

<https://doi.org/10.37800/RM.1.2024.17-26>

УДК: 618.177-089.888.11

Исходы программ ВРТ в зависимости от статуса генов фолатного обмена в казахской популяции

А.Н. Рыбина¹, А. Ellenbogen², Д.Д. Мукушкина³, Ш.К. Карибаева¹, Р.К. Валиев¹

¹ТОО «Международный клинический центр репродуктологии PERSONA», Алматы, Республика Казахстан;

²Hillel Yaffe Medical Center, Hadera, Израиль;

³ТОО «TreeGene», Алматы, Республика Казахстан

АННОТАЦИЯ

Актуальность: Обмен фолатов оказывает влияние на работу яичников, процессы имплантации, эмбриогенез и общий ход беременности. Помимо известного воздействия на частоту дефектов нервной трубки, выявлена связь между уменьшением уровня фолиевой кислоты, увеличением концентрации гомоцистеина и различными осложнениями беременности, включая повторяющиеся самопроизвольные аборты. Процессы обмена фолатов напрямую влияют на синтез и метилирование нуклеотидов, что привлекает растущее внимание в сфере репродуктивной медицины. Исследуется влияние генетических вариантов, связанных с обменом фолатов, на результаты процедур ЭКО/ИКСИ у пациенток с бесплодием. Однако пока нет однозначных ответов, так как данные различаются в зависимости от этнических групп. В казахской популяции влияние неблагоприятных генетических вариантов на результаты программ ВРТ ранее не исследовалось.

Цель исследования – определение влияния статуса носительства генов фолатного обмена на исходы программ ВРТ в казахской популяции.

Материалы и методы: Проведено ретроспективное исследование носительства полиморфизмов MTHFR rs1801133 (C677T), rs1801131 (A1298C), MTR rs1805087 (A2756G), MTRR rs1801394 (A66G) у 132 пациенток казахской национальности, прошедших программу ЭКО/ИКСИ и перенос эмбрионов в МКЦР PERSONA (Алматы, Казахстан) с 2016 по 2022 гг.

Результаты: Носительство неблагоприятных полиморфизмов генов фолатного обмена ассоциировано с большим количеством программ ВРТ, длительностью бесплодия, количеством беременностей, количеством неразвивающихся беременностей/выкидышей, количеством отпунктированных фолликулов, количеством полученных ооцитов, количеством зрелых ооцитов, частотой оплодотворения, количеством blastocyst.

Заключение: Наше исследование показало, что 91% пациенток с бесплодием являются носителями того или иного неблагоприятного аллеля и генотипа полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR. Учитывая влияние носительства неблагоприятных полиморфизмов генов фолатного обмена на исходы ВРТ, можно рекомендовать женщинам, имеющим в анамнезе неудачные попытки ЭКО, отсутствие эмбрионов хорошего качества, блоки развития эмбрионов, отсутствие зуплоидных эмбрионов, проводить генотипирование на rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR и назначать персонализированную прегравидарную подготовку перед следующей программой ВРТ с учетом генотипов.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), фолатный обмен, MTHFR, MTR, MTRR, ЭКО/ИКСИ.

Для цитирования: Рыбина А.Н., Мукушкина Д.Д., Карибаева Ш.К., Валиев Р.К. Исходы программ ВРТ в зависимости от статуса генов фолатного обмена в казахской популяции // Репрод. Мед. – 2024. – №1 (58). – С. 17-26. <https://doi.org/10.37800/RM.1.2024.17-26>

Outcomes of ART programs depending on the status of folate metabolism genes in the Kazakh population

A.N. Rybina¹, A. Ellenbogen², D.D. Mukushkina³, Sh.K. Karibayeva¹, R.K. Valiev¹

¹International Clinical Center for Reproductology "PERSONA" LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan;

²Hillel Yaffe Medical Center, Hadera, Israel;

³TreeGene LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan

ABSTRACT

Relevance: Folate metabolism influences ovarian function, implantation processes, embryogenesis, and the overall course of pregnancy. In addition to the well-known impact on the frequency of neural tube defects, a correlation has been identified between decreased levels of folic acid, increased homocysteine concentration, and various pregnancy complications, including recurrent spontaneous abortions. Folate metabolism processes directly affect the synthesis and methylation of nucleotides, attracting increasing attention in the field of reproductive medicine. The influence of genetic variants associated with folate metabolism on the outcomes of IVF/ICSI procedures in infertile patients is under investigation. However, definitive answers are yet to be found as data varies depending on ethnic groups. The impact of unfavorable genetic variants on the outcomes of ART programs has not been previously studied in the Kazakh population.

The study aimed to determine the influence of carrier status of folate metabolism genes on the outcomes of ART programs in the Kazakh population.

Materials and Methods: A retrospective study of polymorphisms MTHFR rs1801133 (C677T), rs1801131 (A1298C), MTR rs1805087 (A2756G), MTRR rs1801394 (A66G) was conducted on 132 Kazakh female patients who underwent IVF/ICSI programs and embryo transfer at the PERSONA IVF Center (Almaty, Kazakhstan) from 2016 to 2022.

Results: Carrier status of unfavorable polymorphisms in folate metabolism genes is associated with a higher number of ART programs, duration of infertility, number of pregnancies, number of non-developing pregnancies/miscarriages, number of punctured follicles, number of obtained oocytes, number of mature oocytes, fertilization frequency, and blastocyst count.

Conclusion: Our study has shown that 91% of infertile patients are carriers of one or another unfavorable allele and genotype of polymorphisms rs1801133 and rs1801131 of the MTHFR gene, rs1805087 of the MTR gene, rs1801394 of the MTRR gene. Considering the influence of carrier status of unfavorable polymorphisms in folate metabolism genes on the outcomes of ART, it is recommended to genotype for rs1801133

and rs1801131 of the MTHFR gene, rs 1805087 of the MTR gene, rs1801394 of the MTRR gene, and prescribe personalized preconception preparation before the next ART program, taking into account the genotypes.

Keywords: assisted reproductive technologies (ART), folate metabolism, MTHFR, MTR, MTRR, IVF/ICSI.

How to cite: Rybina AN, Mukushkina DD, Karibayeva ShK, Valiev RK. Outcomes of ART programs depending on the status of folate metabolism genes in the Kazakh population. Reprod Med. 2024;(1):17-26.

<https://doi.org/10.37800/RM.1.2024.17-26>

Қазақ популяциясындағы фоллий қышқылы метоболизмінің гендер күйіне байланысты ҚРТ бағдарламаларының нәтижелері

А.Н. Рыбина¹, А. Ellenbogen², Д.Д. Мукушкина³, Ш.К. Карибаева¹, Р.К. Валиев¹

¹«Халықаралық клиникалық репродуктология орталығы «PERSONA»» ЖШС, Алматы, Қазақстан Республикасы;

²Hillel Yaffe Medical Center; Хадера, Израиль;

³«TreeGene» ЖШС, Алматы, Қазақстан Республикасы

АНДАТПА

Өзектілігі: Фоллий қышқылының алмасуы аналық бездердің жұмысына, имплантация процестеріне, эмбриогенезге және жүктіліктің жалпы ағымына әсер етеді. Жүйке түтігі ақауларының жиілігіне белгілі әсер етуден басқа, фоллий қышқылы деңгейінің төмендеуі, гомоцистеин концентрациясының жоғарылауы және жүктіліктің әртүрлі асқынулары, соның ішінде қайталанатын өздігінен болатын түсік арасында байланыс болды. Фоллий қышқылының метоболизмі нуклеотидтердің синтезі мен метилденуіне тікелей әсер етеді, бұл репродуктивті медицина саласында өсіп келе жатқан назарды аударады. Бедеулігі бар науқастарда IVF/ICSI процедураларының нәтижелеріне фоллий метоболизмімен байланысты генетикалық нұсқалардың әсері зерттелуде. Дегенмен, нақты жауаптар әлі жоқ, өйткені деректер этникалық топтарда әртүрлі. Қазақ популяциясында қолайсыз генетикалық нұсқалардың АРТ бағдарламаларының нәтижелеріне әсері бұрын зерттелмеген.

