

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 613.95:614.876:616-053.2-056.7-074:577.164.1

GENOME OF FOLATE METABOLISM AND FOLIC ACID DEFICIENCY IN CHILDREN LIVING IN AREAS AFFECTED BY THE CHERNOBYL NUCLEAR POWER PLANT ACCIDENT

¹*Yu. I. Bandazhevsky, ²N. F. Dubovaya*

¹**Ecology and Health Coordination and Analytical Centre, Ivankiv,**

²**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv**

Introduction. The development of anti-radiation measures requires clarification of causes of hyperhomocysteinemia. In this regard, it is important to determine the effect of genome of folate metabolism on folic acid status in children living in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident.

The purpose of this study was to analyse the frequency of cases of folic acid deficiency among children with different genotypes of folate metabolism living in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident.

Research methods. Immunochemical, mathematical and statistical.

Results. 263 adolescent children from rural localities in Ivankov and Polesie districts, Kiev region, Ukraine, were studied. The genetic analysis of folate metabolism and determination of allelic variants C677T and A1298C of the MTHFR gene (methylene tetrahydrofolate reductase), A2756G of the MTR gene (B₁₂-dependent methionine synthase) and A66G of the MTRR gene (methionine synthase reductase) and serum folic acid (folacin) levels were carried out in all the children. The children with the same genotype of one of 4 folate metabolism genetic polymorphisms were included into comparison groups.

It was established that blood folic acid levels below the reference range set by the laboratory were recorded in 54 out of

263 children examined, or in 20.53 % of cases. In addition, the proportion of cases of folic acid deficiency in the group of children with the MTHFR:677TT genotype was statistically significantly higher than in the groups of children with other folate metabolism genotypes. At the same time, it is necessary to take into account homocysteine levels in the blood when assessing folic acid status in children.

Key words: genome of folate metabolism, folic acid, adolescents, radiation-contaminated areas of Ukrainian Polesie.

Introduction. The determination of causes of hyperhomocysteinemia in a large number of children living in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident [1, 2] is an important aspect of scientific research when developing anti-radiation measures. In this connection, in our opinion, one should pay attention to the determination of the effect of genome of folate metabolism on folic acid status in children living in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident.

The purpose of this study was to analyse the frequency of cases of folic acid deficiency among children with different genotypes of folate metabolism living in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident.

Material and methods. 263 children living in rural areas in Ivankov and Polesie districts, Kiev region, Ukraine, whose average age was 14.7 ± 0.1 years (95 % CI 14.6 — 14.9 years), living permanently after birth in rural localities affected by the CNPP accident (with a Cs-137 soil contamination density of < 2 Curie/km² [3]) were studied.

All the children had blood drawn from the ulnar vein on an empty stomach in the morning to carry out above analyses. All of them at the time of blood draw attended school.

The blood samples were analysed in a laboratory certified under quality standards within the project of the European Commission in Ukraine “Health and ecological programmes around the Chernobyl Exclusion Zone: Development, training and coordination of health-related projects” with the financial support of the Rhône-Alpes Regional Council (France) and agreed with the parents in 2015.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

The allelic variants C677T and A1298C of the MTHFR gene (methylene tetrahydrofolate reductase), A2756G of the MTR gene (B₁₂-dependent methionine synthase) and A66G of the MTRR gene (methionine synthase reductase) were determined during genetic analysis of folate metabolism.

A real-time PCR method was used. An analyser and a test system: the DT-96 detecting thermocycler, DNA-Technology (Russia).

Vitamin B₉ (folacin) concentrations were determined using the immunochemical method with electrochemiluminescent detection (ECLIA). An analyser and a test system: Cobas e411; Roche Diagnostics (Switzerland).

The reference range set by the laboratory for serum vitamin B₉ was 4.6 — 18.7 ng/ml.

The children with the same genotype of one of 4 folate metabolism genetic polymorphisms were included into comparison groups. The statistical processing of the obtained results was performed using the MS Excel programme. Intensive variables and their errors ($\pm m$) were calculated. The Student's t-test was used to compare relative values. The critical level of significance for the null hypothesis (p) was set at 0.05.

Results and discussion. The conducted studies showed that blood folic acid levels below the reference range were recorded in 54 out of 263 children examined, or in 20.53 % of cases. The proportion of cases of folic acid deficiency in the group of children with the MTHFR:677TT genotype is statistically significantly higher than in the groups of children with other folate metabolism genotypes (Table).

The presence of the T risk allele in a homozygous variant creates conditions not only for decreasing blood levels of folic acid but also for increasing homocysteine levels in the blood.

Our previous studies showed that blood folic acid levels were significantly lower and homocysteine levels were significantly higher in children with the MTHFR:677TT genotype than in children with the MTHFR:677CT and MTHFR:677CC genotypes [4].

An inverse weak correlation was established between folic acid concentrations and a genetic risk score that includes the MTHFR:677CC, MTHFR:677CT and MTHFR:677TT genotypes [5].

