

Майчук В.О.

**SPINA BIFIDA У ДЕТЕЙ ОТ МНОГОПЛОДНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ: ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ
ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И РЕАЛИЗАЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА**

*Кафедра Педиатрии №1, Неонатологии и Биоэтики,
Одесский Национальный Медицинский Университет, Одесса, Украина*

SUMMARY

**SPINA BIFIDA IN CHILDREN OF MULTIPLE PREGNANCY: POLYMORPHISMS IN GENES
OF FOLATE CYCLE AND THE IMPLEMENTATION OF THE ACTION OF EXOGENOUS RISK FACTORS**

Keywords. *Congenital neural tube defects, spina bifida, multiple pregnancy, gene polymorphism, folic acid.*

Introduction. *Congenital malformations of the central nervous system account for about 25% of all defects and cause psychomotor retardation and pronounced neurological deficits in children. The etiology of congenital neural tube defects remains unexplored until the end. The key role of folic acid in the genesis of neural tube defects is proved.*

Objective. *To study the molecular genetic markers of violation of folate cycle and exogenous risk factors in children with spina bifida from multiple pregnancies and their siblings.*

Materials and methods. *A clinical and laboratory analysis of two cases of the open form of spina bifida in children of multiple births was carried out at the Odessa Regional Children's Hospital. To identify the etiology of the disease, clarify the mechanism of inheritance and determine the cause of discordance of the twins used genealogical, genetic, molecular and twin methods. Polymorphisms of MTHFR were investigated. To determine the metabolic disorders biochemical method (for the definition of folate levels and homocysteine in the blood) and clinical examination methods were used in children with spina bifida, as well as their mothers and siblings.*

Results. *Presented clinical cases confirmed NTD belonging to the group of polygenic inherited disease with the alleged maternal inheritance mechanism. In both cases, the impact of environmental factors related to the proven risk factors for the various types of NTD of the fetus is realized: weighed down gynecological and obstetric history of mothers (cases of spontaneous abortions taking oral contraceptives, unbalanced diet and lack of vitamins, especially folic acid and B12), SARS, hyperthermia in the first trimester of pregnancy, smoking during pregnancy, tumors of the female reproductive system and breast cancer. Multiple pregnancy can be identified as an individual risk factor for NTD. In the first case study of polymorphisms C677T and A1298C gene MTHFR did not reveal the presence of a mutation in the gene neither in the proband nor in his mother and siblings. However, in this case could not be stated that there is no genetic conditions of impaired folate metabolism. Mutations of other genes encoding enzymes of folate cycle, such as methionine synthase reductase (MTRR) gene and MTR, encoding the amino acid sequence of the enzyme methionine synthase, are possible. In second case, maternal and siblings heterozygous form of MTHFR polymorphism was detected, which resulted in thermolability and, accordingly, decrease the activity of the enzyme. This was a genetic basis and compounded the effects of the risk factors that led to the formation of congenital malformations in both siblings of twins.*

Conclusions. *Taking into account the percentage of concordance for dizygotic twins with NTD and a large number of hidden forms of malformation in-depth examination and supervision of all siblings (especially twins) of children with open forms of spina bifida is needed. Identification of the closed form of spinal malformation in siblings at early age will determine the timely provision of necessary medical aid and would hinder the development of neurological and urological complications.*

Введение. Врожденные пороки развития диагностируются примерно у 5 % новорожденных. Они занимают лидирующее место среди причин перинатальной, неонатальной и младенческой смертности. Наиболее частой патологией являются пороки развития сердечнососудистой системы и ЦНС. По данным Н.А. Геппе (1999 г.), врожденные пороки развития ЦНС составляют около 25 % всех пороков развития и обуславливают задержку психомоторного развития и выраженный невроло-

гический дефицит у ребенка [4].