Зерттеудің мақсаты – фоллий метоболизмі гендерінің тасымалдаушы статусының қазақстандық популяциядағы АРТ бағдарламаларының нәтижелеріне әсерін анықтау.

Материалдар мен әдістері: MTHFR rs1801133 (C677T), rs1801131 (A1298C), MTR rs 1805087 (A2756G), MTRR rs1801394 полиморфизмдерін тасымалдауды ретроспективті зерттеу және эмбриондарды тасымалдау «PERSONA» ХҚКО-да (Алматы, Қазақстан) 2016-2022 жж.

Нәтижелері: Фоллий қышқылының метоболизмі гендерінің қолайсыз полиморфизмдерінің тасымалдануы АРТ бағдарламаларының көп санымен, бедеуліктің ұзақтығымен, жүктілік санымен, дамымаған жүктілік/түсіктер санымен, тесілген фолликулалар санымен, алынған ооциттер санымен, жетілген жұмыртқалар санымен, ұрықтандыру жиілігі, бластоцист саны.

Қорытынды: Біздің зерттеу бедеулікпен ауыратын науқастардың 91%-ы MTHFR генінің rs1801133 және rs1801131, MTR генінің rs 1805087, MTR генінің rs1801394 және rs1801133 полиморфизмдерінің сол немесе басқа қолайсыз аллельдері мен генотиптерінің тасымалдаушылары екенін көрсетті. АРТ нәтижелеріне фоллий қышқылының метоболизмі гендерінің қолайсыз полиморфизмдерінің тасымалдануының әсерін ескере отырып, анамнезінде ЭКҰ сәтсіз әрекеттері бар, жақсы сапалы эмбриондар, эмбриондардың даму блоктары, зүпплоидты эмбриондар жоқ әйелдерге генотиптеуден өтуді ұсынуға болады. MTHFR генінің rs1801133 және rs1801131, MTR генінің rs 1805087, rs1801394 MTRR гені үшін және генотиптерді ескере отырып, келесі АРТ бағдарламасының алдында жекелендірілген алдын ала дайындықты тағайындайды.

Түйінді сөздер: қосалқы репродуктивті технологиялар (ҚРТ), фоллий алмасуы, MTHFR, MTR, MTRR, IVF/ICSI.

Введение. Производные фолиевой кислоты выполняют роль коферментов для ферментов, которые регулируют сложный метаболический процесс, известный как фолатный цикл. После всасывания в тонком кишечнике в виде фолат-моноглутамата, они претерпевают восстановление до активной биологической формы тетрагидрофолата.

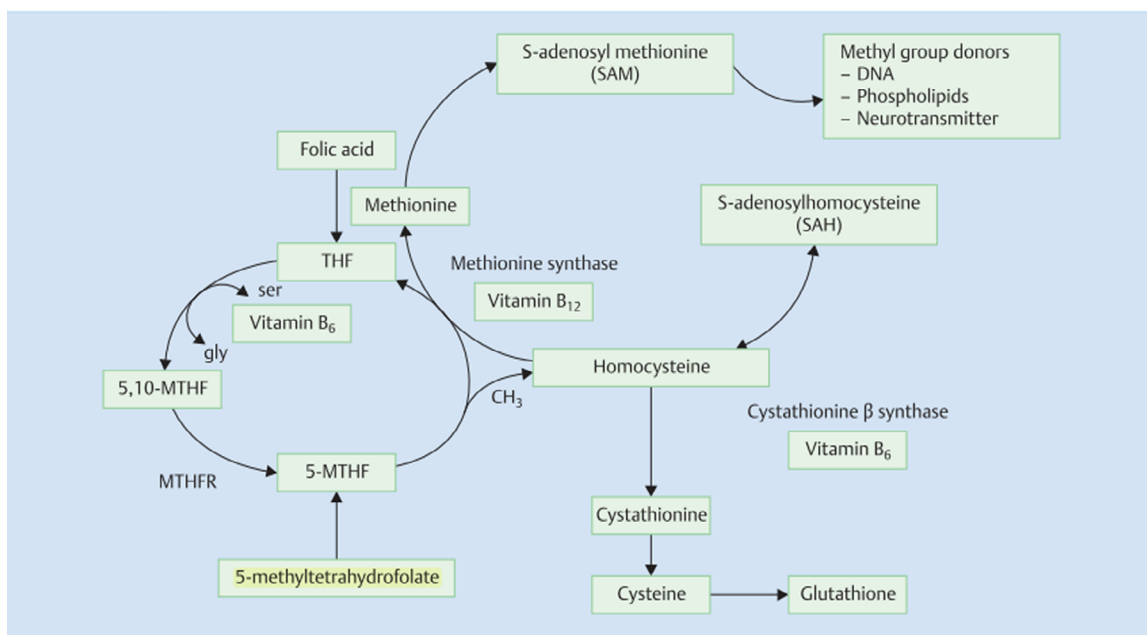
Тетрагидрофолат является ключевым коферментом во многих внутриклеточных реакциях. Он играет важную роль в синтезе пуринов, пиримидинового основания тимина, и конверсии метионина из гомоцистеина. Процесс реметилирования гомоцистеина в метионин катализируется цитоплазматическим ферментом метионин-синтазой (MTR), причастным к метилкобаламину (производному витамина B12). Для восстановления функции MTR происходит метилирование с участием фермента метионин-синтазы-редуктазы (MTRR). Основную роль в синтезе метионина из гомоцистеина выполняет фермент 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR), восстанавливающий 5,10-метилентетрагидрофолат до 5-метилтетрагидрофолата, несущего метильную группу, необходимую для реметилирования гомоцистеина [1], см. рисунок 1 [2].

Дефицит фолиевой кислоты приводит к повышению уровня гомоцистеина и нарушению метилирования ДНК.

В современной литературе обильно представлены данные о последствиях гипергомоцистеинемии для организма человека. Эти последствия охватывают широкий спектр — от увеличения риска сердечно-сосудистых заболеваний и атеросклероза [3] до возможных осложнений в виде невынашивания беременности и других проблем в период беременности [4].

Недостаток фолиевой кислоты может быть причиной врожденных дефектов развития у плода. Один из самых серьезных врожденных дефектов, связанных с недостатком фолиевой кислоты, — это дефекты нервной трубки (ДНТ). В Казахстане средняя частота встречаемости ДНТ у плодов составляет примерно 0,6%, и эти дефекты составляют 11% от общего числа случаев перинатальной смертности [5].

