

Частота встречаемости полиморфизма C677T гена MTHFR у женщин с дефектами невральнoй трубки у плода и подходы к индивидуальной прекоцепционной профилактике

Н.П. Веропотвелян, Л.А. Кодунов, Ю.С. Погуляй

ЖУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», г. Кривой Рог

В статье описано современное видение возможных механизмов влияния патологического дефицита фолатов и полиморфизма C677T на возникновение дефектов невральнoй трубки. **Цель исследования:** определить наличие взаимосвязи возникновения дефектом невральнoй трубки (ДНТ) у плодов с наличием генетического дефекта (C677T MTHFR) у женщин – жительниц Днепропетровской, Запорожской, Кировоградской, Черкасской областей Украины.

Материалы и методы. Проведено определение полиморфных вариантов C677T у 149 женщин, которые имели плод с ДНТ. В качестве контроля были сформированы 2 группы: 1) 112 фенотипически здоровых новорожденных; 2) 114 женщин, имеющих одного и более здорового ребенка

Результаты. Согласно оценке статистической достоверности отличий выборки генотип T/T 677 MTHFR достоверно ($p < 0,01$) в 9,91 раза чаще встречается в группе женщин с ДНТ, чем среди женщин, имеющих здоровых детей. Также было выявлено, что генотип T/T 677 MTHFR достоверно ($p < 0,01$) в 6,59 раза реже встречается среди женщин, имеющих здоровых детей, в сравнении с общей популяцией. Расчет отношения шансов показал, что риск иметь ребенка с ДНТ повышен в 12 раз при наличии генотипа T/T ($OR=11,837$).

Ключевые слова: дефект невральнoй трубки, фолат, фолатный цикл, генетический полиморфизм.

В структуре врожденной и наследственной патологии пороки центральной нервной системы (ЦНС) составляют более 30% аномалий, обнаруживаемых у новорожденных.

Возможности современной диагностической УЗ-аппаратуры позволяют пренатально обнаружить практически весь спектр морфологических пороков ЦНС, благодаря чему в регионах, где организован и реально эффективно выполняется УЗ-скрининг беременных, выявляется и своевременно элиминируется абсолютное большинство плодов с грубыми аномалиями ЦНС, а регистрируемая при этом конечная популяционная частота пороков ЦНС среди родившихся детей значительно ниже изначально возникшей [1].

Программы адекватной пре- и периконцепционной профилактики рождения детей с пороками ЦНС позволяют в 92% случаев предотвратить развитие патологии ЦНС на презиготическом уровне и на этапе раннего эмбриогенеза [2].

Однако несмотря на все профилактические меры дефекты невральнoй трубки (ДНТ) являются первым по частоте врожденным пороком развития, выявляемым пренатально при УЗ-скрининге, и остается вторым по частоте врожденным пороком развития среди новорожденных.

Согласно общемировым статистическим подсчетам ежегодно рождаются около 300 000 детей с данным видом патологии [3]. Так, средняя общемировая частота анэнцефалий составляет 1:2500 новорожденных, спинномозговых грыж –

1:1700, spina bifida – 1:7500, черепно-мозговых грыж – 1:13 000 [1]. Суммарная популяционная частота этих врожденных пороков развития (ВПР) варьирует в различных странах от 0,5 до 7 на 1000 новорожденных в год [4].

В связи с чем поиск путей профилактики и подбор эффективной стратегии в решении данной проблемы активно продолжается.

Этиология ДНТ

Этиология этой группы аномалий мультифакториальна.

Еще в 70-х годах XX века результаты исследования близнецовых пар подтвердили этиологическую роль как наследственных, так и экзогенных факторов, в этиологии анэнцефалии и spina bifida [5]. Так, J. Fedrick (1970) описал социальные различия в распределении частот ДНТ и заподозрил роль фактора питания [6]. Было также отмечено, что в отдельных странах частота данных пороков почти в 40 раз выше, чем в других, и даже высказывалось предположение о рецессивном типе наследования данных дефектов. Величина риска повторного рождения пораженного ребенка оценивалась как 1/25 – 1/40 [7].

Согласно современным данным считается, что дефицит фолатов в организме матери является причиной 70% случаев ДНТ у новорожденных. Однако механизм возникновения данных видов ВПР до сих пор до конца не понятен [8].