Формирование врожденных дефектов нервной трубки (ВДНТ) является результатом нарушения процессов нейруляции на любой из стадий (3-7 недели эмбриогенеза). Частота ВДНТ в разных популяциях колеблется от 0,2 до 10 на 1000 родившихся живыми детей в год (в среднем 1 %) [2,3,7,12]. Частота возникновения ВДНТ существенно варьирует в зависимости от географического региона и этнической принадлежности на-

селения: 0,9 в Канаде; 0,7 во Франции; 7,7 в ОАЭ; 11,7 в странах Южной Америки; 25-30 в Великобритании, 199 на 1000 новорожденных в северных регионах Китая [2,5,12]. Наиболее часто встречающиеся ВДНТ – это, так называемые, спинальные дизрафии или миелодислазии (*spina bifida occulta*, *spina bifida aperta*), а также анэнцефалия и энцефалоцеле.

Этиология ВДНТ остается до конца неизученной. Большинство случаев имеют мультифакториальное происхождение, и лишь около 10% обусловлено хромосомными аномалиями и входят в состав многочисленных генетических синдромов (синдром Арнольда-Киари II и III типа, трисомия по 13 и 18 парам хромосом, триплоидия, точечные генные мутации и т.д.) [1,2,7,8]. Связь с генетическими синдромами, повышенный риск формирования патологии у сибсов, более высокая частота возникновения ВДНТ у близнецов и у детей из тройни (примерно на 50% выше среднестатистического) указывают на наличие генетической обусловленности этиопатогенеза ВДНТ.

Множество исследований в течение более 20 лет были направлены на поиск молекулярно-генетических механизмов формирования этой группы пороков. Данные о значительном снижении риска рождения ребенка с ВДНТ при прекоцепционном приеме матерью препаратов фолиевой кислоты и, наоборот, повышении риска при приеме препаратов – антагонистов фолиевой кислоты (антиконвульсанты, противомаларийные препараты, кофеин) позволили предположить ключевую роль этого витамина в генезе ВДНТ [2,3,7,11]. Однако механизмы воздействия фолиевой кислоты на процесс нейруляции остаются не до конца изученными. Предполагаемая связь однонуклеотидных полиморфизмов генов фолатного цикла и риска формирования ВДНТ на данный момент дискуссионна. Наиболее изученным и доказано значимым в генезе пороков нервной трубки на сегодняшний день являются полиморфизмы гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) 677 C>T и 1298 A>C [9]. Ген кодирует аминокислотную последовательность фермента MTHFR, являющегося ключевым в метаболизме фолиевой кислоты. Фолатный цикл представляет собой каскадный процесс, контролируемый ферментами, которые в качестве коферментов используют производные фолиевой кислоты. Ключевой этап этого процесса – синтез метионина из гомоцистеина: восстановление 5, 10-метилентетрагидрофолата до 5-метилентетрагидрофолата при помощи фермента MTHFR. Мутации гена MTHFR 677 C>T и 1298 A>C приводят к снижению каталитической активности кодируемого фермента и, соответственно, снижают интенсивность фолатного метаболизма. Нарушение фолатного цикла при-

водит к повышению уровня гомоцистеина в плазме и накоплению его в клетках. Выраженное цитотоксическое, атергенное и тромбофилическое действие гомоцистеина обуславливает высокий риск развития таких процессов как осложнения течения беременности (гестоз, фетоплацентарная недостаточность), врожденные пороки развития плода (дефекты нервной трубки, анэнцефалия, пороки лицевого скелета), выкидыши и пренатальная смерть плода, канцерогенез (колоректальная аденокарцинома, рак молочной железы и яичников), сердечно-сосудистые заболевания (ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, тромбоэмболия легочной артерии, атеросклероз, варикозная болезнь). Снижение скорости процессов метилирования в клетке приводит к изменению профиля метилирования центральных районов хромосом, нарушению расхождения хромосом в оогенезе и повышает риск развития синдрома Дауна и Эдвардса. Таким образом, фолиевая кислота и гомоцистеин играют ключевую роль в процессах эмбриогенеза [6,9,13,16].

Цель. Изучить молекулярно-генетические маркеры нарушения фолатного цикла и экзогенные факторы риска у детей со *spina bifida* от многоплодных беременностей и их сибсов.