Полиморфизмы генов фолатного обмена. Дефекты в синтезе ферментов фолатного цикла, которые обеспечивают превращение фолиевой кислоты в ее активную форму, необходимую для превращения гомоцистеина в метионин.



Легенда: Folic acid - фолиевая кислота; THF - тетрагидрофуран; Vitamin B₆ - витамин B₆; MTHF - метилтетрагидрофолат; MTHFR - метилентетрагидрофолатредуктаза; Methionine - метионин; SAM - S-аденозил метионин; Vitamin B₁₂ - витамин B₁₂; Homocysteine - гомоцистеин; Cystathionine - цистатионин; Cysteine - цистеин; Methyl group donors: DNA, Phospholipids, Neurotransmitter - Доноры метильной группы: ДНК, фосфолипиды, нейромедиаторы; SAH - S-аденозилгомоцистеин; Glutathione - глутатион.

Рисунок 1 – Фолатный цикл (C.J. Thaler, 2014) [2]

Figure 1 – Folate cycle (C.J. Thaler, 2014) [2]

нин, могут также быть обусловлены генетическими факторами [1].

Ген MTHFR размещен на коротком плече хромосомы 1 (p36.3) и состоит из 11 экзонов. Наиболее изученной мутацией является C677T гена MTHFR, связанная с заменой цитозина на тимин в позиции 677. Эта мутация приводит к замене аланина на валин (p.Ala222Val) в каталитическом домене ферментного белка и вызывает снижение его активности на 70% у гомозиготных носителей данной мутации, и на 35% у гетерозиготных носителей. Гомозиготность по аллелю C677T значительно повышает уровень гомоцистеина, особенно при низком содержании фолата в крови. Снижение активности этого фермента является одной из ключевых причин накопления гомоцистеина в организме [2].

Ген MTRR находится на коротком плече хромосоме 5 p15.2–15 и содержит 15 экзонов. Ген MTR расположен на хромосоме 1 q43 и имеет 33 экзона. Существует полиморфизм A2756G; rs1805087 в экзоне 26 в позиции 2756 гена MTR, который приводит к замене аденина на гуанин [6].

Проведенные исследования выявили связь между генотипом MTHFR 677T/T и риском неопластических процессов [7]. Также вызывает значительный интерес среди исследователей связь между неблагоприятными аллелями генов фолатного обмена и различными нарушениями репродуктивной функции, такими как бесплодие [2], эффективность вспомогательных репродуктивных технологий [8], невынашивание беременности [4], а также, формирование врожденных дефектов плода [5].

Нарушение репродуктивной функции может быть обусловлено как воздействием повышенного уровня гомоцистеина, так и изменениями в процессах метилирования ДНК. Гипергомоцистеинемия приводит к системному нарушению функции эндотелия, что отражается на процессах имплантации и плацентации, что в свою очередь может привести к остановке развития беременности и другим акушерским осложнениям [3,9,10].

Не только генетический статус матери, но и генетический статус эмбриона может влиять на исход беременно-

сти. Исследование абортного материала показало, что риск самопроизвольного прерывания беременности увеличивается в 14 раз при наличии у эмбриона генотипа СТ или ТТ [11]. Это объясняется тем, что для нормального развития эмбриона необходима адекватная активность фермента MTHFR [12].

Вклад носительства неблагоприятных аллелей генов фолатного обмена в проблемы невынашивания беременности вызывает некоторые разногласия. Одно из исследований, проведенное отечественными учеными среди пациенток казахской популяции, сравнило частоту аллелей в генах MTHFR, MTRR и MTR у женщин с невынашиванием и у здоровых. Результаты показали, что доля нормальных аллелей в этих генах была схожей в обеих группах, и статистически значимой разницы в носительстве неблагоприятных полиморфизмов не было выявлено [13].

Ряд исследований посвящен влиянию генотипов 677TT и C677T у женщин с бесплодием на результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий. В различных этнических группах наблюдались расхождения в результатах. Например, у бразильских женщин, являющихся носительницами полиморфизмов C677T и A1298C, выявлена статистически значимая разница только в количестве полученных ооцитов, при этом частота оплодотворения и наступления беременности не различалась [14]. В китайской популяции обнаружено, что носители генотипа MTHFR 677TT имели более низкую частоту эмбрионов хорошего качества, кумулятивную частоту живорождения [15], а также более высокий базальный уровень ФСГ, высокие дозы гонадотропинов в контролируемой овуляции и меньшее количество ооцитов и зрелых ооцитов [16]. Тем не менее, в других исследованиях и мета-анализах статистически значимых различий в исходах вспомогательных репродуктивных технологий у носителей полиморфизмов в генах MTHFR (C677T), MTHFR (A1298C) и контрольной группы не было обнаружено [8,17,18].

Полиморфизмы в генах MTRR и MTR ассоциируются с мужским бесплодием [19]. На данный момент нами не

найденно публикаций, посвященных изучению воздействия неблагоприятных аллелей генов MTRR и MTR на женское бесплодие и результаты вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Однако аналогично воздействию на мужскую фертильность можно предположить, что наличие неблагоприятных аллелей в генах MTRR и MTR может оказывать влияние на репродуктивную систему женщины. Некоторые исследователи высказывают мнение, что проведение исследования этих однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) следует сделать обязательным перед началом программы ВРТ [20].

Таким образом, акцентирование внимания не только на полиморфизме метилентетрогидрофолатредуктазы (MTHFR C677T, MTHFR A1298C), но и на комплексном генотипировании по всем параметрам фолатного цикла и его компонентам представляет важность. Проведение диагностики с последующей персонализированной коррекцией выявленных изменений на стадиях подготовки к программе ВРТ и в период беременности имеет потенциал повысить эффективность экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и снизить риск осложнений в течение беременности [21]. Применение доз фолатов с учетом генотипов также может улучшить качество яйцеклеток и результаты ВРТ [22,23].

Наше исследование было направлено на определение распространенности полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR фолатного обмена у пациенток с бесплодием в казахской популяции и влияние носительства неблагоприятных генотипов на результативность программ ВРТ.

Цель исследования – определение влияния статуса носительства полиморфизмов в генах фолатного обмена на исходы программ ВРТ в казахской популяции.

Материалы и методы: Проведено ретроспективное исследование 132 пациенток казахской национальности, прошедших программу ЭКО/ИКСИ и перенос эмбрионов в МКЦР PERSONA с 2016 по 2022 гг.

Критерии включения: Принадлежность к казахской национальности по дедушкам и бабушкам по материнской и отцовской линии, неудачные программы ВРТ, проведение преимплантационного генетического тестирования анеуплоидии эмбрионов (ПГТ-А).

Критерии исключения: Нарушения сперматогенеза, эндометриоз по данным УЗИ и/или, носительство сбалансированных хромосомных аномалий по данным кариотипирования обоих супругов, донорская яйцеклетка, суррогатное материнство.

Все супружеские пары были обследованы согласно Приказу Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 15 декабря 2020 г. №172 «О внесении изменений и дополнений к Приказу МЗ РК от 30 октября 2009 г. №627 «Правила проведения вспомогательных репродуктивных методов и технологий» [24]. Программа ВРТ начиналась только при условии нормальных показателей общеклинического обследования и положительного заключения терапевта о возможности проведения ЭКО и переноса эмбриона (ПЭ).