Так, ранее выдвинутые теории основываются на том, что дефицит фолиевой кислоты предшествует истощению пула фолатов, оставляя «критические» гены деметилированными и их неадекватная экспрессия выводит из строя процесс развития нервной трубки.

Метилирование имеет важное значение для синтеза мембранных фосфолипидов, миелина и нейротрансмиттеров, а также для экспрессии важных для эмбриогенеза генов.

R.P. Steegers-Theunissen и соавторы впервые предположили наличие связи между нарушением фолатзависимых процессов обмена гомоцистеина (ГЦ) и развитием ДНТ [9].

При этом возникает вопрос, почему развивающаяся центральная нервная система является более уязвимой для дефицита фолиевой кислоты, чем другие ткани?

Новыми ветвями изучения данной проблемы стали открытия механизмов метаболизма фолиевой кислоты и его критических точек, механизмов влияния дефицита фолатов на экспрессию генов, путей метилирования ДНК, а также изучение рецепторного аппарата клеток в различных эмбриональных тканях.

Механизм влияния дефицита фолатов в процессе эмбриогенеза ЦНС

Клетки – предшественники нервного гребня и нейроэпителиальных клеток имеют очень высокий уровень экспрессии рецепторов для фолатов [9], из чего следует, что эти

клетки имеют повышенную потребность в данных биологических соединениях.

Как известно, донация метильными группами клетки является результатом фолатного обмена, ключевым ферментом которого является 5,10-метилентетрогидрофолатредуктаза (MTHFR).

Процесс метилирования ДНК в эмбриогенезе контролируется двумя ключевыми ферментами Dnmt1 и Dnmt3b, ингибитором которых является S – аденозилгомоцистеин (SAH), уровень которого, в свою очередь, повышается в случае наличия дефекта в механизме трансформации ГЦ в метионин (известно, что этот процесс контролируется двумя путями: ферментами фолатного обмена и с помощью фермента цистатион-β-синтазы/CBS/).

При этом особенно чувствительными стадиями в отношении нарушения метилирования геномной ДНК являются 8- и 16-клеточные эмбрионы. Уже доказано, что нарушение метилирования на этих этапах способствует возникновению множественных пороков развития и повышению эмбриональной летальности [10].

Новые изучения человеческих клеточных линий показали, что дефицит фолатов и гипометилирование ДНК предшествуют неправильной экспрессии микроРНК (microRNA, miRNA), которые играют важную роль в регуляции трансляции, деградации мРНК- и РНК-зависимого метилирования ДНК. Мишенями микроРНК является по меньшей мере треть генов генома [10].

Уровень фолата, дефекты фолатного цикла и микроРНК – ключевые звенья возникновения дефектов нервной трубки

На сегодняшний день уже множество исследователей показали прямую корреляцию между полиморфизмом С677Т MTHFR и ДНТ для польской, немецкой, бразильской, французкой, испанской и китайской популяций [10].

Механизм взаимосвязи возникновения ДНТ в случае дефекта гена MTHFR был предложен J.M. Shookhoff с соавторами (2010).

Так, согласно их теории снижение уровня поступления фолиевой кислоты с пищей запускает процесс гиперэкспрессии гена, кодирующего микроРНК miR-34a, мишенью которого является ген MTHFR. Это приводит к блоку синтеза 5-метилтетрагидрофолата и запускает каскад реакций, приводящих к повышению уровня гомоцистеина.

В случае наличия дефицита фолатов, дефекта гена MTHFR, вызванного заменой С677Т, и гиперэкспрессии miR-34a наблюдается критическое нарушение процессов необходимых для нормального эмбриогенеза.

Еще одна сложность в попытке разработать всеобъемлющую теорию о происхождении ДНТ является то, что у MTHFR-нулевых мышей, у которых синтез метионина был нарушен химически, не развиваются дефекты нервной трубки [11]. Очевидно, что связь между метаболизмом фолиевой кислоты, метилированием и ДНТ является неоднозначной и необходимо учитывать другие факторы, такие, как дефицит витамин В₁₂ [12] или то, что для miR-34a мишенью также является и ген Dll, который принимает участие в синтезе специфического белка (Notch), принимающего участие в формировании нервной трубки.

Также на сегодняшний день выделены и другие гены-кандидаты, которые являются мишенями различных микроРНК и участвующие в адекватном формировании ЦНС (Rbl2, Dbx1, Emx2, Fgf15, Foxa2, Gbx2, Grg4, Ngn1 and Riz1) [10].

