

УДК 618.11-006.2:575.113:577.164.161-17

DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0721.19.7.2023.1331>Архипкіна Т.А. , Бондаренко В.О., Любимова Л.П. , Місюра К.В. 

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», м. Харків, Україна

## Рівень гомоцистеїну та поліморфізм генів фолатного циклу у жінок із синдромом полікістозних яєчників

For citation: Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(7):529-535. doi: 10.22141/2224-0721.19.7.2023.1331

**Резюме. Актуальність.** Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) — багатофакторне захворювання, у розвитку якого важливе значення має поліморфізм генів. Останніми роками з'являються дані щодо ролі гомоцистеїну (ГЦ) у формуванні СПКЯ, а гіпергомоцистеїнемія навіть вважається однією з основних ознак цього захворювання. Причини, які призводять до порушень обміну ГЦ, дуже різноманітні та в більшості залежать від стану генів фолатного циклу. Водночас існуючі дані щодо впливу поліморфізму генів 5,10-метилентетрагідро-фолат-редуктази (MTHFR), метіонін-синтази (MTR), метіонін-синтази-редуктази (MTRR) на розвиток гіпергомоцистеїнемії та ризик виникнення СПКЯ нечисленні та суперечливі. **Мета:** дослідити поліморфізм генів, що кодують ферменти фолатного циклу MTHFR, MTR, MTRR, та встановити їх зв'язок з рівнем ГЦ у хворих на СПКЯ. **Матеріали та методи.** Обстежено 129 жінок віком 20–28 років: основна група — 98 хворих із СПКЯ, контрольна — 31 здорова жінка. Визначено вміст ГЦ у сироватці крові та проведено молекулярно-генетичне дослідження з ідентифікацією генів MTHFR, MTR, MTRR. **Результати.** Поліморфні варіанти генів ферментів фолатного циклу мали місце як у хворих на СПКЯ, так і у здорових жінок, однак за умов СПКЯ спостерігалась істотно вища концентрація ГЦ у сироватці крові. Аналіз поліморфізму гена MTHFR C677T показав, що наявність мутаційного алеля T супроводжувалась підвищенням рівня ГЦ ( $12,9 \pm 0,2$  мкмоль/л) та ризиком виникнення СПКЯ ( $OR = 1,19$ ; 95% CI 0,52–2,71). При наявності двох алелів T рівень ГЦ ( $14,6 \pm 0,3$  мкмоль/л) та шанс виникнення СПКЯ ( $OR = 7,69$ ; 95% CI 0,98–59,87) зростали ще більше відносно функціонально «нормального» генотипу C677C. Між поліморфізмом гена MTHFR у локусі 1298 та СПКЯ також існувала асоціація, сила якої залежала від кількості патологічних алелів C та була опосередкована рівнем ГЦ, хоча ця мутація супроводжувалась менш істотним зростанням рівня ГЦ, ніж мутація в локусі 677. Порівняно з носіями гомозиготного генотипу A1298A у хворих, які мали один алель C, ризик розвитку СПКЯ був у 5,7 раза вищим, а за наявності двох алелів C зростав у 7,3 раза. Генотипи MTRR A66A та A66G супроводжувались істотним підвищенням рівня ГЦ при порівнянні з показником контрольної групи та поєднувались зі збільшенням ризику виникнення СПКЯ. Мутантний гомозиготний генотип G66G частіше зустрічався в контрольній групі та не мав значного впливу на рівень ГЦ. Не доведено, що ген MTR є геном-кандидатом розвитку СПКЯ, а його поліморфні варіанти мають негативний вплив на рівень ГЦ. Поєднання мутаційних варіантів генів MTHFR C677T та A1298C, MTHFR C677T та MTR A2756G, MTR A2756G та MTRR A66G асоціюються з більш високими показниками ГЦ та шансу розвитку СПКЯ порівняно з будь-якою окремою мутацією. **Висновки.** Поліморфізм гена MTHFR та синергічний ефект мутацій генів MTHFR, MTR, MTRR можуть бути важливими генетичними детермінантами рівня ГЦ та ризику виникнення СПКЯ.

**Ключові слова:** синдромом полікістозних яєчників; гомоцистеїн; гени MTHFR; MTR; MTRR



© 2023. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Архипкіна Тетяна Леонідівна, доктор медичних наук, старший науковий співробітник відділу клінічної ендокринології, ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», вул. Алчевських, 10, м. Харків, 61002, Україна; e-mail: [tanya\\_arhipkina@hotmail.com](mailto:tanya_arhipkina@hotmail.com); тел.: +380 (50) 302-07-13

For correspondence: Tetiana Arkhupkina, State institution "V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems NAMS of Ukraine", Alchevskikh st., 10, 61002, Kharkiv, Ukraine; e-mail: [tanya\\_arhipkina@hotmail.com](mailto:tanya_arhipkina@hotmail.com); tel. +380 (50) 302-07-13

Full list of authors information is available at the end of the article.