Материалы и методы. Проведен клинико-лабораторный анализ двух случаев развития открытой формы *spina bifida* у детей от многоплодных беременностей. Для выявления этиологии заболевания, уточнения механизма наследования и определения причин дискордантности близнецов использовались генеалогический, молекулярно-генетический и близнецовый методы. Анализ генетических полиморфизмов проводился на базе информационно-исследовательского немецкого медицинского центра “Гермедтех”. Для определения степени метаболических нарушений были использованы биохимический (определение уровня фолиевой кислоты и гомоцистеина в крови, лаборатория “Синэво”) и клинический методы обследования детей со *spina bifida*, а также их матерей и сибсов.

Результаты исследования и их обсуждение. Клинический случай 1. Девочка Б., родилась в сроке гестации 38 недель с массой тела 2050 г, длиной 44 см, окружностью головы 29 см, окружностью груди 30 см, с оценкой по шкале Апгар 7-8 баллов, путем кесарева сечения, II из двойни, с врожденным пороком развития: *spina bifida* пояснично-крестцового отдела позвоночника с ликвореей, ЗВУР, диспластический вариант.

Из анамнеза известно, что ребенок от 7-ой многоплодной беременности, 4-х родов, родилась 2-ой из бихориальной двойни. Матери пробанда 38 лет. В анамнезе матери пробанда три абортa. При сборе анамнеза были выявлены известные

факторы риска нарушения обмена фолиевой кислоты. Во время настоящей беременности питание матери было несбалансированным (преобладание круп и полуфабрикатов, отсутствие свежих овощей и фруктов в рационе), курение. Прием витаминов (в т.ч., фолиевой кислоты) начат с 4-го месяца беременности. В первом триместре беременности мать перенесла ОРВИ с подъемом температуры до субфебрильных цифр. Имел место поздний гестоз и фетоплацентарная недостаточность. Семейный анамнез отягощен наличием рака груди и опухолей репродуктивной системы по женской линии (рис. 1).

Ребенок поступил в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных в первые сутки жизни в связи с тяжестью состояния после рождения, которое было обусловлено неврологической симптоматикой: двусторонняя нижняя параплегия; мышечный тонус нижних конечностей резко снижен. Реакции на болевые раздражители с уровня L₃-L₄ нет. Обращали на себя внимание признаки диспластичности: низкий лоб, короткая шея, кожная воротниковая складка. В связи с нарастающей ликвореей ребенок был прооперирован впервые сутки жизни, произведена пластика грыжевых ворот. Послеоперационный диагноз: миеломенингорадикулоцеле пояснично-крестцового отдела позвоночника (L₄₋₅). В послеоперационном периоде появились активные движения и чувствительность левой ножки, а также признаки восстановления чувствительности правой. Явления гипертензионно-ликворного синдрома не прогрессировали. Ребенок был выписан домой на 38 сутки жизни, рекомендовано наблюдение нейрохирургом каждые 2 недели с для контроля динамики ликвородинамических нарушений.

Сибс, девочка, I из двойни, после рождения установлен диагноз: ЗВУР, диспластический вариант, врожденный порок развития каудальной зоны – врожденный порок развития промежности. Масса при рождении 1950 г, рост- 42 см, окружность головы 28 см, окружность груди 29 см. Оценка по