Цель исследования: определить наличие взаимосвязи возникновения ДНТ у плодов с наличием генетического дефекта (С677Т MTHFR) у женщин – жительниц Днепропетровской, Запорожской, Кировоградской, Черкасской областей Украины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования за период с 2010 по 9 месяцев 2015 гг. было отобрано 149 женщин, имевших плод с различными ДНТ (анэнцефалия, экенцефалия, инионцефалия, spina bifida, порок Арнольда Киари). Средний возраст женщин составил 26±2 года. Все случаи ДНТ были выявлены нами пренатально при проведении 2-этапного ультразвукового скрининга: 11–14 нед, 18–22 нед.

Для исследования были сформированы 2 контрольные группы. В качестве 1-й контрольной группы, моделирующей общую популяцию исследуемого региона, выступили 112 фенотипически здоровых новорожденных из Днепропетровской и Запорожской областей, прошедших неонатальный скрининг на распространенные наследственные заболевания (фенилкетонурия, муковисцидоз, адреногенитальный синдром, врожденный гипотиреоз); 2-ю контрольную группу составили 118 женщин, имеющих одного и более здорового ребенка (средний возраст женщин составил 32±2 года).

Для предупреждения систематических ошибок пациенты и медицинские работники, которые участвовали в отборе контрольных групп, не были проинформированы о целях исследования и гипотезе, которую проверяли.

В обеих группах были проведены исследования по определению полиморфизма С677Т в гене MTHFR.

Материалом для исследований в основной группе женщин послужила венозная кровь и буккальные соскобы; в 1-й контрольной группе (новорожденные) – сухие пятна крови на тест-бланках; во 2-й контрольной группе (здоровые женщины) в качестве материала для исследований были использованы буккальные соскобы.

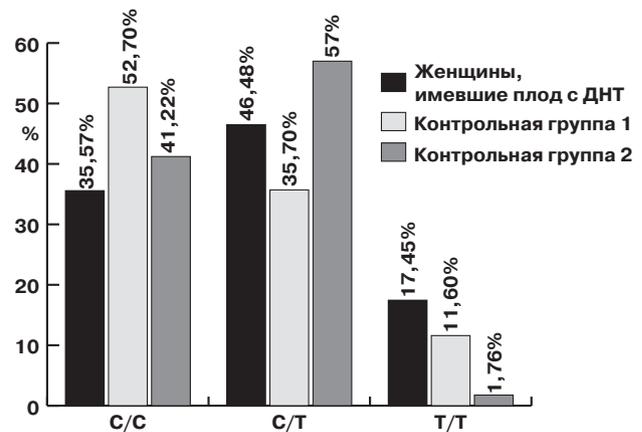
Исследования проводили с помощью тест-систем фирмы «Neogene» (Украина), основанных на проведении аллель-специфической реакции с детекцией в 2% агарозном геле.

Статистическую достоверность отличий выборок оценивали с помощью метода углового превращения Фишера

Ассоциацию определенных генотипов с риском развития патологии оценивали с использованием расчета отношения шансов (ОШ, OR, odd ratio) при 95% доверительном интервале.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований по распределению генотипов по гену MTHFR представлены ниже (диаграмма). Так, в исследуемой группе женщины генотип Т/Т 677 MTHFR (гомозигота по мутантному аллелю) выявлен в 26 случаях из 149 (17,45%); в 1-



Распределение генотипов по полиморфизму С677Т гена MTHFR у женщин, имевших плод с ДНТ, в сравнении с контрольными группами

й контрольной группе (новорожденные) T/T-генотип составил 11,6%; во 2-й контрольной группе (здоровые женщины) доля гомозигот по мутантному аллелю составила 1,76%.

Согласно оценке статистической достоверности отличий выборок генотип T/T 677 MTHFR достоверно ($p < 0,01$) в 9,91 раза чаще встречается в группе женщин с ДНТ, чем среди женщин, имеющих здоровых детей. Также было выявлено, что генотип T/T 677 MTHFR достоверно ($p < 0,01$) в 6,59 раза реже встречается среди женщин, имеющих здоровых детей, в сравнении с общей популяцией.

Расчет отношения шансов показал, что риск иметь ребенка с ДНТ повышен в 12 раз при наличии генотипа T/T (OR=11,837).

При этом достоверных отличий в частотах генотипа T/T между исследуемой группой и 1-й контрольной группой (новорожденные) выявлено не было.