## Вступ

Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) є найбільш поширеною ендокринною репродуктопатією з метаболічними розладами, яка вражає жінок дітородного віку [1]. Хоча етіологія СПКЯ ще не повністю вивчена, все більше даних свідчать про те, що це багатофакторне захворювання, у розвитку якого важливе значення має поліморфізм генів [2]. На сьогодні в наукових роботах обговорюється взаємозв'язок між СПКЯ та кількома генами-кандидатами, однак жоден ген ще не був ідентифікований як його біомаркер [3]. Водночас питання патогенетичних процесів, які є підґрунтям для розвитку цього захворювання, також залишаються до кінця не вирішеними і продовжують ретельно вивчатися. Останніми роками все більше з'являється даних щодо ролі гомоцистеїну (ГЦ) у формуванні СПКЯ, а гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) навіть вважається однією з основних ознак цього захворювання [4]. Через окиснювальний стрес ГГЦ сприяє розвитку інсулінорезистентності, дисфункції  $\beta$ -клітин, відіграє роль медіатора ендотеліального ушкодження, що асоціюється з підвищенням ризиком серцево-судинних захворювань та вважається предиктором виникнення репродуктивних розладів [5–7].

Причини, які призводять до порушень обміну ГЦ та розвитку ГГЦ, дуже різноманітні, водночас, за даними літератури, 2/3 усіх випадків ГГЦ пов'язані зі змінами, що виникають під час реметилування ГЦ до метіоніну та значною мірою залежать від стану фолатного циклу [8]. У фолатному циклі беруть участь понад десять ензимів, серед яких найбільш досліджуваними та вагомими для адекватного функціонування репродуктивної системи вважаються 5,10-метилентетрагідро-фолат-редуктаза (МТНФР), метіонін-синтаза (МТР), метіонін-синтаза-редуктаза (МТРР) [9]. У свою чергу, ці ферменти кодуються однойменними генами (МТНФР, МТР, МТРР), за умов поліморфізму яких розвиваються процеси, що призводять до аномального накопичення ГЦ і, відповідно, до розвитку ГГЦ [8, 10]. Отже, цілком ймовірно, що поліморфізм генів фолатного циклу може бути опосередковано або напямую пов'язаний із СПКЯ, однак результати наукових досліджень, які ведуться в цьому напрямку, суперечливі [5].

Ключовий фермент фолатного обміну МТНФР кодується геном МТНФР та переводить фолієву кислоту в активну форму — 5-метилтетрагідрофолат, який несе метильну групу, необхідну для реметилування ГЦ. Зниження активності ферменту МТНФР призводить до зменшення утворення 5-метилтетрагідрофолату і одночасно до підвищення рівня ГЦ в крові. Існує декілька мутацій гена МТНФР, що викликають тяжку недостатність цього ензиму, але більшість з цих варіантів дуже рідкісні. На сьогодні вагомим практичну роль відіграють два поліморфні варіанти С677Т та А1298С, оскільки саме вони призводять до зниження активності ферменту МТНФР [11, 12]. Водночас дані щодо взаємозв'язку між зазначеним поліморфізмом та СПКЯ суперечливі. Так, польські дослідники стверджують, що між генетичною мутацією МТНФР С677Т та СПКЯ відсутня асоціація [13], тоді як науковці з Кореї вважають наявність алеля Т фактором ризику розвитку СПКЯ в корейській попу-

ляції [14]. Щодо мутації у локусі 1298 та шансу виникнення СПКЯ довгий час не було жодних доказів. Лише в останні роки у роботах Х. Јао зі співавт. та W. Feng зі співавт. висловлюється припущення, що заміна алеля А на алель С у даному локусі також супроводжується зниженням активності ферменту МТНФР [14, 15], однак до кінця це питання залишається не вирішеним.

Фермент МТР кодується геном МТР. Метіонін-синтаза каталізує реметилування ГЦ у метіонін за допомогою реакції, де як проміжний переносник метильної групи виступає метилкобаламін. У цьому процесі відбувається окиснення кобаламіну, а фермент МТР перетворюється на неактивний стан. Мутації гена МТР можуть змінювати активність метіонін-синтази, що впливає на процес реметилування ГЦ та сприяє накопиченню останнього [16]. Існують лише поодинокі роботи, в яких вивчався зв'язок між мутаційними варіантами гена МТР А2756G та СПКЯ, а отримана варіабельність результатів свідчить про існування національних особливостей в різних географічних регіонах [17].

Відновлення активності МТР можливо за участю ферменту МТРР. Амінокислотну послідовність ферменту метіонін-синтази-редуктази кодує ген МТРР. При поліморфізмі у цьому гені відбувається заміна амінокислотного залишку ізолейцину на метіонін, а функціональна активність ферменту МТРР зменшується [14]. Зниження активності кожного з ензимів фолатного циклу супроводжується порушенням процесу метилування, а дефект у роботі донора метильних груп — метіоніну тягне за собою довгий ланцюг генетичних подій, до яких залучені поліморфні алелі та гени, що регулюють метаболізм фолатів і впливають на розвиток ГГЦ. Кумулятивний генетичний поліморфізм поглиблює порушення процесу реметилування, посилює метаболічні й репродуктивні розлади, що може впливати на клінічний та метаболічний фенотип СПКЯ [18].