ДНК выделяли из парафиновых блоков, полученных при гистологическом исследовании эндометрия пациенток с бесплодием, полученным путем гистероскопии или аспирационной биопсии. Выделение ДНК из парафиновых блоков проводилось набором Gene JET FFPE DNA Purification Kit согласно инструкции производителя в ТОО «TreeGene».

Определение полиморфизмов в генах MTHFR rs1801133 (C677T), rs1801131 (A1298C), MTR rs 1805087 (A2756G), MTRR rs1801394 (A66G) проводилось методом RT-PCR («ДНК технология», Россия).

Генетическое исследование проведено в лаборатории ТОО «TreeGene», г. Алматы.

С целью определения плоидности эмбрионов хромосомный микроматричный анализ методом сравнительной геномной гибридизации aCGH проводился в ТОО «Международный клинический центр репродуктологии PERSONA». Сканирование чипа проводилось на аппарате InnoScan 710 MicroarrayScanner с помощью программы Marix. Отсканированное изображение конвертировалось при помощи Feature Extraction for CytoGenomics.

Материалом исследования группы популяционного контроля послужила ДНК, которая представлена 198 условно здоровыми лицами казахской национальности, хранящаяся в биобанке ТОО «TreeGene».

Стимуляция яичников проводилась рекомбинантными и/или человеческими менопаузальными гонадотропинами со 2-3 дня менструального цикла, пик ЛГ блокировался агонистами или антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), прогестероном. Финальное созревание ооцитов запускалось при наличии 3 и более лидирующих фолликулов диаметром 17 мм и более хорионическим гонадотропином, мочевым или рекомбинантным, и/или агонистом ГнРГ за 34-38 часов до забора яйцеклеток. Пункция яичников и забор фолликулярной жидкости проводилась под контролем трансвагинального УЗИ в местах наилучшего доступа к яичникам через боковые своды влагалища.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 4.0.7 (разработчик - ООО "Статтех", Россия), Jamovi 1.8.1.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Современные пакеты статистического анализа MS Excel на PC использовались для проведения анализа вычислений. Среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение ($\pm SD$) рассчитывались для количественных показателей, данные представлялись в виде $M \pm SD$. Двусторонний t-критерий Стьюдента использовался при сравнении средних значений. Абсолютными (n) и относительными (%) значениями описаны качественные переменные. Критерий χ^2 использовался для сравнения частот и качественных переменных.

Для исследования вклада факторов риска применялась бинарная и множественная логистическая регрессия и ANOVA Крускала-Уоллиса при непараметрическом распределении с различными зависимыми и независимыми переменными.

Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался за 0,05. Значение $0,05 < p < 0,09$ принималось в качестве «тенденции к значимости».

Основные контрольные показатели:

1) количество дней стимуляции, суммарная доза ФСГ, количество фолликулов;

2) количество извлеченных ооцитов, количество зрелых ооцитов, количество оплодотворенных ооцитов, количество эмбрионов на 5-й или 6-й день, частота анеуплоидии.

Частота анеуплоидии = количество анеуплоидных эмбрионов/количество отбиопсированных бластоцист *100%.

Результаты: В исследование было отобрано 135 пациенток казахской национальности до дедушек и бабушек, прошедших процедуру ЭКО/ИКСИ и ПЭ. При выделении ДНК не был получен материал, пригодный для исследования, в результате 3 пациентки были исключены. В итоге когорта составила 132 женщин казахской национальности с бесплодием. Основные характеристики пациенток представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика пациенток

Table 1 – Characteristics of the patients

Показатели	M ± SD / Me	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	min	max
Возраст, Ме	36	30 – 41	24	44
Рост, Ме	160	2 – 166	1	180
Вес, Ме	60	55 – 65	45	90
ИМТ, Ме	22	20 – 24	18	31
Длительность бесплодия, лет, Ме	3	1 – 5	0	16
Кол-во беремен-й, Ме	2	1 – 4	0	8
Кол-во родов, Ме	0	0 – 2	0	3
Кол-во аборт, Ме	0	0 – 0	0	4
Кол-во невынашивания, Ме	1	0 – 1	0	5

Количество программ ЭКО/ИКСИ и ПЭ в анамнезе составило от 1 до 9, в среднем $2 \pm 1,5$. У 56,82% пациенток ($n=75$) в анамнезе было от 2 до 7 неудачных переноса эмбрионов хорошего морфологического качества ($\geq 3AB$ по Гарднеру). У 28,03% пациенток ($n=37$) в результате 1-5 программ ЭКО/ИКСИ не было эмбрионов хорошего морфологического качества.

Анализ проведенных программ ВРТ показал, что более половины всех протоколов стимуляции яичников составил протокол с антагонистами ГнРГ (59,1%), на втором

месте по частоте был протокол с прогестинным праймингом (27,27%), короткий протокол с агонистами ГнРГ применялся в 6,82% программ, длинный протокол в 4,54% программ и малые стимуляции были использованы в 2,27% случаев.

В 45,45% программ использовался двойной триггер финального созревания ооцитов (ХГЧ+агонист ГнРГ).

В таблице 2 представлены результаты генотипирования по 4 генам фолатного обмена основной группы и группы популяционного контроля.

Таблица 2 – Частоты аллелей и генотипов полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR в казахской популяции

Table 2 – Frequencies of alleles and genotypes of polymorphisms rs1801133 and rs1801131 of the MTHFR gene, rs 1805087 of the MTR gene, rs1801394 of the MTRR gene in the Kazakh population

Ген (SNP)	Генотипы	Основная группа, $n=132$		Контрольная группа		X ²	p-Value
		n	%	n	%		
MTHFR rs 1801131 1298 A>C	A/A	73	55,3	179	55,2	0,537	0,464
	A/C	55	41,67	119	38,4	0,219	0,646
	C/C	4	3,03	5	6,4	0,864	0,353
	Всего	132	100	303	100		
	A*	73	55,3	179	59,07	0,537	0,464
	C**	59	44,69	124	40,93	0,537	0,464
MTHFR rs 1801133 677 C>T	C/C	72	54,54	110	55,5	0,014	0,905
	C/T	54	40,9	74	37,4	0,417	0,519
	T/T	6	4,54	14	7,1	0,887	0,347
	Всего	132	100	198	100		
	C*	72	54,5	110	55,5	0,014	0,905
	T**	60	45,5	88	45,5	0,014	0,905
MTR rs 1805087 275 A>G	A/A	102	77,3	119	60,1	10,558	0,002
	A/G	27	20,4	71	35,9	9,001	0,003
	G/G	3	2,3	8	4,0	0,768	0,381
	Всего	132	132	198	100		
	A*	102	77,3	119	60,1	10,558	0,002
	G**	30	22,7	79	39,9	10,558	0,002
MTRR rs 1801394 66 A>G	A/A	45	30,09	64	32,3	0,112	0,739
	A/G	66	50	91	46,0	0,518	0,472
	G/G	21	15,91	43	21,7	1,709	0,192
	Всего	132	100	198	100		
	A*	45	30,09	64	32,3	0,112	0,739
	G**	87	65,91	134	67,7	0,112	0,739

* - в гомозиготных формах

** - в гомо- и гетерозиготных формах

Как видно из таблицы 2, статистически значимая разница в распределении частот аллелей и генотипов полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR не была выявлена. Для rs 1805087 гена MTR была выявлена статистически значимая большая частота встречаемости «дикого» аллеля, $p=0,002$.