Всем женщинам после проведения исследований была пересчитана доза фолиевой кислоты в соответствии с их генотипом.

Так, женщинам с генотипом C/C с целью прекоцепционной профилактики назначали стандартную дозу фолиевой кислоты (800 мкг/сут + витамины B₆ – 2,6 мг/сут, B₁₂ – 2–4 мкг/сут), т.е. определена возможность приема стандартных поливитаминных препаратов для беременных.

Женщинам с генотипом C/T были назначены гипердозы фолиевой кислоты (до 2 мг/сут) в сочетании с кофакторами (витамины B₆, B₁₂).

Женщинам с генотипом T/T также рекомендован прием фолиевой кислоты в гипердозах до 5 мг/сут (например, 4 мг монопрепарат + поливитаминный комплекс с дозированной 800 мкг фолиевой кислоты).

Прием витаминных препаратов назначали за 6 мес до предполагаемого зачатия и во время всего периода беременности, а особенно остро акцентировали внимание на не прекращении приема витаминных комплексов в первые 2 мес беременности.

Открытие A. Lemire и соавторами (1975) показало, что ДНТ образуются до 26-го дня внутриутробного развития [13], что нацелило практическую медицину на проведение именно презиготической профилактики возникновения данной патологии, поскольку большинство женщин обычно впервые обращаются на консультацию к врачу между 7-й и 12-й неделями беременности.

Согласно рекомендациям различных международных организаций (включая Food and Drug Administration, USA; March of Dimes CDC-Alanta – Spina Bifida Assotiation Public Health Service; Reino Unido Junta de Sanidad у Consumo de Espana, 2001, и др.) женщины с неотягощенным по ДНТ анамнезом должны получать 400 мкг фолиевой кислоты в сутки в сочетании с витамином B₁₂ в дозе 2 мкг/сут, как минимум, за 1 мес до зачатия и на протяжении первого триместра беременности. В Италии с 2005 г. законодательно утверждена необходимость ежедневного приема 400 мкг фолиевой кислоты женщинами, планирующими беременность [14].

Однако, по нашему мнению, следует отходить от массового шаблонного подхода к применению фолиевой кислоты с целью профилактики ДНТ.

В нынешних условиях стремительного развития генетических технологий и восполнения пробелов в понимании механизмов формирования тех или иных пороков необходимо основываться на индивидуальных особенностях каждого пациента (генотип, масса тела, наличие пороков развития у плодов и т.д.).

Мы считаем целесообразным рассмотреть вопрос о скринирующем подходе к типированию женщин перед планированием беременности на полиморфные варианты C677T

MTHFR для подбора изначально адекватной дозы фолиевой кислоты.

Возможно также рассмотреть варианты проведения генетического тестирования (что должно минимально определяться не только фолатным обменом, но и наследственными факторами тромбофилии) девушкам при первичном посещении гинеколога с занесением полученной информации в медицинскую карту с уведомлением пациенток и их родителей.

Это позволит не только сформировать группу риска по развитию ДНТ, но и даст возможность оценить безопасность применения гормональной контрацепции и риски возникновения патологии вынашивания беременности, связанной с тромбофилическими состояниями.

Также считаем целесообразным при планировании беременности обращать внимание на рацион питания пациенток и на «состояние» микрофлоры кишечника с целью оценки уровня поступления витаминов с пищей и синтетической функцией кишечной микрофлоры. Фолаты, вырабатываемые кишечными бактериями, не вносят существенного вклада в обеспечение фолатами организма человека. Это связано с тем, что бактериальный синтез в нормальных условиях обычно ограничен толстой кишкой (ободочная кишка), тогда как абсорбция происходит главным образом в верхней части тонкой кишки (тощая кишка). Тем не менее, замечено, что при дисбактериозах, когда происходит нарушение микробного пейзажа кишечника, содержание витамина B₉ в организме снижается. Поэтому фолиевую кислоту человек должен получать с пищей.