Отже, привабливість вивчення поліморфних варіантів генів фолатного циклу у контексті виникнення ГГЦ, як підґрунтя для розвитку СПКЯ, не викликає сумнівів. Водночас суперечливість існуючих наукових даних та практично відсутність наукових робіт щодо впливу поліморфізму генів фолатного циклу на процеси, пов'язані з ризиком розвитку СПКЯ у жінок української популяції, спонукають до подальших досліджень.

**Мета дослідження:** дослідити поліморфізм основних генів, що кодують ферменти фолатного циклу МТНФР, МТР, МТРР, та встановити їх зв'язок з рівнем ГЦ у хворих на СПКЯ.

Стаття виконана в рамках науково-дослідної роботи «Визначення ролі однонуклеотидних поліморфізмів генів-кандидатів щодо ефективності різних варіантів терапії цукрового діабету 2-го типу, ожиріння та ендокринно обумовленого безпліддя», № 0122U200336.

## Матеріали та методи

У рамках цієї роботи обстежено 98 жінок із СПКЯ (Роттердамський консенсус 2003 р. [19]), які звернулися до клініки ДУ «ІПЕП». До контрольної групи увійшла 31 здорова жінка без порушень менструального циклу і репродуктивних розладів. Група хворих на СПКЯ та здоро-

ві жінки були порівнянні за віком ( $24,2 \pm 0,2$  року проти  $24,9 \pm 0,3$  року) й індексом маси тіла ( $26,4 \pm 0,4$  кг/м<sup>2</sup> проти  $25,8 \pm 0,5$  кг/м<sup>2</sup>). Жодна з жінок не отримувала вітаміни групи В щонайменше за 3 місяці до початку дослідження. Залучення до дослідження проводилося після підписання інформованої згоди пацієнта.

Для проведення молекулярно-генетичного дослідження з ідентифікацією генів MTHFR, MTR, MTRR використовували набір для визначення схильності до порушень фолатного циклу BC-Folate (Biosorp, Україна). За результатами виділяли генотипи: поліморфізм C677T гена MTHFR: CC — гомозиготний дикий, CT — гетерозиготний, TT — гомозиготний мутантний; поліморфізм A1298C гена MTHFR: AA — гомозиготний дикий, AC — гетерозиготний, CC — гомозиготний мутантний; поліморфізм A66G гена MTRR: AA — гомозиготний дикий, AG — гетерозиготний, GG — гомозиготний мутантний; поліморфізм A2756G гена MTR: AA — гомозиготний дикий, AG — гетерозиготний, GG — гомозиготний мутантний.

Для визначення концентрації ГЦ використовували тест-систему Roche Diagnostics (Швейцарія).

Статистична обробка одержаних даних проводилась методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичних розрахунків Microsoft Excel і Statistica 10.0. Вірогідність розбіжностей середніх величин визначали за t-критерієм Стьюдента. Дані наведені як  $\bar{X} \pm S_x$ . Оцінка категоріальних змінних проведена з обчисленням частот і часток (%), для порівняння відмінностей використовували таблиці пов'язаності і враховували  $\chi^2$  тест. Включали поправку Єйтса на безперервність. Розраховували показник відношення шансів (OR) з 95% довірчим інтервалом. Статистично значущими вважали відмінності при рівні вірогідності  $P < 0,05$ .

Дослідження проводилося відповідно до основних принципів біоетики Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (4 квітня 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої асоціації охорони здоров'я про етичні принципи проведення медичних досліджень за участю людей (1964–2013). Комісія з біомедичної етики ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» (протокол № 6 від 31 травня 2023 року) порушень моральних і правових норм під час дослідження не виявила.

## Результати

При визначенні рівня ГЦ у сироватці крові встановлено вірогідні розбіжності в його середніх показниках у хворих на СПКЯ з наявністю ( $12,1 \pm 0,2$  мкмоль/л) і відсутністю ( $10,6 \pm 0,3$  мкмоль/л) генетичного поліморфізму порівняно з жінками контрольної групи ( $8,2 \pm 0,3$  мкмоль/л;  $P < 0,05$ ).

Результати молекулярно-генетичного аналізу поліморфних варіантів досліджуваних генів фолатного циклу в обстежених пацієнтів наведені у табл. 1.

Аналіз поліморфізму гена MTHFR в обстежених жінок встановив статистично значущі відмінності між основною та контрольною групами. Так, за умов СПКЯ носійство функціонально «нормального» генотипу C677C спостерігалось в 1,6 раза рідше, а гомозиготного

«несприятливого» генотипу T677T у 6,4 раза частіше, ніж у контрольній групі. Встановлено, що наявність мутаційного алеля T супроводжувалась наявністю асоціації із СПКЯ ( $\chi^2 = 0,04$ ;  $P = 0,84$ ; OR = 1,19; 95% CI 0,52–2,71), яка зростала зі збільшенням кількості алелів (TT) ( $\chi^2 = 3,919$ ;  $P = 0,048$ ; OR = 7,69; 95% CI 0,98–59,87). Отримані нами результати узгоджуються з даними інших дослідників та підтверджують припущення, що алель T може бути поєднаний з ризиком виникнення СПКЯ [14]. Наявність мутаційного варіанта гена MTHFR C677T в обстежених пацієнок також поєднувалась зі зростанням концентрації ГЦ у сироватці крові, при цьому даний показник був вірогідно ( $P < 0,001$ ) вищим за рівень ГЦ як у здорових жінок, так і у хворих з генотипом C677C.