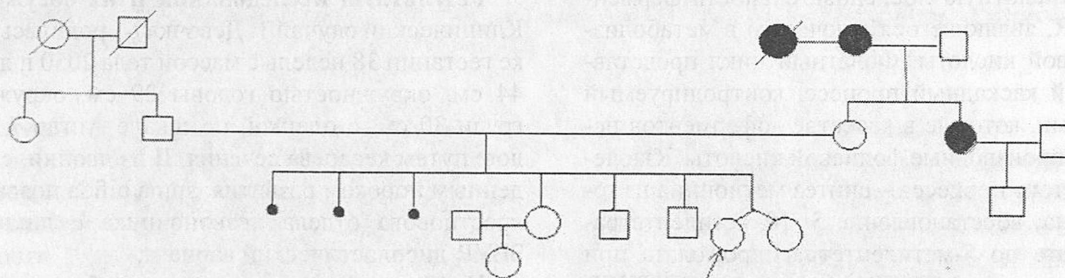
шкале Апгар 7-8 баллов. Стигмы дисэмбриогенеза: низкий лоб, тонкая верхняя губа, низко расположенные деформированные ушные раковины. Для уточнения вида врожденного порока развития было проведено эндоскопическое и рентгенологическое обследование с последующей консультацией хирурга. Установлен диагноз: расщелина промежности, аномалия крестца, агенезия копчика. Для уточнения диагноза необходимо проведение МРТ поясничной области и таза после увеличения массы тела. На 18 день жизни у ребенка развился гнойный менингит, лечение проводилось в течение 1,5 месяцев. Ребенок был выписан домой на 62 сутки жизни, рекомендовано хирурга и проведения МРТ пояснично-крестцовой области.

Проведено кариотипирование обоих сибсов: 46XX. Учитывая реализацию факторов риска формирования ВДНТ, сибсам и матери была проведена молекулярно генетическая диагностика мутации гена MTHFR, полиморфизмы C677T и A1298C (табл.1).

Таблица 1

Результаті молекулярно-генетических исследований матери и сибсов

	MTHFR C677T Ala222Val	MTHFR A1298C Glu429Ala
Мать	Гетерозиготная форма полиморфизма C/T	Гомозиготный носитель нормального гена A/A
Ребенок I	Гетерозиготная форма полиморфизма C/T	Гомозиготный носитель нормального гена A/A
Ребенок II (spina bifida)	Гетерозиготная форма полиморфизма C/T	Гомозиготный носитель нормального гена A/A



● - Больные раком молочной железы и опухолями репродуктивной системы

Рис. 1. Родословная семьи пробанда I

Проведен биохимический анализ крови матери: фолиевая кислота – 3,06 нг/мл (норма 4,6-18,7 нг/мл), гомоцистеин – 16,2 мкмоль/л (норма 5,0-12,0 мкмоль/л).

Клинический случай 2. Мальчик Н., родился первым из трихориальной тройни в сроке гестации 33 недели с массой тела при рождении 1630 г, длиной 42 см, окружностью головы 29 см, окружностью груди 26 см. Оценка по шкале Апгар 4-6 баллов. Роды кесаревым сечением. У ребенка выявлен врожденный порок развития: spina bifida пояснично-крестцового отдела позвоночника с ликвореей.

Из анамнеза известно, что ребенок от 6-ой мно-

гоплодной беременности, 4-х родов. В анамнезе матери пробанда один аборт и один самопроизвольный аборт; настоящая беременность произошла на фоне приема оральных контрацептивов по поводу лечения миомы матки. Во время настоящей беременности питание матери было несбалансированным (низкий социально-экономический статус), отсутствовал прием витаминов (в т.ч. фолиевой кислоты), имела место анемия. Семейный анамнез отягощен наличием миомы матки и опухолей репродуктивной системы по женской линии (рис. 2). Также, в у матери имела место смерть близнецов на 26 неделе гестации.