При этом фолиевая кислота не накапливается в организме и ее запас необходимо пополнять ежедневно. Наиболее богатыми источниками являются печень, темно-зеленые листовые овощи, бобы, пшеничные проростки и дрожжи. Среди других источников можно назвать яичный желток, свеклу, апельсиновый сок, хлеб (мука из цельного зерна). Несмотря на такое изобилие фолиевой кислоты в продуктах, фактически только около 50% фолатов, потребляемых с пищей, абсорбируется в организме. Большинство форм фолатов нестабильно. Свежие листовые овощи, хранимые при комнатной температуре, могут терять до 70% фолатов за три дня. Значительные потери могут также происходить в результате экстракции водой. При тепловой обработке разрушается до 90% фолиевой кислоты, содержащейся в сырой пище. Так, при варке овощей и мяса потери фолиевой кислоты достигают 70–90%, при поджаривании мяса – 95%, при варке яиц – 50%. Согласно рекомендациям ВОЗ суточная потребность в фолиевой кислоте для взрослых и детей с 12 лет составляет 400 мкг.

Кишечной микрофлорой осуществляется синтез витаминов B₁ (тиамина), витамина B₂ (рибофлавина), витамина PP (никотиновой кислоты), витамина B₆ (пиридоксина). Кишечная микрофлора продуцирует значительное количество витамина B₁₂ и витамина K, поступление которых в составе пищи имеет второстепенное значение.

ВЫВОДЫ

1. Носительство женщиной генотипа T/T 677 MTHFR в 8 раз повышает риск иметь ребенка с дефектом нервной трубки (ДНТ).

2. В случае наличия факта ДНТ у плода обязательно рекомендовать женщинам определение полиморфизма C677T MTHFR с последующим подбором адекватной генотипу профилактической дозы фолиевой кислоты и других витаминов группы B.

3. В случае наличия нормального кариотипа замершей беременности рекомендовать проведение исследований по тестированию на полиморфные варианты C677T гена

МТНFR, учитывая вероятный факт прерывания беременности в связи с возможным наличием не выявленных ДНТ на очень ранних сроках развития эмбриона

4. Женщинам, имевшим в анамнезе плод с ДНТ, рекомендовать обследование по определению уровня гомоцистеина в плазме крови перед беременностью на фоне прекоцепционной профилактики фолиевой кислотой.

5. Компенсация фолатного дефицита только синтетическими витаминными не всегда успешна, поэтому необходимо контролировать диету и рекомендовать пациенткам группы

Частота зустрічальності поліморфізму С677Т гена МТНFR у жінок з дефектами невральної трубки у плода і підходи до індивідуальної прекоцепційної профілактики

М.П. Веропотвелян, Л.О. Кодунов, Ю.С. Погуляй

У статті описано сучасне бачення можливих механізмів впливу патологічного дефіциту фолатів та поліморфізму С677Т на виникнення дефектів невральної трубки (ДНТ).

Мета дослідження. Визначити наявність взаємозв'язку виникнення ДНТ у плодів з наявністю генетичного дефекту (С677Т МТНFR) у жінок – жительок Дніпропетровської, Запорізької, Кіровоградської, Черкаської областей України.

Матеріали та методи. Проведено визначення поліморфних варіантів С677Т у 149 жінок, які мали плід з ДНТ. В якості контролю було сформовано 2 групи: 1) 112 фенотипово здорових новонароджених; 2) 114 жінок, які мають одну і більше здорову дитину.

Результати. Згідно з оцінкою статистичної достовірності відмінностей вибірок генотип Т/Т 677 МТНFR достовірно ($p < 0,01$) в 9,91 разу частіше зустрічається у групі жінок з ДНТ, ніж серед жінок, які мають здорових дітей. Також було виявлено, що генотип Т/Т 677 МТНFR достовірно ($p < 0,01$) в 6,59 разу рідше зустрічається серед жінок, які мають здорових дітей, у порівнянні із загальною популяцією.

Заключення. Розрахунок відношення шансів показав, що ризик мати дитину з ДНТ підвищений в 12 разів за наявності генотипу Т/Т (OR=11,837).

Ключові слова: дефект нервової трубки, фолат, фолатний цикл, генетичний поліморфізм.

риска по ДНТ обслеование по выявлению дисбиоза кишечной микрофлоры для выявления возможных проблем и проведения соответствующей терапии для формирования нормального синтеза витаминов эндогенного происхождения.

6. Для получения достоверных результатов по взаимосвязи низкофункциональных генотипов по гену МТНFR с риском развития у плода ДНТ необходимо расширить выборку. Также целесообразным считаем оценку и других дефектных вариантов генов, задействованных в обмен фолатов.