Другим за поширеністю поліморфним варіантом гена MTHFR є мутація A1298C. Гомозиготний генотип A1298A в групі жінок із СПКЯ траплявся вірогідно рідше порівняно з контролем, а відсоток носіїв генотипів A1298C та C1298C був дещо вищим, хоча достеменною різниці не встановлено. При оцінці можливості асоціації між цими мутаціями та ризиком виникнення СПКЯ зазначено чітку залежність з кількістю алелів ризику C. Порівняно з носіями гомозиготного генотипу A1298A у хворих, які мали один алель C, шанс розвитку СПКЯ був у 5,7 раза вищим, а за наявності двох алелів C зростав у 7,3 раза (табл. 1). Водночас поліморфізм гена MTHFR з мутаціями в локусі 1298 супроводжувався менш істотним зростанням рівня ГЦ, ніж при мутаціях в локусі 677. Отже, можна припустити, що заміна на ділянці 1298 гена MTHFR знижує активність відповідного ферменту фолатного циклу, однак не так суттєво, як при поліморфізмі C677T.

Встановлено, що наявність компаунд-гетерозиготних мутацій MTHFR C677T та A1298C поєднувалась з більш істотним підвищенням концентрації ГЦ ( $13,7 \pm 0,2$  мкмоль/л;  $P < 0,05$ ) проти кожного з варіантів окремої гетерозиготної мутації у цьому гені. Отримані результати дають підставу вважати, що саме рівень ГЦ у сироватці крові обумовлює асоціацію між поліморфізмом гена MTHFR 677/1298 та СПКЯ.

Щодо частоти генотипів MTR A2756G, то вона вірогідно не відрізнялась в обстежених пацієнок та здорових жінок (табл. 1), тоді як концентрація ГЦ за умов СПКЯ була вірогідно вищою, ніж цей показник у контрольній групі (табл. 2). Попри більш високий рівень ГЦ, ми не виявили асоціації між поліморфними варіантами гена MTR A2756G та ризиком розвитку СПКЯ. При поєднанні гетерозиготних мутацій MTR A2756G та MTHFR C677T показник середнього рівня ГЦ ( $13,4 \pm 0,2$  мкмоль/л;  $P < 0,05$ ) зростав ще більше.

Оцінка поліморфізму гена MTRR A66G показала відсутність вірогідної різниці у частоті, з якою траплялися гомозиготний функціонально «нормальний» A66A та гетерозиготний A66G генотипи серед обстежених основної групи. Відсоток носіїв цих поліморфних варіантів серед хворих не відрізнявся від відсотка серед здорових жінок (табл. 1). Генотипи MTRR A66A та A66G супроводжувались істотним підвищенням рівня ГЦ при порівнянні з показником контрольної групи (табл. 2).

Таблиця 1. Розподіл генотипів та алелів поліморфних варіантів генів фолатного циклу в обстежених жінок