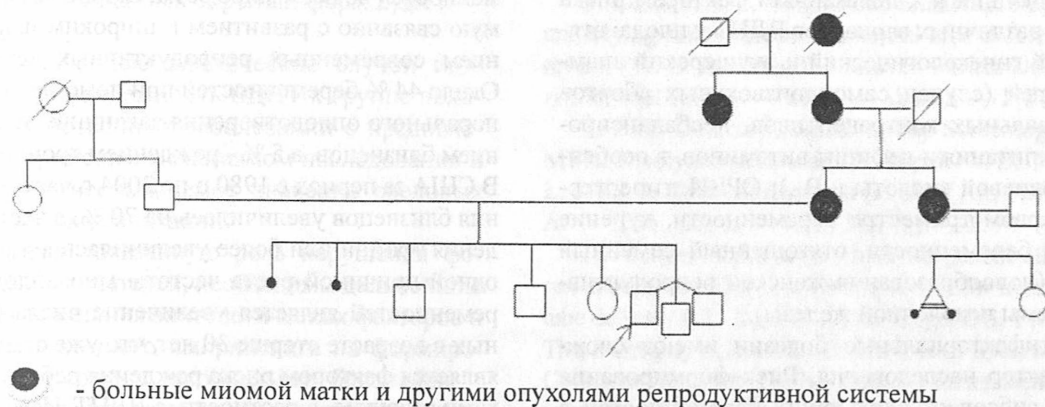


Рис. 2. Родословная семьи пробанда 2

После рождения ребенок был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных в связи с тяжестью состояния ребенка, которая была обусловлена морфо-функциональной незрелостью и неврологической симптоматикой: самостоятельные движения в ногах отсутствовали; мышечный тонус нижних конечностей резко снижен. Реакции на болевые раздражители с уровня L₃-L₄ нет. Определялось зияние ануса, сфинктер не сомкнут. В связи с нарастающей ликвореей на третьи сутки жизни ребенок был прооперирован, произведена пластика грыжевых ворот. Послеоперационный диагноз: миеломенингорадикулоцеле пояснично-крестцового отдела позвоночника (L₃L₅). В послеоперационном периоде неврологическая симптоматика без положительной динамики. Явления ликворной гипертензии не прогрессировали. В удовлетворительном состоянии ребенок был выписан домой на 32 сутки жизни, рекомендовано наблюдение нейрохирурга каждые 2 недели для контроля динамики явлений ликвородинамических нарушений и решения вопроса о необходимости проведения ликворорегулирующей операции.

Учитывая реализацию факторов риска формирования ВДНТ всем sibсам из тройни, а также матери была проведена молекулярно генетическая диагностика мутации гена MTHFR, полиморфизмы C677T и A1298C (табл.2).

Таблица 2

Данные молекулярно-генетических исследований матери и sibсов

	MTHFR C677T Ala222Val	MTHFR A1298C Glu429Ala
Мать	Гомозиготный носитель нормального гена C/C	Гомозиготный носитель нормального гена A/A
Ребенок I (spina bifida)	Гомозиготный носитель нормального гена C/C	Гомозиготный носитель нормального гена A/A
Ребенок II	Гомозиготный носитель нормального гена C/C	Гомозиготный носитель нормального гена A/A
Ребенок III	Гомозиготный носитель нормального гена C/C	Гомозиготный носитель нормального гена A/A

Проведены биохимические анализы крови матери: фолиевая кислота – 2,44 нг/мл (норма 4,6-18,7 нг/мл); гомоцистеин – 14,4 мкмоль/л (норма 5,0- 12,0 мкмоль/л). Учитывая наличие ВДНТ у одного ребенка из тройни, для исключения скрытых форм ВДНТ, в частности spina bifida occulta sibсам рекомендовано проведение рентгенологического исследования или МРТ позвоночника в возрасте 1 года.

Описанные клинические случаи подтверждают принадлежность ВДНТ к группе мультифакториальных заболеваний. Болезни с наследственной предрасположенностью могут реализовываться только путем тесного взаимодействия генетической конституции индивида и факторов внешней среды. Предполагается, что без средовых факторов не может реализоваться генетическая предрасположенность. Это связано с тем, что при заболеваниях, связанных с нарушением системы аллельных генов, снижена норма реакций и адаптация к различным воздействиям. Как в первом, так и во втором случае реализованы средовые факторы относящихся к доказанным факторам риска развития различных вариантов ВДНТ у плода: отягощенный гинекологический и акушерский анамнез матерей (случаи самопроизвольных абортов прием оральных контрацептивов, несбалансированность питания и дефицит витаминов, в особенности фолиевой кислоты и B_{12}); ОРВИ, гипертермия в первом триместре беременности, курение во время беременности, отягощенный семейный анамнез (новообразования женской репродуктивной системы и молочной железы).