Несмотря на то, что достоверной статистической разницы в распределении частот аллелей и генотипов полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR в группах не было вы-

явлено, анализ показал, что носителями гомозиготного варианта по «дикому» аллелю всех генов было всего 11 женщин.

Результативность программ ВРТ

Дисперсионный анализ показал, что носительство неблагоприятных аллелей и генотипов полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR ассоциировано с анамнестическими данными и исходами ВРТ, данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Дисперсионный анализ ассоциации носительства неблагоприятных аллелей и генотипов полиморфизмов генов фолатного обмена ассоциировано с анамнестическими данными и исходами ВРТ

Table 3 – Analysis of variance of the association of carriage of unfavorable alleles and genotypes of polymorphisms of folate metabolism genes associated with anamnestic data and ART outcomes

	MTHFR 677C>T*	MTHFR 1298A>C*	MTRR 66A>G*	MTR 275A>G*
Количество программ ВРТ	0.002	0.671	0.147	0.033
Количество пункций	<0.001	0.250	0.132	0.097
Переносов хор эмбрионов	0.955	0.789	0.078	0.432
длительность бесплодия. лет	0.884	0.697	0.029	0.010
кол-во беремен-й	0.449	0.697	0.798	0.001
кол-во замер, выкиды	0.106	0.105	0.006	0.005
АМГ	0.051	0.941	0.113	0.422
CD138	0.063	0.774	0.060	0.349
Стимуляция, дней	0.032	0.076	0.645	0.692
суммарный ФСГ	0.641	0.052	0.001	0.484
Кол-во отпункт.фолликулов	0.123	0.644	0.044	0.006
Кол-во пол ооц	0.122	0.995	0.063	0.004
Зрелых (МII)	0.058	0.404	0.072	0.002
Число оплодотворенных ооцитов	0.109	0.465	0.102	0.017
Кол-во бластоцист	0.012	0.153	0.328	0.005
Частота анеуплоидии	0.374	0.151	0.013	0.819

*- представлена p-Value One-Way ANOVA (Non-parametric)

Как видно из таблицы 3, носительство аллелей C/T и T/T гена MTHFR 677C>T статистически значимо ассоциировано с большим количеством программ ВРТ и пункций яичников, дней стимуляции и меньшим количеством полученных бластоцист. Тенденция к статистической значимости наблюдалась с более низким уровне АМГ, более выраженном хроническом эндометрите и меньшем количестве зрелых яйцеклеток у носителей аллелей C/T и T/T гена MTHFR 677C>T.

Ассоциация носительства аллелей A/C и C/C гена MTHFR 1298A>C с длительностью стимуляции яичников и суммарной дозой гонадотропинов имеет тенденцию к статистической значимости.

Носительство аллелей A/G и G/G гена MTRR 66A>G статистически значимо ассоциировано с большим количеством программ ВРТ, с длительностью бесплодия, количеством потерь беременностей, суммарной дозой экзогенного ФСГ, количеством отпунктированных фолликулов, частотой анеуплоидии эмбрионов.

Носительство аллелей A/G и G/G гена MTR 275A>G статистически значимо ассоциировано с большим количеством программ ВРТ, длительностью бесплодия, количеством беременностей, количеством неразвивающихся

беременностей/выкидышей, количеством отпунктированных фолликулов, количеством полученных ооцитов, количеством зрелых ооцитов, частотой оплодотворения, количеством бластоцист.

Обсуждение: Регрессионный анализ показал, что вклад носительства аллелей и генотипов полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR в количество дней стимуляции и суммарную дозу ФСГ, использованную при овариальной стимуляции, составил 5-6%.

Интересным является факт ассоциации с тенденцией к статистической значимости генов MTHFR 677C>T и MTRR 66A>G и выраженности экспрессии CD 138- маркера хронического эндометрита. Khalighi K. et al (2018) впервые обнаружили, что варианты гена MTHFR 677 могут быть связаны с повышенным уровнем NLR, и системное воспаление может играть ключевую роль в развитии заболеваний, связанных с полиморфизмом C677T MTHFR [25].

Механизм развития системного воспаления в результате полиморфизма MTHFR C677T пока не до конца ясен. Гипергомоцистеинемия и гипометилирование ДНК при полиморфизме C677T MTHFR могут быть двумя потен-

циальными факторами, способствующими системному воспалению у пациентов с вариантами гена MTHFR. Исследования показали, что гомоцистеин сильно коррелирует с уровнем С4, CRP и IgM в сыворотке [26], и также что гипометилирование ДНК некоторых генов играет важную роль в воспалительных процессах [27].

Таким образом, можно предположить, что гипергомоцистеинемия и/или гипометилирование ДНК могут способствовать развитию системного воспаления у пациентов с вариантами MTHFR C677T, делая системное воспаление более значимым фактором в патогенезе заболеваний, связанных с полиморфизмом MTHFR C677T. Так же исследование Khalighi K. et al (2018) показало, что варианты MTHFR 1298 оказывают противоположное воздействие на системное воспаление по сравнению с вариантами MTHFR677[25]. Наше исследование также не выявило ассоциации MTHFR 1298 с маркером хронического эндометрита.

Возможно, нами не выявлена ассоциация полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR с количеством полученных ооцитов, в отличие от rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR, по причине назначения препаратов фолиевой кислоты всем пациенткам в качестве стандартной предгравидарной подготовки, что согласуется с данными C. J. Thaler, 2014 г, который в своих исследованиях получил повышение числа ооцитов на 20% при увеличении суточной дозы фолиевой кислоты до 800 мкг у носителей неблагоприятных аллелей [2]. Добавление препаратов витамина B12 не входит в стандартную подготовку

к беременности, и поэтому у носителей неблагоприятных полиморфизмов генов MTR и MTRR могло реализоваться их неблагоприятное влияние, что и продемонстрировало наше исследование.

Таким образом, частота носительства неблагоприятных аллелей и генотипов полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR у женщин с бесплодием казахской популяции не отличается от общей популяции. Вместе с тем, ассоциировано с различными неблагоприятными исходами программ ВРТ в различных этнических группах, включая казахскую. Имеются данные, что повышение суточной дозы фолатов и снижение гипергомоцистеинемии положительно влияют на количество получаемых яйцеклеток и уровень эстрадиола на старте программы ВРТ.

Заключение: Наше исследование показало, что 91% пациенток с бесплодием являются носителями того или иного неблагоприятного аллеля и генотипа полиморфизмов rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR. Учитывая влияние носительства неблагоприятных полиморфизмов генов фолатного обмена на исходы ВРТ, можно рекомендовать женщинам, имеющим в анамнезе неудачные попытки ЭКО, отсутствие эмбрионов хорошего качества, блоки развития эмбрионов, отсутствие зуплоидных эмбрионов, проводить генотипирование на rs1801133 и rs1801131 гена MTHFR, rs 1805087 гена MTR, rs1801394 гена MTRR и назначать персонифицированную предгравидарную подготовку перед следующей программой ВРТ с учетом генотипов.