Генотип		Хворі на СПКЯ	Контрольна група	Статистичний показник
		Абс. (%)	Абс. (%)	
MTHFR C677T	Алель С	114 (58,2)	48 (77,4)	$\chi^2 = 6,67$ ; P = 0,01; OR = 0,41; 95% CI 0,21–0,78
	Алель Т	82 (41,8)	14 (22,6)	$\chi^2 = 6,67$ ; P = 0,01; OR = 2,47; 95% CI 1,28–4,77
	СС	36 (36,7)	18 (58,1)	$\chi^2 = 3,57$ ; P = 0,06; OR = 0,42; 95% CI 0,18–0,96
	СТ	42 (42,9)	12 (38,7)	$\chi^2 = 0,04$ ; P = 0,84; OR = 1,19; 95% CI 0,52–2,71
	ТТ	20 (20,4)	1 (3,2)	$\chi^2 = 3,919$ ; P = 0,04; OR = 7,69; 95% CI 0,98–59,87
	СТ+ТТ	62 (63,3)	13 (41,9)	$\chi^2 = 4,18$ ; P = 0,04; OR = 2,52; 95% CI 1,11–5,69
MTHFR A1298C	Алель А	125 (63,8)	50 (80,6)	$\chi^2 = 5,39$ ; P = 0,02; OR = 0,42; 95% CI 0,21–0,85
	Алель С	71 (36,2)	12 (19,4)	$\chi^2 = 5,39$ ; P = 0,02; OR = 2,37; 95% CI 1,18–4,74
	АА	42 (42,9)	21 (67,7)	$\chi^2 = 4,88$ ; P = 0,03; OR = 0,36; 95% CI 0,15–0,83
	АС	41 (41,8)	8 (25,8)	$\chi^2 = 1,93$ ; P = 0,16; OR = 2,07; 95% CI 0,84–5,08
	СС	15 (15,3)	2 (6,5)	$\chi^2 = 0,93$ ; P = 0,33; OR = 2,62; 95% CI 0,57–12,16
	АС+СС	56 (57,1)	10 (32,3)	$\chi^2 = 4,88$ ; P = 0,03; OR = 2,8; 95% CI 1,19–6,57
MTR A2758G	Алель А	125 (63,8)	39 (62,9)	$\chi^2 = 0,001$ ; P = 0,98; OR = 1,04; 95% CI 0,58–1,88
	Алель G	71 (36,2)	23 (37,1)	$\chi^2 = 0,001$ ; P = 0,98; OR = 0,96; 95% CI 0,53–1,74
	АА	45 (45,9)	14 (45,2)	$\chi^2 = 0,018$ ; P = 0,89; OR = 1,03; 95% CI 0,46–2,32
	AG	35 (35,7)	11 (35,5)	$\chi^2 = 0,04$ ; P = 0,85; OR = 1,01; 95% CI 0,44–2,35
	GG	18 (18,4)	6 (19,3)	$\chi^2 = 0,02$ ; P = 0,89; OR = 0,94; 95% CI 0,34–2,62
	AG+GG	53 (54,1)	17 (54,8)	$\chi^2 = 0,018$ ; P = 0,89; OR = 0,97; 95% CI 0,43–2,18
MTRR A66G	Алель А	119 (60,7)	28 (45,2)	$\chi^2 = 4,04$ ; P = 0,04; OR = 1,87; 95% CI 1,05–3,34
	Алель G	77 (39,3)	34 (54,8)	$\chi^2 = 4,04$ ; P = 0,04; OR = 0,53; 95% CI 0,29–0,95
	АА	38 (38,8)	8 (25,8)	$\chi^2 = 1,21$ ; P = 0,27; OR = 1,82; 95% CI 0,74–4,48
	AG	43 (43,9)	12 (38,7)	$\chi^2 = 0,089$ ; P = 0,77; OR = 1,23; 95% CI 0,54–2,83
	GG	17 (17,3)	11 (35,5)	$\chi^2 = 3,56$ ; P = 0,06; OR = 0,38; 95% CI 0,16–0,94
	AG+GG	60 (61,2)	23 (74,2)	$\chi^2 = 1,21$ ; P = 0,27; OR = 0,55; 95% CI 0,22–1,35

Таблиця 2. Середня концентрація гомоцистеїну в сироватці крові залежно від досліджуваних генотипів,  $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ 

Генотип		Хворі на СПКЯ		Контрольна група		P
		n	ГЦ, мкмоль/л	n	ГЦ, мкмоль/л	
MTHFR C677T	СС	36	11,4 ± 0,2	18	8,4 ± 0,2	< 0,001
	СТ	42	12,9 ± 0,2	12	9,2 ± 0,3	< 0,001
	ТТ	20	14,6 ± 0,3	1	9,8	
MTHFR A1298C	АА	42	10,6 ± 0,2	21	7,9 ± 0,2	< 0,001
	АС	41	11,8 ± 0,2	8	8,3 ± 0,3	< 0,001
	СС	15	13,8 ± 0,3	2	8,8	
MTR A2758G	АА	45	11,4 ± 0,2	14	7,9 ± 0,2	< 0,001
	AG	35	12,2 ± 0,2	11	8,2 ± 0,2	< 0,001
	GG	18	11,9 ± 0,2	6	8,4 ± 0,3	< 0,001
MTRR A66G	АА	38	12,4 ± 0,2	8	8,8 ± 0,3	< 0,001
	AG	43	11,9 ± 0,2	12	9,2 ± 0,3	< 0,001
	GG	17	9,8 ± 0,3	11	8,2 ± 0,3	< 0,01

Крім цього, такі генотипи поєднувались зі збільшенням показника відношення шансів виникнення СПКЯ (табл. 1). За умов компаунд-гетерозиготних мутацій MTRR A66G та MTR A2756G спостерігалось ще більше зростання концентрації ГЦ ( $13,8 \pm 0,2$  мкмоль/л;  $P < 0,05$ ). Щодо гомозиготного генотипу з двома алелями G, то він вірогідно частіше реєструвався в контрольній групі (табл. 1). Пацієнтки з генотипом MTRR G66G мали більш низькі рівні ГЦ (табл. 2). Проведений статистичний аналіз показав, що наявність двох алелів GG не є фактором ризику розвитку СПКЯ ( $OR = 0,38$ ;  $95\% CI 0,16-0,94$ ). Отримані нами результати узгоджуються з даними інших дослідників, які висувають гіпотезу щодо протекторних властивостей рецесивної гомозиготної моделі [20].

Отже, вищезазначене вказує на наявність асоціації між поліморфізмом генів фолатного циклу та ризиком виникнення СПКЯ, що, ймовірно, опосередковано концентрацією ГЦ у сироватці крові.