Percentage of cases of folic acid deficiency in groups of children from Ivankov and Polesie districts with different genotypes (263 cases in total).

Group No.	Polymorphisms, genotypes	Number of children in groups	Folic acid deficiency (n=54)		
			Absolute number	Percentage among children in a group, %	Statistical differences with a group No. 7
1	MTR:2756GG	13	2	15.39	t = 2.75; p = 0.0165
2	MTR:2756AG	87	18	20.69	t = 3.10; p = 0.043
3	MTR:2756AA	163	34	20.86	t = 3.32; p = 0.0025
4	MTHFR:1298CC	21	4	19.05	t = 2.68; p = 0.017
5	MTHFR:1298AC	105	19	18.10	t = 3.41; p = 0.0019
6	MTHFR:1298AA	137	31	22.63	t = 3.00; p = 0.0045
7	MTHFR:677TT	26	14	53.85	-
8	MTHFR:677CT	112	21	18.75	t = 3.36; p = 0.002
9	MTHFR:677CC	105	19	18.10	t = 3.41; p = 0.0019
10	MTRR:66GG	88	11	12.50	t = 3.98; p = 0.0006
11	MTRR:66AG	131	34	25.10	t = 2.66; p = 0.011
12	MTRR:66AA	34	9	26.47	t = 2.21; p = 0.039

Note. * — statistically significant differences between figures of all groups and a figure of group No. 7 (MTHFR:677TT genotype).

The obtained results correspond to the generally accepted concept of the primary role of the CT and TT genotypes of MTHFR:C677T polymorphism in the abnormal functioning of folate metabolism and occurrence of hyperhomocysteinemia [6]. However,

a high frequency of hyperhomocysteinemia was also noticed in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident in children with different genotypes, including those consisting of only neutral alleles [4, 7]. At the same time, an inverse moderate correlation was found between folic acid and homocysteine levels in the blood [1].

Thus, a folic acid deficiency can be formed not only in children with the TT genotype of the MTHFR:C677T polymorphism, responsible for the synthesis of methylenetetrahydrofolate reductase, but be one of the main pathogenetic links of hyperhomocysteinemia.

The degree of its severity should be determined by the level of homocysteine in the blood. This should be taken into account when conducting medical and preventive measures among children living in areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident.

Conclusions. The presence of the T risk allele in the homozygous variant of the MTHFR:C677T polymorphism is accompanied by a decrease in folic acid levels in the blood. However, it is necessary to take into account homocysteine levels in the blood when assessing folic acid status in children.

REFERENCES

1. Bandazhevsky Yu.I. Hyperhomocysteinemia and B₁₂/folic deficiency in children living in areas contaminated with radionuclides as a result of the Chernobyl nuclear power plant accident / Yu.I. Bandazhevsky, N. F. Dubova // Paediatrics. Eastern Europe. - 2017. — Vol. 5. — No. 1. — P. 25-32.
2. Bandazhevsky Yu.I. Genetic polymorphisms and blood homocysteine levels in children and their mothers from the areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident / Yu.I. Bandazhevsky, N. F. Dubova // Pediatrics. Eastern Europe. — 2017. — Volume 5, № 2. — P. 130-139.
3. General Dosimetry Certification and Results of the LVL Monitoring of Settlements in Ukraine, which Suffered Radioactive Contamination after the Chernobyl Disaster. Data for 2011. — Volume 14. — Kyiv. -2012 — P. 99.
4. Bandazhevsky Yu.I. The role of genome of folate metabolism in the occurrence of hyperhomocysteinemia in children from the areas affected by the Chernobyl nuclear power plant accident / Yu.I. Bandazhevsky, N. F. Dubovaya // Scientific and practical collection «Chernobyl: ecology and health». — Issue 6. — Ivankov: PI Coordination and Analytical Center «Ecology and health», — Dnipro: Serednyak T.K., 2017. — P. 27-35.
5. Bandazhevsky Yu.I. State of folate metabolism and health of children living in areas contaminated with radioactive elements as a result of the Chernobyl nuclear power plant accident / Yu.I. Bandazhevsky, N. F. Dubovaya // Scientific and practical collection «Chernobyl: ecology and health». — Issue 6. — Ivankov: PI Coordination and Analytical Center «Ecology and health», — Dnipro: Serednyak T.K., 2017. — P. 16-26.
6. Botto N. Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolism as risk factors for DNA damage / N. Botto, M. Andreassi, S. Manfredi, S. Masetti [et al.] // European Journal of Human Genetics. — 2003. — № 11. — P. 671-678.

7. Bandazhevsky Yu.I. Dynamics of hyperhomocysteinemia in children living in areas contaminated with radionuclides as a result of the Chernobyl nuclear power plant accident/ Yu.I. Bandazhevsky, N. F. Dubovaya // Scientific and practical collection «Chernobyl: ecology and health». — Issue 6. — Ivankov: PI Coordination and Analytical Center «Ecology and health», — Dnipro: Serednyak T.K., 2017. — P. 36-40.