ЛИТЕРАТУРА

- Larina T, Suprun S. Folate cycle: pathogenetic mechanisms of pregnancy complications // *Bull Physiol Pathol Respir.* – 2018. – Vol. 1(70). – P. 113-120. <http://naukaru.ru/en/nauka/article/24381/view>
- Thaler CJ. Folate metabolism and human reproduction // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2014. – Vol. 74(9). – P. 845–851. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1383058>
- Yuan D, Chu J, Lin H, Zhu G, Qian J, Yu Y, Yao T, Ping F, Chen F, Liu X. // Mechanism of homocysteine-mediated endothelial injury and its consequences for atherosclerosis // *Front Cardiovasc Med.* – 2023. – Vol. 9. – P. 1-12. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1109445>
- Dai C, Fei Y, Li J, Shi Y, Yang X. A Novel Review of Homocysteine and Pregnancy Complications // *Biomed Res Int.* – 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6652231>
- Святлова Г, Махмутова З. Популяционно-генетический анализ полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы при дефектах невральной трубки в казахской популяции. – 2008. – С. 156. ISBN: 978-601-7048-06-8. [Svlatova G, Mahmutova Z. Svlatova G, Mahmutova Z. Populacionno-geneticheskij analiz polimorfizma gena metilentetragidrofolatreduktazy pri defektah nevrальной trubki v kazahskoj populjacii. – 2008. – S. 156. ISBN: 978-601-7048-06-8. (in Russ.)] <https://webirbis.qmu.kz/lib/document/BOOK/D483DA00-422F-4612-90ED-0C3AD7839926/>
- Karimian M, Hosseinzadeh Colagar A. Methionine synthase A2756G transition might be a risk factor for male infertility: Evidences from seven case-control studies // *Mol. Cell Endocrinol.* – 2016. – Vol. 425. – P. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.02.012>
- Gonzales MC, Yu P, Shiao SPK. MTHFR Gene Polymorphism-Mutations and Air Pollution as Risk Factors for Breast Cancer: A Metaprediction Study // *Nurs. Res.* – 2017. – Vol. 66(2). – P. 152-163. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000206>
- Tan X, Yu Zh, Sao J, Chen L, Shen Y, Ding J, Shi W. Association between in vitro fertilization outcomes and inherited thrombophilias: a meta-analysis // *J. Assist. Reprod Genet.* – 2016. – Vol. 33(8). – P. 1093-1098. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-016-0726-0>
- Murto T, Kallak TK, Hoas A, Altmäe S, Salumets A, Nilsson TK, Svanberg AS, Wånggren K, Yngve A, Stavreus-Evers A. Folic acid supplementation and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene variations in relation to in vitro fertilization pregnancy outcome // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2015. – Vol. 94(1). – P. 65-71. <https://doi.org/10.1111/aogs.12522>
- Reyes-Engel A, Muñoz E, Gaitan MJ, Fabre E, Gallo M, Dieguez JL, Ruiz M., Morell M. Implications of human fertility of the 677C→T and 1298A→C polymorphisms of the MTHFR gene: Consequences of a possible genetic selection // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 8(10). – P. 952–7. <https://doi.org/10.1093/molehr/8.10.952>
- Isotalo PA, Wells GA, Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: An examination of C677T and A1298C mutations // *Am. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 67(4). – P. 986-990. <https://doi.org/10.1086/303082>
- Ishitani H, Ikeda Sh, Egashira K, Sugimoto M, Kume Sh, Minami N, Ohta T. Embryonic MTHFR contributes to blastocyst development // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2020. – Vol. 37(8). – P. 1807-1814. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01898-0>
- Kalimagambetov AM, Mukhamediyarova SK, Bekimbek AT, Rakisheva ZB, Belousov VY, Solomadin MV, K.A. Sadueva. Association of folate cycle polymorphic genes with pregnancy complications in women of the Kazakh ethnic group // *Exp. Biol.* – 2020. – Vol. 82(1). – P. 110–9. <https://bb.kaznu.kz/index.php/biology/article/view/1477>

14. D'Elia PQ, dos Santos AA, Bianco B, Barbosa CP, Christofolini DM, Aoki T. MTHFR polymorphisms C677T and A1298C and associations with IVF outcomes in Brazilian women // *Reprod. Biomed. Online*. – 2014. – Vol. 28(6). – P. 733-738. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.02.005>
15. Zeng H, Liu Z, Zhang L, Liu N. MTHFR 677TT is associated with decreased number of embryos and cumulative live birth rate in patients undergoing GnRHa short protocol: a retrospective study // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2022. – Vol. 22(1). – P. 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04506-4>
16. Zeng Sh, Wang X, Wang Y, Xu Zh, Zhang J, Liu W, Qian L, Chen X, Wei J, Yang X, Gong Zh, Yan Y. MTHFR C677T polymorphism is associated with follicle-stimulating hormone levels and controlled ovarian hyperstimulation response: a retrospective study from the clinical database // *Fertil. Steril*. – 2019. – Vol. 111(5). – P. 982-990.e2. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.01.016>
17. Boudjenah R, Molina-Gomes D, Torre A, Bergere M, Bailly M, Boitrelle F, Taieb S, Wainer R, Benahmed M, De Mazancourt P, Selva J, Vialard F. Genetic Polymorphisms Influence the Ovarian Response to rFSH Stimulation in Patients Undergoing In Vitro Fertilization Programs with ICSI. *Lobaccaro J-MA*, editor // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7(6). – P. e38700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038700>
18. Dobson AT, Davis RM, Rosen MP, Shen S, Rinaudo PF, Chan J, Cedars MI. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C variants do not affect ongoing pregnancy rates following IVF. *Hum Reprod*. – 2006. – Vol. 22(2). – P. 450-456. <https://doi.org/10.1093/humrep/del396>
19. Zheng-Jua R, Yan-Ping Zh, Peng-Wei R, Bo Y, Shi D, Zhu-Feng P, Liang-Ren L, WuRan W, Qiang D. Contribution of MTR A2756G polymorphism and MTRR A66G polymorphism to the risk of idiopathic male infertility Systematic Review and Meta-Analysis *Medicine* ® OPEN 1 // *China Sci. Technol. J. Database*. – 2019. <http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000018273>
20. Ivanov AV., Dedul AG, Fedotov YN, Komlichenko EV. Toward optimal set of single nucleotide polymorphism investigation before IVF // *Gynecol Endocrinol*. – 2016. – Vol. 32. – P. 11-18. <https://doi.org/10.1080/09513590.2016.1232793>
21. Jarrett H, McNulty H, Hughes CF, Pentieva K, Strain JJ, McCann A, McAnena L, Cunningham C, Molloy AM, Flynn A, Hopkins SM, Horigan G, O'Connor C, Walton J, McNulty BA, Gibney MJ, Lamers Y, Ward M. Vitamin B-6 and riboflavin, their metabolic interaction, and relationship with MTHFR genotype in adults aged 18–102 years // *Am. J. Clin. Nutr*. – 2022. – Vol. 116(6). – P. 1767-1778. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac240>
22. Pavlik R, Hecht S, Noss U, Soldin OP, Mendu RD, Soldin SJ, Lohse P, Thaler CJ. Reduced Steroid Synthesis in the Follicular Fluid of MTHFR 677TT Mutation Carriers: Effects of Increased Folic Acid Administration // *Geburtshilfe Frauenheilkd*. – 2022. – Vol. 82(10). – P. 1074-1081. <https://doi.org/10.1055/a-1791-9358>
23. Dattilo M, Giuseppe D, Ettore C, Ménéz Y. Improvement of gamete quality by stimulating and feeding the endogenous antioxidant system: mechanisms, clinical results, insights on gene-environment interactions and the role of diet // *J. Assist. Reprod. Genet*. – 2016. – Vol. 33(12). – P. 1663-1648. <http://link.springer.com/10.1007/s10815-016-0767-4>
24. Приказ Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 15 декабря 2020 №172 «О внесении изменений и дополнений к Приказу МЗ РК от 30 октября 2009 №627 «Правила проведения вспомогательных репродуктивных методов и технологий». [Prikaz Ministerstva zdavoohranenija Respubliki Kazahstan ot 15 dekabrja 2020 №172 «O vnesenii izmenenij i dopolnenij k Prikazu MZ RK ot 30 oktjabrja 2009 №627 «Pravila provedenija vspomogatel'nyh reproduktivnyh metodov i tehnologij». (in Russ.)] https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=38985208
25. Khalighi K, Cheng G, Mirabbasi S, Khalighi B, Wu Y, Fan W. Opposite impact of Methylene tetrahydrofolate reductase C677T and Methylene tetrahydrofolate reductase A1298C gene polymorphisms on systemic inflammation // *J. Clin. Lab. Anal*. – 2018. – Vol. 32(5). – P. e22401. <https://doi.org/10.1002/jcla.22401>
26. Li T, Chen Y, Li J, Yang X, Zhang H, Qin X, Hu Y, Mo Z. Serum homocysteine concentration is significantly associated with inflammatory/immune factors // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10. – P. e0138099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138099>
27. Bayarsaihan D. Epigenetic mechanisms in inflammation // *J. Dent. Res*. – 2011. – Vol. 90. – P. 9-17. <https://doi.org/10.1177/0022034510378683>