Мультифакториальные болезни имеют сложный характер наследования. Риск формирования ВДНТ у сибсов от следующих беременностей в браке, где уже есть ребенок с пороком ЦНС, составляет 2-5%, что примерно в 50 раз больше общепопуляционного риска. Риск повторного рождения ребенка с ВДНТ у матери в другом браке составляет 0,8-1,7%, что говорит в пользу теории митохондриального (материнского) типа наследования [10]. Отягощенный семейный анамнез по материнской линии пробандов (случаи внутриутробной гибели плода, выкидыши, новообразования репродуктивной системы, онкологическая патология молочной железы), и рождение детей с ВДНТ во втором и третьем поколении у родственников, преимущественно по материнской линии, также подтверждает сложный механизм наследования, в основе которого может лежать геномный импринтинг или материнское наследование.

Следствием действия совокупности всех указанных факторов риска является нарушение фолатного цикла, которое отражают данные биохимических анализов крови матерей пробандов (значительно сниженный уровень фолиевой кислоты и повышенный уровень гомоцистеина). В первом клиническом случае у матери и сибсов была обнаружена гетерозиготная форма полиморфизма гена MTHFR, что обусловило термолабильность и, соответственно, снижение активности фермента. Это явилось генетической основой и усугубило воздействие имеющихся факторов риска, что привело к формированию врожденных пороков развития у обоих сибсов из двойни. В втором случае ис-

следование полиморфизмов С677Т и А1298С гена MTHFR, не выявило наличия мутации в данном гене, ни у пробанда, ни у его матери и сибсов. Однако в данном случае нельзя однозначно утверждать, что отсутствует генетически обусловленное нарушение фолатного обмена. У матери могут быть мутации других генов ферментов фолатного цикла, таких как метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) и гена MTR, кодирующего аминокислотную последовательность фермента метионин-синтазы.

Отдельным фактором риска ВДНТ плода следует считать многоплодную беременность. За последние два десятилетия, частота многоплодных беременностей во всем мире резко возросла. Это напрямую связано с развитием и широким использованием современных репродуктивных технологий. Около 44 % беременностей при помощи экстракорпорального оплодотворения заканчиваются рождением близнецов, а 5 % - рождением тройни и более. В США за период с 1980 г. по 2004 г. частота рождения близнецов увеличилась на 70 %, а частота рождения тройни или более увеличилась в 4 раза. Еще одной причиной роста частоты многоплодных беременностей является увеличение числа беременных в возрасте старше 30 лет, что уже само по себе является фактором риска рождения ребенка с пороками развития, в частности, с ВДНТ. Известно также, что незапланированная беременность на фоне приема оральных контрацептивов в большем проценте случаев является многоплодной. Длительный прием оральных контрацептивов является самостоятельным доказанным фактором риска формирования ВДНТ, поскольку эти препараты влияют на метаболизм фолиевой кислоты, снижая ее уровень в сыворотке крови женщины, тем самым вызывая гипергомоцистеинемию. Гомоцистеин обладает выраженным цитотоксическим действием, в том числе, и на клетки растущего эмбриона, обуславливая тем самым пороки развития плода.

Около 3,5 % детей от многоплодных беременностей рождаются с пороками развития. В случае беременности разнополыми плодами, вероятность формирования пороков развития у детей мужского пола на 29% выше, чем у девочек [17]. Существует гипотеза, объясняющая этот факт тем, что эмбрион мужского пола развивается немного медленнее женского, таким образом, длительное подвергаясь неблагоприятным воздействиям факторов риска формирования пороков. По данным исследований с использованием близнецового метода, формирование ВДНТ более, чем у одного плода в случае многоплодной беременности, происходит очень редко. Конкордантность монозиготных близнецов составляет около 7 %, однако другим данным может достигать 40 % [10]. Для дизиготных близнецов показатель конкордантности составляет в среднем 4 %, и увеличивается в случае однополых сибсов.