## Обговорення

У науковій літературі питання щодо асоціації поліморфізму генів фолатного циклу з ризиком розвитку СПКЯ залишається суперечливим, а неоднозначність отриманих результатів насамперед пов'язують з генетичною різноманітністю, яка існує серед різних етнічних груп [17]. Отже, ми вважали за доцільне проаналізувати мутації генів MTHFR, MTRR, MTR та їх здатність модулювати ризик розвитку СПКЯ у жінок, які проживають на сході України, оскільки припускали існування можливих особливостей, з урахуванням впливу епігенетичних факторів, та не знайшли подібних досліджень. Отримані дані свідчать про те, що поліморфні варіанти генів, які кодують ферменти фолатного циклу, мали місце як у хворих на СПКЯ, так і у здорових жінок, однак за умов СПКЯ спостерігалась істотно вища концентрація ГЦ у сироватці крові. ГЦ вважається найбільш чутливим маркером генетично детермінованих порушень у фолатному циклі [5–7]. Проведений у роботі аналіз гена MTHFR показав існування асоціативних зв'язків між наявними поліморфними варіантами та ризиком виникнення СПКЯ. Так, гомозиготний мутаційний генотип T677T, ймовірно, здатен найбільш сильно знижувати активність відповідного ферменту, оскільки наявність двох патологічних алелів супроводжувалась більш високим середнім рівнем ГЦ у сироватці крові та зростанням показника відношення шансів виникнення СПКЯ порівняно з гетерозиготним генотипом. Між поліморфізмом у локусі 1298 та СПКЯ також існувала асоціація, сила якої залежала від кількості алелів C та була опосередкована рівнем ГЦ. Наше припущення, що активність ферменту MTHFR за умов мутації у локусі 1298 знижується не так суттєво, як при змінах у локусі 677, збігається з думкою інших дослідників [20, 21].

Щодо гена MTR A2756G, то ми не виявили зв'язку між його поліморфними варіантами та шансом виникнення СПКЯ, що узгоджується з нечисленними даними літератури, у якій були проаналізовані результати досліджень, проведених у різних етнічних групах [22].

Асоціація між геном MTRR та СПКЯ реєструвалась при генотипах A66A та A66G. Привертало увагу, що генотип G66G частіше зустрічався серед жінок контрольної групи. Можливим поясненням цього може бути припущення вітчизняних дослідників, згідно з яким висока частота цієї рецесивної гомозиготності серед жінок української популяції може мати адаптивне значення, а мутації MTRR G66G мають протекторні властивості [23]. Результати нашого дослідження також свідчать на користь цієї гіпотези, оскільки цей поліморфний варіант вірогідно не змінював показник шансу розвитку СПКЯ.

Таким чином, отримані результати вказують на те, що несприятливі поліморфні варіанти генів фолатного циклу асоціюються з ризиком виникнення СПКЯ, що, ймовірно, обумовлено зростанням концентрації ГЦ у сироватці крові. Компаунди генів MTHFR, MTRR, MTR поєднуються зі ще більшим зростанням показників ГЦ та відношення шансів ризику виникнення СПКЯ порівняно з будь-якою окремою мономутацією. Отже, поліморфізм гена MTHFR та синергічний ефект мутацій генів MTHFR, MTR, MTRR можуть бути важливими генетичними детермінантами рівня ГЦ та ризику виникнення СПКЯ, однак це потребує подальшого дослідження у більш численній вибірці.

## Висновки

У жінок української популяції поліморфні варіанти гена MTHFR 677/1298 асоціювались з більш високими рівнями ГЦ у сироватці крові та ризиком розвитку СПКЯ, а ступень асоціації залежав від кількості алелів ризику T та C.

Показник шансу розвитку СПКЯ збільшувався у носіїв генотипів MTRR A66A та A66G, тоді як мутантний гомозиготний генотип G66G частіше зустрічався в контрольній групі та не мав значного впливу на рівень ГЦ.

Відсутні дані, які б підтверджували, що ген MTR є кандидатом розвитку СПКЯ, а його поліморфні варіанти мають негативний вплив на рівень ГЦ.

Поєднання мутацій генів, які беруть участь у метаболізмі фолієвої кислоти: MTHFR C677T та A1298C, MTR A2756G та MTHFR C677T, MTRR A66G та MTR A2756G — призводило до більш істотних порушень реметилювання ГЦ, що супроводжувалось його накопиченням у сироватці крові та зростанням ризику розвитку СПКЯ.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

**Внесок авторів.** *Архипкіна Т.Л.* — розробка ідеї та плану дослідження, концепції роботи; збір даних, статистичний аналіз даних та їх обговорення, підготовка статті до друку; *Бондаренко В.О.* — розробка ідеї та плану дослідження, концепції роботи; статистичний аналіз даних та їх обговорення, підготовка статті до друку; *Любимова Л.П.* — набір клінічного матеріалу, статистичний аналіз даних та їх обговорення, підготовка статті до друку; *Місюра К.В.* — розробка ідеї та плану дослідження, концепції роботи; обговорення.