REFERENCES

1. Larina T, Suprun S. Folate cycle: pathogenetic mechanisms of pregnancy complications. *Bull Physiol Pathol Respir*. 2018;1(70):113-120. <http://naukaru.ru/en/nauka/article/24381/view>
2. Thaler CJ. Folate metabolism and human reproduction. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2014;74(9):845-51. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1383058>
3. Yuan D, Chu J, Lin H, Zhu G, Qian J, Yu Y, Yao T, Ping F, Chen F, Liu X. Mechanism of homocysteine-mediated endothelial injury and its consequences for atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*. 2023;9:1-12. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1109445>
4. Dai C, Fei Y, Li J, Shi Y, Yang X. A Novel Review of Homocysteine and Pregnancy Complications. *Biomed Res Int*. 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6652231>
5. Святлова Г, МахмUTOва З. Популяционно-генетический анализ полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы при дефектах нервной трубки в казахской популяции. 2008;156. ISBN:978-601-7048-06-8. Svyatova G, Mahmutova Z. Population-genetic analysis of polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in neural tube defects in the Kazakh population. 2008;156. ISBN:978-601-7048-06-8. (in Russ.) <https://webirbis.qmu.kz/lib/document/BOOK/D483DA00-422F-4612-90ED-0C3AD7839926/>
6. Karimian M, Hosseinzadeh Colagar A. Methionine synthase A2756G transition might be a risk factor for male infertility: Evidences from seven case-control studies. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;425:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.02.012>
7. Gonzales MC, Yu P, Shiao SPK. MTHFR Gene Polymorphism-Mutations and Air Pollution as Risk Factors for Breast Cancer: A Metaprediction Study. *Nurs Res*. 2017;66(2):152-163. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000206>
8. Tan X, Yu Zh, Sao J, Chen L, Shen Y, Ding J, Shi W. Association between in vitro fertilization outcomes and inherited thrombophilias: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(8):1093-1098. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-016-0726-0>

