36)
<i>MTRR</i> A66G						
A/A	0	0	2	4	–	–
A/G	25	76	18	36	<0,05 *	5,56 (2,08–14,85)
G/G	8	24	30	60	<0,05 *	0,21 (0,08–0,56)
A/G + G/G	33	100	48	96	–	–

* Статистично вірогідна відмінність.

(12 %) і матерів дітей з ЩВГП (8 %) у порівнянні з контрольною групою (4 %). Частота мутантного алеля 677T серед пацієнтів з ЩВГП та матерів дітей з ЩВГП становила 0,38 та 0,24 відповідно у порівнянні з 0,30 в контрольній групі. Показано, що наявність однієї копії алеля 677T може збільшувати ризик виникнення ЩВГП майже у 1,4 разу (OR = 1,37 CI – 95 %: 0,56–3,39, P > 0,05), а для гомозигот за алелем 677T в 3 рази (OR = 3,3 CI – 95 %: 0,57–19,21, P > 0,05). Для матерів ризик народити уражену дитину у випадку гомозиготного носійства алеля 677T може зростати майже у 2 рази (OR = 1,92 CI – 95 %: 0,25–14,45, P > 0,05), проте наведені результати не були статистично вірогідними, що, мабуть, пов'язано з недостатньою вибіркою груп обстеження.

Отримані нами результати корелюють з даними досліджень, які проведені в італійських пацієнтів з ЩВГП, серед яких виявилось значно більше гомозигот за поліморфним

алелем 677T у порівнянні з групою здорових осіб. Серед матерів дітей з ЩВГП з італійської популяції зареєстровано більш високі показники частоти генотипу 677TT (21 %) [17] та алеля 677T (0,51) [18], ніж за нашими даними (12 % та 0,38 відповідно). При цьому в дослідженні 122 польських матерів дітей з ЩВГП не виявлено достовірного зв'язку між С677T поліморфізмом і щілинами губи та піднебіння [19].

За результатами молекулярно-генетичного аналізу поліморфного локусу A1298C гена *MTHFR* встановлено наступне співвідношення за частотою А та С алелів: 0,70 та 0,30 в контрольній групі, 0,76 та 0,24 серед пацієнтів з ЩВГП, 0,69 та 0,31 серед матерів дітей з ЩВГП. Розподіл алелів і відповідних генотипів поліморфного локусу A1298C гена *MTHFR* у групах пацієнтів з ЩВГП та їхніх матерів вірогідно не відрізнявся від показників контрольної групи (P > 0,05).

Розподіл генотипів генів *MTHFR*, *MTR* і *MTRR* серед матерів дітей з ЩВГП

Генотип	Матері дітей з ЩВГП (n = 27)		Контроль (n = 50)		P	OR (CI–95 %)
	n	%	n	%		
<i>MTHFR</i> C677T						
C/C	16	59	22	44	–	1,00
C/T	9	33	26	52	>0,05	0,46 (0,17–1,22)
T/T	2	8	2	4	>0,05	1,92 (0,25–14,45)
C/T + T/T	11	41	28	56	>0,05	0,54 (0,21–1,39)
<i>MTHFR</i> A1298C						
A/A	12	45	24	48	–	1,00
A/C	13	48	22	44	>0,05	1,18 (0,46–3,02)
C/C	2	7	4	8	>0,05	0,92 (0,16–5,38)
A/C + C/C	15	55	26	52	>0,05	1,15 (0,45–2,95)
<i>MTR</i> A2756G						
A/A	15	55	26	52	–	1,00
A/G	8	30	18	36	>0,05	0,75 (0,2–2,05)
G/G	4	15	6	12	>0,05	1,30 (0,33–4,98)
A/G + G/G	12	44	24	48	>0,05	0,87 (0,34–2,22)
<i>MTRR</i> A66G						
A/A	3	11	2	4	–	1,00
A/G	16	59	18	36	>0,05	2,6 (0,99–6,76)
G/G	8	30	30	60	<0,05 *	0,28 (0,10–0,76)
A/G + G/G	24	89	48	96	>0,05	0,33 (0,05–2,13)

*Статистично вірогідна відмінність.