## References

1. Aversa A, La Vignera S, Rago R, et al. Fundamental Concepts and Novel Aspects of Polycystic Ovarian Syndrome: Expert Consensus Resolutions. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Aug 11;11:516. doi: 10.3389/fendo.2020.00516.
2. Zhu T, Goodarzi MO. Causes and Consequences of Polycystic Ovary Syndrome: Insights From Mendelian Randomization. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022 Feb 17;107(3):e899-e911. doi: 10.1210/clinem/dgab757.
3. Hiam D, Moreno-Asso A, Teede HJ, et al. The Genetics of Polycystic Ovary Syndrome: An Overview of Candidate Gene Systematic Reviews and Genome-Wide Association Studies. *J Clin Med*. 2019 Oct 3;8(10):1606. doi: 10.3390/jcm8101606.
4. Maharjan P, Hong PD. The Effects of Plasma Homocysteine in PCOS Women: A Review. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2018;8(1):39-50. doi: 10.4236/ojog.2018.81005.
5. Bhushan R, Sinha P. Correlation of Serum Homocysteine Levels and Hyperinsulinaemia with Body Mass Index in Polycystic Ovarian Syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 2022 Jan-Mar;15(1):34-41. doi: 10.4103/jhrs.jhrs\_147\_21.
6. Kamyshna I, Pavlovych L, Pankiv I, et al. The complex influence of the combination of the BDNF (rs6265), VDR (rs2228570), and NMDA (rs4880213) genotypes on the development of cognitive disorders in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. *International Journal of Endocrinology (Ukraine)*. 2023;19(1):9-15. doi: 10.22141/2224-0721.19.1.2023.1235.
7. Fouani FZ, Fadaei R, Moradi N, et al. Circulating levels of Metelin-like protein in polycystic ovary syndrome: A case-control study. *PLoS One*. 2020 Apr 24;15(4):e0231943. doi: 10.1371/journal.pone.0231943.
8. Portillo F, Vázquez J, Pajares MA. Protein-protein interactions involving enzymes of the mammalian methionine and homocysteine metabolism. *Biochimie*. 2020 Jun;173:33-47. doi: 10.1016/j.biochi.2020.02.015.
9. Kako K, Kim JD, Fukamizu A. Emerging impacts of biological methylation on genetic information. *J Biochem*. 2019 Jan 1;165(1):9-18. doi: 10.1093/jb/mvy075.
10. Perä-Kajä J, Jakubowski H. Dysregulation of Epigenetic Mechanisms of Gene Expression in the Pathologies of Hyperhomocysteinemia. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 27;20(13):3140. doi: 10.3390/ijms20133140.
11. Xiong Y, Bian C, Lin X, Wang X, Xu K, Zhao X. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in the risk of polycystic ovary syndrome and ovarian cancer. *Biosci Rep*. 2020 Jul 31;40(7):BSR20200995. doi: 10.1042/BSR20200995.
12. Zhu X, Hong X, Chen L, Xuan Y, Huang K, Wang B. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms with genetic susceptibility to polycystic ovary syndrome: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Gene*. 2019 Nov 30;719:144079. doi: 10.1016/j.gene.2019.144079.
13. Ożógowska K, Bogacz A, Bartkowiak-Wieczorek J, Seremak-Mrozikiewicz A, Pawelczyk L. Is there an association between the development of metabolic syndrome in PCOS patients and the C677T MTHFR gene polymorphism? *Ginekol Pol*. 2016;87(4):246-53. doi: 10.17772/gp/61751.
14. Feng W, Zhang Y, Pan Y, et al. Association of three missense mutations in the homocysteine-related MTHFR and MTRR gene with risk of polycystic ovary syndrome in Southern Chinese women. *Reprod Biol Endocrinol*. 2021 Jan 7;19(1):5. doi: 10.1186/s12958-020-00688-8.
15. Jiao X, Chen W, Zhang J, et al. Variant Alleles of the ESR1, PPARG, HMGA2, and MTHFR Genes Are Associated With Polycystic Ovary Syndrome Risk in a Chinese Population: A Case-Control Study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Aug 30;9:504. doi: 10.3389/fendo.2018.00504.
16. Yuan X, Wang T, Gao J, et al. Associations of homocysteine status and homocysteine metabolism enzyme polymorphisms with hypertension and dyslipidemia in a Chinese hypertensive population. *Clin Exp Hypertens*. 2020;42(1):52-60. doi: 10.1080/10641963.2019.1571599.
17. Talwar S, Prasad S, Kaur L, et al. MTR, MTRR and CBS Gene Polymorphisms in Recurrent Miscarriages: A Case Control Study from North India. *J Hum Reprod Sci*. 2022 Apr-Jun;15(2):191-196. doi: 10.4103/jhrs.jhrs\_186\_21.
18. Azzini E, Ruggeri S, Polito A. Homocysteine: Its Possible Emerging Role in At-Risk Population Groups. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 20;21(4):1421. doi: 10.3390/ijms21041421.
19. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004 Jan;19(1):41-7. doi: 10.1093/humrep/deh098.
20. Santos TBD, Paula HK, Balarin MAS, et al. Can the genetic polymorphisms of the folate metabolism have an influence in the polycystic ovary syndrome? *Arch Endocrinol Metab*. 2019 Sep 2;63(5):501-508. doi: 10.20945/2359-3997000000167.
21. Li Y, Zhu H, Liu M, et al. Significant association between methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism with polycystic ovary syndrome risk: A meta-analysis update. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Jan;99(4):e18720. doi: 10.1097/MD.00000000000018720.
22. Lei L, Ding L, Su J, et al. Attenuated expression of MTR in both prenatally androgenized mice and women with the hyperandrogenic phenotype of PCOS. *PLoS One*. 2017 Dec 12;12(12):e0187427. doi: 10.1371/journal.pone.0187427.
23. Grechanina E, Lesovoy V, Myasoedov V, Yu. B. Grechanina Yu, Gusar V. Regular relationship between the development of some epigenetic diseases and impaired DNA methylation due to deficiency of folate cycle enzymes. *Ultrasonic perinatal diagnostics*. 2010;29:27-59. (in Russian).