The frequency of the С677Т polymorphism of the МТНFR gene in women with neural tube defects in the fetus and individual approaches to the prevention of preconception

N.P. Veropotvelyan, L.A. Kodunov, J.S. Pogulyay

The article describes the modern vision of the possible mechanisms of the effect of abnormal folate deficiency and С677Т polymorphism on the occurrence of neural tube defects.

Goal of the study. Define a relationship of occurrence of NTDs in fetuses with the presence of a genetic defect (С677Т МТНFR) in women from Dnepropetrovsk, Zaporozhye, Kirovograd, Cherkasy regions of Ukraine.

Materials and methods. There were defined the polymorphic variants С677Т МТНFR in 149 women who had a fetus with a neural tube defect (NTD). As controls, two groups were formed: 1) 112 phenotypically healthy newborns. 2) 114 women with one or more healthy child;

Results. According to the evaluation of statistical significance of differences of samples genotype Т/Т 677 МТНFR was significantly ($p < 0,01$) in 9.91 times more common among women with NTDs than women with healthy children. It was also revealed that the genotype Т/Т 677 МТНFR was significantly ($p < 0,01$) in 6.59 times less common among women with healthy children, compared with the general population.

Conclusion. The odds ratio calculation was showed that the risk of having a baby with a NTD 12-fold increased in the presence of a genotype Т/Т (OR=11,837).

Key words: neural tube defect, folate, folate cycle, genetic polymorphism.

Сведения об авторах

Веропотвелян Николай Петрович – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а. E-mail: genetika@ukrpost.ua

Кодунов Леонид Алексеевич – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а; тел.: (0564) 92-49-30

Погуляй Юлия Сергеевна – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а. E-mail: genetika7@gmail.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Веропотвелян Н.П. Сравнительный анализ эффективности ультразвукового пренатального скрининга в снижении распространенности пороков центральной нервной системы среди новорожденных в различных странах мира/ Н.П. Веропотвелян, Л.А. Кодунов// Сборник научных работ сотрудников КМАПО им. П.Л. Шупика. – К., 1999. – Книга 2.
2. Цейцель Э. Первичная профилактика врожденных дефектов: поливитамины или фолиевая кислота? // Гинекология. – 2012. – № 5. – С. 38–46.
3. CDC. 2005. Medical progress in the prevention of neural tube defects. Available at: <http://www.cdc.gov/ncb-ddd/bd/mp.htm> National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities. Accessed on 3/15/2009
4. Ou C.Y. 5,10 Methylene-tetrahydrofolate reductase genetic polymorphism as a risk factor for neural tube defect. / C.Y. Ou, R. E. Stevenson., V. K. Brown., C. E. Schwartz, W.P. Allen, M.J. Khoury, R. Rozen, G. P. Jr Oakley, M.J. Jr Adams.// Am. J. Med. Genet. – 1996. – P. 610–614.
5. Перспективы медицинской генетики/ Под ред. Н.П. Бочкова. – М., 1982.
6. Мерфи Э.А., Чейз Г.А. Основы медико-генетического консультирования. – М., 1979.
7. Стивенсон А., Девидсон Б. Медико-генетическое консультирование. – М., 1972.
8. Shookhoff J.M. New Perspective on Neural Tube Defects: Folic Acid and MicroRNA Misexpression/ J. M. Shookhoff, G. Ian Gallicano <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20229516>.
9. Boot MJ. Folic acid and homocysteine affect neural crest and neuroepithelial cell outgrowth and differentiation in vitro./ MJ Boot, RPM Steegers-Theunissen, RE Poelmann, LV Iperen // Dev Dyn. – 2003. – V. 227 (2):301–8. [PubMed]
10. Shookhoff J.M. A New Perspective on Neural Tube Defects: Folic Acid and MicroRNA Misexpression/ J. M. Shookhoff, G. Ian Gallicano* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20229516/>
11. Copp AJ. The genetic basis of mammalian neurulation/ AJ Copp, ND Greene, JN Murdoch // Nat Rev Genet. 2003;4:784–792.
12. Mathers JC. Reversal of DNA hypomethylation by folic acid supplements: Possible role in colorectal prevention./ JC Mathers // Gut. 2005;54:579–581.
13. Дж.Л. Симпсон. Генетика в акушерстве и гинекологии. – М., 1985.
14. Бицадзе В.О., Макацария А.Д. Принципы профилактики развития дефектов нервной трубки плода/ В.О. Бицадзе, А.Д. Макацария // «Фарматека». – № 1 (136), 2007.

Статья поступила в редакцию 10.12.2015