При аналізі розподілу генотипів та алелів поліморфного локусу 2756AG гена *MTR* статистично вірогідних відмінностей у частотах не встановлено ні в групі пацієнтів з ЩВГП, ні в групі матерів дітей з ЩВГП ($P > 0,05$). Генотип 2756GG гена *MTR* в групі пацієнтів з ЩВГП зустрічався з меншою частотою, ніж в контрольній групі, хоча серед пацієнтів виявилось більше гетерозигот за генотипом 2756AG (45 % при 36 % у контрольній групі). Використовуючи генотип 2756AA як референтний встановили, що гетерозиготний генотип *MTR* 2756AG може збільшувати ризик виникнення ЩВГП в 1,5 разу (OR = 1,48 CI – 95 %: 0,60–3,56, $P > 0,05$), а для матерів ризик народження дітей з ЩВГП може зростати в 1,3 разу (OR = 1,3 CI – 95 %: 0,33 – 4,98 $P > 0,05$). Значно вищий ризик для матерів за наявності *MTR* 2756G алеля встановлено для польської популяції: 2,195 у випадку 2756AG або 2756GG генотипів в порівнянні з AA генотипом [19].

Аналіз розподілу генотипів та алелів поліморфного локусу A66G гена *MTRR* показав вищу частоту генотипу 66GG, ніж генотипу 66AA як в групах обстеження, так і контрольній групі (табл. 1 і 2). Частота генотипу *MTRR* 66GG виявилась вірогідно нижчою серед дітей з ЩВГП та матерів таких пацієнтів, ніж у контрольній групі ($P < 0,05$). За нашими даними, наявність гетерозиготного генотипу 66AG гена *MTRR* збільшує ризик виникнення щілини у понад 5 разів (OR = 5,56 CI – 95 %: 2,08–14,85, $P < 0,05$), а для матерів ризик народити дитину з ЩВГП зростає у 2,6 разу (OR = 2,6 CI – 95 %: 0,99–6,76, $P < 0,05$).

Частота алеля 66G в обстежених нами випадках становила 0,62–0,78. Отримані нами дані корелюють з дослідженнями, проведеними в Російській Федерації, де частота алеля *MTRR* 66G становила 0,64 [20]. Частота алеля 66G у Польщі становила 0,59 [19], Франції – 0,57, Італії – 0,52, Ізраїлі – 0,42 [20]. Проте, частота

алеля 66G в інших популяціях була нижчою, наприклад, у мешканців Південної Африки становила 0,12, у бразилійців – 0,07, у мексиканців – 0,21 [20]. На сьогодні між ученими існує дискусія щодо визначення алеля дикого типу, деякі дослідники пропонують вважати алель 66G диким типом [21].

Негативний вплив на гісто- та органогенез мутантних варіантів генів фолатного обміну може бути пов'язаний як з прямою ембріотоксичною дією гомоцистеїну, так і з порушенням процесів проліферації і диференціювання клітин внаслідок дефіциту метильних груп. Недостатність активного фолату в організмі, особливо в умовах дефіциту вітаміну В₁₂ та дисфункції ферментів метаболізму гомоцистеїну, веде до його накопичення в плазмі крові (гіпергомоцистеїнемія), а в критичний період ембріогенезу може сприяти формуванню вроджених вад розвитку, зокрема, незрощень верхньої губи та/або піднебіння [22, 23].

Висновки. Отримані результати підтверджують гіпотезу про асоціацію окремих алельних варіантів генів фолатного обміну із виникненням щілин верхньої губи та/або піднебіння. У порівнянні з генотипом *MTHFR* 677CC генотип 677TT асоціюється із трикратним збільшенням ризику виникнення ЩВГП (OR = 3,3) у плода.

Для матерів з генотипом 677TT встановлено двократне (OR = 1,92) зростання ризику народити дитину з ЩВГП. Відмінності щодо розподілу алелів та генотипів поліморфних локусів *MTHFR* A1298C та *MTR* 2756AG не були вірогідними. Частота генотипу 66GG гена *MTRR* є вірогідно нижчою серед пацієнтів з ЩВГП та їхніх матерів у порівнянні з контрольною групою. У всіх досліджених групах алельний варіант *MTRR* 66G має вищу частоту, ніж *MTRR* 66A.