Геном фолатного циклу і дефіцит фолієвої кислоти у дітей, які проживають на території, які постраждали від аварії на Чорнобильській атомній електростанції

¹Ю. І. Бандажевський, ²Н. Ф. Дубова

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

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

Вступ. Розробка заходів протирадіаційного захисту зумовлює з'ясування причин виникнення гіпергомоцистеїнемії. У зв'язку з цим, актуальним є визначення ролі генома фолатного циклу (ФЦ) в забезпеченості фолієвою кислотою організму дітей, які проживають на території, що постраждала від аварії на Чорнобильській атомній електростанції.

Метою цього дослідження став аналіз частоти випадків дефіциту фолієвої кислоти серед дітей з різним генотипом ФЦ, які проживають на території, що постраждала від аварії на Чорнобильській атомній електростанції.

Методи дослідження. Імунохімічний, математико-статистичний.

Результати. Досліджено 263 дитини підліткового віку із сільських населених пунктів Іванківського і Поліського районів Київської області України. У всіх дітей було проведено генетичне дослідження ФЦ з визначенням аельних варіантів С677Т і А1298С гена MTHFR (метілентетрагідрофолатредуктаза), А2756G гена MTR (V_{12} залежна метіонін-синтаза), А66G гена MTRR (метіонін-синтаза редуктаза), а також визначення вмісту фолієвої кислоти (фолаціна) в сироватці крові. У групи порівняння включалися діти з однаковим генотипом одного з 4 генетичних поліморфізмів ФЦ. Встановлено те, що рівень фолієвої кислоти в крові нижче фізіологічних параметрів, встановлених лабораторією, реєструвався у 54 з 263 обстежених дітей, або

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

в 20,53 % випадків. При цьому, питома вага випадків фолієвої дефіциту в групі дітей з генотипом MTHFR: 677TT статистично достовірно був більше, ніж в групах дітей з іншими генотипами ФЦ. У той же час, при оцінці забезпеченості дитячого організму фолієвою кислотою необхідно враховувати рівень гомоцистеїну в крові.

Ключові слова: геном фолатного циклу, фолієва кислота, підлітки, радіоактивно забруднені території Українського Полісся.

Геном фолатного циклу и дефицит фолиевой кислоты у детей, проживающих на территории, пострадавшей от аварии на Чернобыльской атомной электростанции

¹Ю. И. Бандажевский, ²Н. Ф. Дубовая

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

²Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика МЗ Украины, г. Киев

Вступление. Разработка мер противорадиационной защиты предопределяет выяснение причин возникновения гипергомоцистеинемии. В связи с этим, актуальным является определение роли генома фолатного цикла (ФЦ) в обеспеченности фолиевой кислотой организма детей, проживающих на территории, пострадавшей от аварии на Чернобыльской атомной электростанции.

Целью настоящего исследования явился анализ частоты случаев дефицита фолиевой кислоты среди детей с различным генотипом ФЦ, проживающих на территории, пострадавшей от аварии на Чернобыльской атомной электростанции.

Методы исследования. Иммунохимический, математико-статистический.

Результаты. Исследованию подверглись 263 ребенка подросткового возраста из сельских населенных пунктов Иванковского и Полесского районов Киевской области Украины. У всех детей было проведено генетическое исследование ФЦ с определением аллельных вариантов С677Т и А1298С гена MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктаза), А2756G гена

MTR (B_{12} зависима метионин-синтаза), A66G гена MTRR (метионин-синтаза редуктаза), а также определение содержания фолиевой кислоты (фолатина) в сыворотке крови. В группы сравнения включались дети с одинаковым генотипом одного из 4 генетических полиморфизмов ФЦ.

Установлено то, что уровень фолиевой кислоты в крови ниже физиологических параметров, установленных лабораторией, регистрировался у 54 из 263 обследованных детей, или в 20,53 % случаев. При этом, удельный вес случаев фолиевого дефицита в группе детей с генотипом MTHFR:677TT статистически достоверно был больше, чем в группах детей с другими генотипами ФЦ. В тоже время, при оценке обеспеченности детского организма фолиевой кислотой необходимо учитывать уровень гомоцистеина в крови.

Ключевые слова: геном фолатного цикла, фолиевая кислота, подростки, радиоактивно загрязненные территории Украинского Полесья.

Відомості про авторів:

Бандажевський Юрій Іванович — доктор медичних наук, професор, Голова правління ПУ «Координаційний аналітичний центр «Екологія і здоров'я», ключовий експерт проекту Європейської Комісії «Оздоровчі та екологічні програми, пов'язані з Чорнобильською зоною відчуження: розробка, навчання і координація проектів з охорони здоров'я». Адреса: м. Іванків, вул. Поліська, 65.

Дубова Наталія Федорівна — кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри громадського здоров'я Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.