9. Murto T, Kallak TK, Hoas A, Altmäe S, Salumets A, Nilsson TK, Svanberg AS, Wånggren K, Yngve A, Stavreus-Evers A. Folic acid supplementation and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene variations in relation to in vitro fertilization pregnancy outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015;94(1):65-71.
<https://doi.org/10.1111/aogs.12522>
10. Reyes-Engel A, Muñoz E, Gaitan MJ, Fabre E, Gallo M, Dieguez JL, Ruiz M., Morell M. Implications of human fertility of the 677C→T and 1298A→C polymorphisms of the MTHFR gene: Consequences of a possible genetic selection. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(10):952-7.
<https://doi.org/10.1093/molehr/8.10.952>
11. Isotalo PA, Wells GA, Donnelly JG. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: An examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet.* 2000;67(4):986-990.
<https://doi.org/10.1086/303082>
12. Ishitani H, Ikeda Sh, Egashira K, Sugimoto M, Kume Sh, Minami N, Ohta T. Embryonic MTHFR contributes to blastocyst development. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(8):1807-1814.
<https://doi.org/10.1007/s10815-020-01898-0>
13. Kalimagambetov AM, Mukhamediyarova SK, Bekimbek AT, Rakisheva ZB, Belousov VY, Solomadin MV, K.A. Sadueva. Association of folate cycle polymorphic genes with pregnancy complications in women of the Kazakh ethnic group. *Exp Biol.* 2020;82(1):110-9. Available from: <https://bb.kaznu.kz/index.php/biology/article/view/1477>
14. D'Elia PQ, dos Santos AA, Bianco B, Barbosa CP, Christofolini DM, Aoki T. MTHFR polymorphisms C677T and A1298C and associations with IVF outcomes in Brazilian women. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(6):733-738.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.02.005>
15. Zeng H, Liu Z, Zhang L, Liu N. MTHFR 677TT is associated with decreased number of embryos and cumulative live birth rate in patients undergoing GnRHa short protocol: a retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022;22(1):1-13.
<https://doi.org/10.1186/s12884-022-04506-4>
16. Zeng Sh, Wang X, Wang Y, Xu Zh, Zhang J, Liu W, Qian L, Chen X, Wei J, Yang X, Gong Zh, Yan Y. MTHFR C677T polymorphism is associated with follicle-stimulating hormone levels and controlled ovarian hyperstimulation response: a retrospective study from the clinical database. *Fertil Steril.* 2019;111(5):982-990.e2.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.01.016>
17. Boudjenah R, Molina-Gomes D, Torre A, Bergere M, Bailly M, Boitrelle F, Taieb S, Wainer R, Benahmed M, De Mazancourt P, Selva J, Vialard F. Genetic Polymorphisms Influence the Ovarian Response to rFSH Stimulation in Patients Undergoing In Vitro Fertilization Programs with ICSI. Lobaccaro J-MA, editor. *PLoS One.* 2012;7(6):e38700.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038700>
18. Dobson AT, Davis RM, Rosen MP, Shen S, Rinaudo PF, Chan J, Cedars MI. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C variants do not affect ongoing pregnancy rates following IVF. *Hum Reprod.* 2006;22(2):450-456.
<https://doi.org/10.1093/humrep/del396>
19. Zheng-Jua R, Yan-Ping Zh, Peng-Wei R, Bo Y, Shi D, Zhu-Feng P, Liang-Ren L, WuRan W, Qiang D. Contribution of MTR A2756G polymorphism and MTRR A66G polymorphism to the risk of idiopathic male infertility Systematic Review and Meta-Analysis Medicine ® OPEN 1. *China Sci Technol J Database.* 2019;
<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000018273>
20. Ivanov AV., Dedul AG, Fedotov YN, Komlichenko EV. Toward optimal set of single nucleotide polymorphism investigation before IVF. *Gynecol Endocrinol.* 2016;32:11-18.
<https://doi.org/10.1080/09513590.2016.1232793>
21. Jarrett H, McNulty H, Hughes CF, Pentieva K, Strain JJ, McCann A, McAnena L, Cunningham C, Molloy AM, Flynn A, Hopkins SM, Horgan G, O'Connor C, Walton J, McNulty BA, Gibney MJ, Lamers Y, Ward M. Vitamin B-6 and riboflavin, their metabolic interaction, and relationship with MTHFR genotype in adults aged 18–102 years. *Am J Clin Nutr.* 2022;116(6):1767-1778.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac240>
22. Pavlik R, Hecht S, Noss U, Soldin OP, Mendu RD, Soldin SJ, Lohse P, Thaler CJ. Reduced Steroid Synthesis in the Follicular Fluid of MTHFR 677TT Mutation Carriers: Effects of Increased Folic Acid Administration. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2022;82(10):1074-1081.
<https://doi.org/10.1055/a-1791-9358>
23. Dattilo M, Giuseppe D, Ettore C, Ménéz Y. Improvement of gamete quality by stimulating and feeding the endogenous antioxidant system: mechanisms, clinical results, insights on gene-environment interactions and the role of diet. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(12):1633-1648.
<http://link.springer.com/10.1007/s10815-016-0767-4>
24. Приказ Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 15 декабря 2020 №172 «О внесении изменений и дополнений к Приказу МЗ РК от 30 октября 2009 №627 «Правила проведения вспомогательных репродуктивных методов и технологий». Order of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan dated December 15, 2020 No. 172 "On Amendments and Additions to the Order of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan dated October 30, 2009 No. 627 "Rules for assisted reproductive methods and technologies". (in Russ.)
https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=38985208
25. Khalighi K, Cheng G, Mirabbasi S, Khalighi B, Wu Y, Fan W. Opposite impact of Methylene tetrahydrofolate reductase C677T and Methylene tetrahydrofolate reductase A1298C gene polymorphisms on systemic inflammation. *J Clin Lab Anal.* 2018;32(5):e22401.
<https://doi.org/10.1002/jcla.22401>
26. Li T, Chen Y, Li J, Yang X, Zhang H, Qin X, Hu Y, Mo Z. Serum homocysteine concentration is significantly associated with inflammatory/immune factors. *PLoS ONE.* 2015;10:e0138099.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138099>
27. Bayarsaihan D. Epigenetic mechanisms in inflammation. *J Dent Res.* 2011;90:9-17.
<https://doi.org/10.1177/0022034510378683>

Данные авторов:

Рыбина А.Н. (корреспондирующий автор) – Репродуктолог, акушер-гинеколог ТОО «Международный клинический центр репродуктологии PERSONA», Алматы, Республика Казахстан, тел. 87772636715, e-mail: oedema@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9368-66837>;

Adrian Ellenbogen – MD, PhD, профессор, основатель подразделения ЭКО, Hillel Yaffe Medical Center, Хадера, Израиль; тел. +972506246722, e-mail: ellenbogen55@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7981-7985>;

Мукушкина Д.Д. – PhD, заведующий лабораторией ТОО «TreeGene», Алматы, Республика Казахстан, тел. 87071243797, e-mail: dina@tree-gene.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9506-3378>;

Карибаева Ш.К. – к.м.н., доцент, репродуктолог, акушер-гинеколог, директор по стратегическому развитию ТОО «Международный клинический центр репродуктологии PERSONA», Алматы, Республика Казахстан, тел. 877017550675, e-mail: sh.karibaeva@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5691-8652>;

Валиев Р.К. – к.м.н., репродуктолог, акушер-гинеколог, ТОО «Международный клинический центр репродуктологии PERSONA», Алматы, Республика Казахстан, тел. 87772258189, e-mail: rvaliev75@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-42917>.

Адрес для корреспонденции: А.Н. Рыбина, ТОО «Международный клинический центр репродуктологии PERSONA», Республика Казахстан, Алматы, Утепова 32А.

Вклады авторов:

вклад в концепцию – Рыбина А.Н.

научный дизайн – Рыбина А.Н., Мукушкина Д.Д.

исполнение заявленного научного исследования – Рыбина А.Н., Мукушкина Д.Д.

интерпретация заявленного научного исследования – Рыбина А.Н., Мукушкина Д.Д., Карибаева Ш.К., Валиев Р.К.

создание научной статьи – Рыбина А.Н., Мукушкина Д.Д., Карибаева Ш.К., Валиев Р.К.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования: Авторы несут полную ответственность за содержание данной статьи.

Authors' data:

Rybina A.N. (corresponding author) – Reproductologist, obstetrician-gynecologist, «International Clinical Center for Reproductology «PERSONA»» LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan, tel. 87772636715, e-mail: oedema@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9368-66837>;

Adrian Ellenbogen – MD, PhD, professor, founder of the IVF unit, Hillel Yaffe Medical Center, Hadera, Israel; tel. +972506246722, e-mail: ellenbogen55@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7981-7985>;

Mukushkina D.D. – PhD, Head of the laboratory, «TreeGene» LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan, tel. 87071243797, e-mail: dina@tree-gene.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9506-3378>;

Karibayeva Sh.K. – PhD, Associate Professor, Reproductologist, obstetrician-gynecologist, Director for Strategic Development, «International Clinical Center for Reproductology «PERSONA»» LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan, tel. 877017550675, e-mail: sh.karibaeva@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5691-8652>;

Valiev R.K. – Candidate of Medical Sciences, Reproductologist, obstetrician-gynecologist, «International Clinical Center for Reproductology «PERSONA»» LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan, tel. 87772258189, e-mail: rvaliev75@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-42917>.

Address for correspondence: Rybina A.N., «International Clinical Center for Reproductology «PERSONA»» LLP, the Republic of Kazakhstan, Almaty, Utepov str. 32A.

Authors' input:

contribution to the study concept – Rybina A.N.

study design – Rybina A.N., Mukushkina D.D., Ellenbogen A.

execution of the study – Rybina A.N., Mukushkina D.D.

interpretation of the study – Rybina A.N., Mukushkina D.D., Karibayeva Sh.K., Valiev R.K.

preparation of the manuscript – Rybina A.N., Mukushkina D.D., Karibayeva Sh.K., Valiev R.K.

Funding: Authors declare no funding of the study.

Conflict of interest: Authors declare no conflict of interest.

Transparency of the study: Authors take full responsibility for the content of this manuscript.