Автори щиро вдячні лікарям О.І. Могіляку (Львівська обласна дитяча спеціалізована клінічна лікарня), В.І. Шуварській, Н.В. Маркевич, Н.І. Кіцери (Львівський міжобласний медико-генетичний центр) та Ю.А. Гарбуз (Тернопільський медико-генетичний кабінет) за співпрацю.

*L.B. Chorna, H.R. Akopyan,
H.V. Makukh, I.M. Fedoryk*

ALLELIC POLYMORPHISM
OF *MTHFR*, *MTR* AND *MTRR* GENES
IN PATIENTS WITH CLEFT LIP
AND/OR PALATE AND THEIR MOTHERS

The frequency of common *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* genes polymorphisms was evaluated among patients with non-syndromic cleft lip and/or palate (CL/P), their mothers and healthy persons from West-Ukrainian region. *MTHFR* 677TT genotype was shown to increase more than three-fold risk of CL/P and for mothers the risk of having CL/P children may increase two-fold compared with homozygous carriers of *MTHFR* 677CC genotype (OR = 3.3, OR = 1.92, respectively). The heterozygous *MTR* 2756AG genotype was associated with 1.5-fold increased risk of CL/P compared with the AA genotype (OR = 1.48). The heterozygous genotype *MTRR* 66AG was associated with the 5.56-fold increased CL/P risk (OR = 5.56) and for mothers with 2.6-fold increased risk of delivering a CL/P offspring (OR = 2.6). The results showed that *MTRR* 66G allele is more prevalent than *MTRR* 66A (wild type) and the *MTRR* 66GG genotype frequency was significantly lower among CL/P patients and their mothers than in control group among Western Ukrainian inhabitants.

*Л.Б. Чорная, Г.Р. Акопян,
Г.В. Макух, И.М. Федорик*

АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ
ГЕНОВ *MTHFR*, *MTR* И *MTRR*
У ПАЦИЕНТОВ С РАСЩЕЛИНАМИ ВЕРХНЕЙ
ГУБЫ И/ИЛИ НЕБА И У ИХ МАТЕРЕЙ