Отримано/Received 30.05.2023

Рецензовано/Revised 09.10.2023

Прийнято до друку/Accepted 17.10.2023

### Information about authors

Arkhypkina T.L., MD, PhD, senior researcher, senior researcher of the department of clinical endocrinology, State institution "V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0001-5529-7583>

Bondarenko V.A., MD, PhD, professor, chief researcher of the department of clinical endocrinology, State institution "V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0002-9254-3875>

Lyubimova L.P., PhD, senior researcher, obstetrician-gynecologist, department of surgical endocrinology and gynecology clinic, State institution "V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0003-2984-6969>

Misiura K.V., MD, PhD, professor head of the department of pathomorphology and genetics of endocrine diseases; director of the State institution "V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0002-0258-9109>

**Conflicts of interests.** Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

**Authors' contribution.** T.L. Arkhypkina — development of the research idea and plan, work concept, data collection, statistical analysis of data and their discussion, preparing the article for publication; V.A. Bondarenko — development of the research idea and plan, work concept, statistical analysis of data and their discussion, preparing the paper for publication; L.P. Lyubimova — collection of clinical material, statistical analysis of data and their discussion, preparing the article for publication; K.V. Misiura — development of the research idea and plan, work concept, discussion.

T.L. Arkhypkina, V.A. Bondarenko, L.P. Lyubimova, K.V. Misiura  
State Institution "V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine

### Level of homocysteine and polymorphism of genes involved in folate metabolism in women with polycystic ovary syndrome

**Abstract. Background.** Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a multifactorial disease in the development of which gene polymorphism plays an important role. In recent years, data on the role of homocysteine (Hcy) in the formation of PCOS have appeared, and hyperhomocysteinemia is even considered one of the main symptoms of this disease. The causes of an impaired Hcy metabolism are varied and mainly depend on the condition of the genes encoding enzymes of the folate cycle. At the same time, available data on the effect of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MTR), and methionine synthase reductase (MTRR) gene polymorphisms on the development of hyperhomocysteinemia and the risk of PCOS are few and contradictory. The purpose of the study was to investigate the polymorphisms of the main genes encoding enzymes of the folate cycle (MTHFR, MTR, MTRR) and to reveal their relationship with the level of Hcy in PCOS. **Material and methods.** One hundred and twenty-nine women aged 20–28 years were examined: the main group — 98 patients with PCOS, the control group — 31 healthy women. The serum content of Hcy was evaluated and a molecular genetic study was conducted to identify the MTHFR, MTR, and MTRR genes. **Results.** Polymorphic variants of genes involved in folate metabolism were found in both patients with PCOS and in healthy women. However, serum concentration of Hcy was significantly higher in PCOS. Analysis of the MTHFR C677T polymorphism gene showed that the presence of the mutant T allele was associated with an increased Hcy level ( $12.9 \pm 0.2 \mu\text{mol/l}$ ) and the risk of PCOS (odds ratio (OR) = 1.19; 95% confidence interval (CI) 0.52–2.71). In the presence of two

T alleles, the level of Hcy ( $14.6 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ ) and the risk of developing PCOS (OR = 7.69; 95% CI 0.98–59.87) increased even further compared to the functionally "normal" C677C genotype. There was also an association between the MTHFR gene polymorphism at locus 1298 and PCOS whose strength depended on the number of pathological C alleles and was mediated by Hcy content, although this mutation was accompanied by a less significant increase in the level of Hcy than the mutation at locus 677. Compared to carriers of the homozygous A1298A genotype, the risk of developing PCOS was 5.7 times higher in patients with one C allele, and 7.3 times higher in the presence of two C alleles. The MTRR A66A and A66G genotypes were associated with a significant increase in the level of Hcy compared to that of the control group and were associated with an increased risk of PCOS. The mutant homozygous G66G genotype was more common in the control group and had no significant effect on Hcy concentration. It is not proved that the MTR gene is a candidate gene for the development of PCOS, and its polymorphic variants have a negative effect on the level of Hcy. The combination of MTHFR C677T and A1298C, MTHFR C677T and MTR A2756G, MTR A2756G and MTRR A66G gene mutations are associated with a greater increase in Hcy and the risk of developing PCOS compared to any individual monomutation. **Conclusions.** The MTHFR gene polymorphism and the synergistic effect of the MTHFR, MTR, MTRR gene mutations can be important genetic determinants for homocysteine levels and the risk of PCOS. **Keywords:** polycystic ovary syndrome; homocysteine; MTHFR genes; MTR; MTRR