Исследовали распределение полиморфных вариантов генов *MTHFR*, *MTR* и *MTRR* в контингентах пациентов с несиндромальными расщелинами верхней губы и/или неба (РВГН), их матерей и здоровых жителей западного региона Украины. Результаты показали, что гомозиготный генотип *MTHFR* 677TT может увеличивать риск возникновения РВГН в 3 раза, а у матерей риск рождения ребенка с РВГН в 2 раза выше, чем у гомозигот *MTHFR* 677CC (OR = 3,3, OR = 1,92, соответственно). Гетерозиготный генотип *MTR* 2756AG может увеличивать риск возникновения РВГН в 1,5 раза в сравнении с генотипом 2756AA (OR = 1,48). В случае носительства гетерозиготного генотипа *MTRR* 66AG риск возникновения РВГН возрастает более чем в 5 раз (OR = 5,56), а для матерей риск рождения ребенка с РВГН увеличивается в 2,6 раза (OR = 2,6). У жителей западного региона Украины распространенность аллельного варианта *MTRR* 66G выше, чем 66A, а частота генотипа *MTRR* 66GG была статистически достоверно ниже в контингентах пациентов с РВГН и их матерей, чем в контрольной группе.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Shaw W., Semb G., Nelson P. et al.* The Eurocleft Project 1996–2000: overview // *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* – 2001. – **29**. – P. 131–140.
2. *Martin Y.N., Salavaggione O.E., Eckloff B.W et al.* Human methylenetetrahydrofolate reductase pharmacogenomics: gene resequencing and functional genomics // *Pharmacogenet. Genom.* – 2006. – **16**. – P. 265–277.
3. *Castro R., Rivera I., Ravasco P. et al.* 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase 677C/T and 1298A/C mutations are genetic determinants of elevated homocysteine // *QLM : Int. J. Med.* – 2003. – **96**. – P. 297–303.
4. *Hobbs C.A., Sherman S.L., Hopkins S.E. et al.* Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome // *Hum. Genet.* – 2000. – **67**. – P. 623–630.
5. *Гречанина Е.Я., Гусар В.А., Гречанина Ю.Б.* Сравнительная характеристика частот пороков ЦНС и аллеля C677T MTHFR // Ультразвук. перинат. диагностика. – 2009. – № 27/28. – С. 4–13.
6. *Tatarsky P., Kucherenko A., Kravchenko S. et al.* F2 G20210A, F5 G1691A, MTHFR C677T polymorphisms – involvement in stroke // *Biopolym. and Cell.* – 2010. – **26**, № 4. – P. 299–305.
7. *Lucock M., Daskalakis I., Briggs D. et al.* Altered folate metabolism and disposition in mothers affected by a spina bifida pregnancy: influence of 677 c→t methylenetetrahydrofolate reductase and 2756 a→g methionine synthase genotypes // *Mol. Genet. Metab.* – 2000. – **70**. – P. 27–44.
8. *Pezzetti F., Martinelli M., Scapoli L. et al.* Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate // *Hum. Mutat.* – 2004. – № 24. – P. 104–105.
9. *Zhu J., Ren A., Hao L. et al.* Variable contribution of the MTHFR C677T polymorphism to non-syndromic cleft lip and palate risk in China // *Amer. J. Med. Genet.* – 2006. – **140**. – P. 551–557.
10. *Wyszynski D.F., Diehl S.R.* Infant C677T mutation in MTHFR, maternal periconceptional vitamin use, and risk of nonsyndromic cleft lip // *Amer. J. Med. Genet.* – 2000. – **92**. – P. 79–80.
11. *Blanton S.H., Patel S., Hecht J.T., Mulliken J.B.* MTHFR is not a risk factor in the development of isolated nonsyndromic cleft lip and palate // *Amer. J. Med. Genet.* – 2002. – **110**. – P. 404–405.
12. *Пат. 32044 UA, МПК G01N33/49 (2006.01)* Макух Г.В., Заставна Д.В., Тиркус М.Я., Третяк Б.І., Чорна Л.Б. Спосіб виділення ДНК з лейкоцитів периферійної крові / Заявник Державна установа «Інститут спадкової патології» АМН України. – № у 200801896; заявл. 14.02.2008; опубл. 25.04.2008; Бюл. № 8.
13. *Frosst P., Bloom H.J., Milos R. et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // *Nature Genet.* – 1995. – № 10. – P. 111–113.
14. *Van der Put N.M., Gabreels F., Stevens E.M. et al.* A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? // *Amer. J. Hum. Genet.* – 1998. – **62**. – P. 1044–1051.
15. *Van der Put N.M., Vandermolene F., Kluijtmansl A.* Sequence analysis of the coding region of human methionine synthase: relevance to hyperhomocysteinemia in neural-tube defects and vascular disease // *Q. J. Med.* – 1997. – № 90. – P. 511–517.
16. *Wilson A., Platt R., Wu Q. et al.* A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida // *Mol. Genet. Metab.* – 1999. – **67**. – P. 317–323.
17. *Martinelli M., Scapoli L., Pezzetti F. et al.* C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers? // *Amer. J. Med. Genet.* – 2001. – **98**. – P. 357–360.
18. *Pezzetti F., Martinelli M., Scapoli L. et al.* Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate // *Hum. Mutat.* – 2004. – **24**. – P. 104–105.
19. *Mostowska A., Hozyaszk K.K., Jagodzinski P.P.* Maternal MTR genotype contributes to the risk of non-syndromic cleft lip and palate in the Polish population // *Clin. Genet.* – 2006. – **69**. – P. 512–517.
20. *Shi M., Caprau D., Romitti P. et al.* Genotype frequencies and linkage disequilibrium in the CEPH human diversity panel for variants in folate pathway genes MTHFR, MTHFD, MTRR, RFC1, and GCP2 // *Birth Defects Res. (Part A), Clin. and molecular teratology.* – 2003. – **67**. – P. 545–549.
21. *Zhengdong Z.* Polymorphisms of methionine synthase and methionine synthase reductase and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck : A case-control analysis // *Cancer Epidem. Biomark. Preven.* – 2005. – **14**(5). – P. 1188–1193.
22. *Van Rooij I.A., Swinkels D.W., Blom H.J. et al.* Vitamin and homocysteine status of mothers and infants and the risk of nonsyndromic orofacial clefts // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* – 2003. – **189**. – P. 1155–1160.
23. *McKay J.A., Williams E.A., Mathers J.C.* Folate and DNA methylation during in utero development and aging // *Biochem. Soc. Trans.* – 2004. – **32**. – P. 1006–1007.

Надійшла 30.04.10