Более детальное изучение случаев спинальных дизрафий при многоплодных беременностях выявляет большой процент скрытых форм ВДНТ (spina bifida occulta, диастематомия, синдром фиксированного спинного мозга) у сибсов [14,15]. Данные формы характеризуются поздним началом достаточно многообразных проявлений: двигательные, чувствительные, ортопедические, урологические нарушения, которые обусловленные компрессией нервных структур. Необходимость дальнейшего обследования и наблюдение двух других детей из тройни в представленном клиническом случае 2 обусловлена возможным наличием у них одной из вышеуказанных скрытых форм ВДНТ.

Выводы.

1. Представленные клинические случаи подтверждают принадлежность ВДНТ к группе полигенных наследственных заболеваний с предполагаемым материнским механизмом наследования и иллюстрирует неотъемлемое значение средовых факторов для их реализации.

2. Учитывая доказанную роль нарушения фолатного обмена у матерей, необходимы дальнейшие исследования влияния эпигенетических факторов и механизмов геномного импринтинга на формирование ВДНТ у моно- и дихориальных близнецов.

3. Учитывая процент конкордантности дизиготных близнецов по ВДНТ и большое количество скрытых форм данного порока развития, необходимым является углубленное обследование и наблюдение всех сибсов (в особенности близнецов) детей с открытыми формами spina bifida.

4. Выявление у сибсов закрытых форм спинальных дизрафий в раннем возрасте позволит своевременно оказать им необходимую медицинскую помощь, что снизит риск развития неврологических и урологических осложнений.

Список литературы:

1. Вактшельд А. Высокий риск развития дефектов нервной трубки в Архангельской области / Арил Вактшельд // Экология человека. — 2010. — № 1. — С. 19—20.
2. Володин Н. Н. Клиническая семиотика и диагностика синдромов нарушения раннего нейроонтогенеза — дефектов смыкания верхних отделов нервной трубки / Н. Н. Володин, М. И. Медведев, А. В. Горбунов // Вопросы практической педиатрии. — 2009. — Т. 4, № 5. — С. 53—58.
3. Гродницкая Е. Э. Фолицин в профилактике дефектов нервной трубки / Е. Э. Гродницкая // Журнал акушерства и женских болезней. — 2010. — Т. LIX, № 3. — С. 87—91.
4. Пороки развития ЦНС у новорожденных с внутриутробной инфекцией / Н. А. Геппе, О. С. Нестеренко, Н. С. Нагибина [и др.] // Педиатрия. — 1999. — № 5. — С. 42—44.

5. Частота природжених вад розвитку нервової системи в областях України / О. О. Полька, О. В. Линчак, Т. М. Поканевич, І. П. Кривич // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. — 2009. — Вип. 17. — С. 218—227.

6. Analysis of the MTHFD1 promoter and risk of neural tube defects / N. Carroll, F. Pangilinan, A. M. Molloy [et al.] // Hum Genet. — 2009, Apr. — Vol. 125 (3). — P. 247—256.

7. Au K. S. Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects / K. S. Au, A. Ashley-Koch, H. Northrup // Dev Disabil Res Rev. — 2010. — Vol. 16 (1). — P. 6—15.

8. Beaudin A. E. Insights into metabolic mechanisms underlying folate-responsive neural tube defects: a mini review / A. E. Beaudin, P. J. Stover // Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. — 2009. — Vol. 85. — P. 274—284.

9. Birth Defects Research Group Screening for new MTHFR polymorphisms and NTD risk / V. B. O'Leary, J. L. Mills, A. Parle-McDermott [et al.] // Am J Med Genet A. — 2005, Oct 1. — Vol. 138A (2). — P. 99—106.

10. Further evidence for a maternal genetic effect and a sex-influenced effect contributing to risk for human neural tube defects / K.L. Deak KL, D.G. Siegel DG, T.M. George TM, S Gregory S, A Ashley-Koch A, M.C. Speer MC; NTD Collaborative Group. Further evidence for a maternal genetic effect and a sex-influenced effect contributing to risk for human neural tube defects. Birth Defects Res //A Clin Mol Teratol.—2008; Oct;— Vol. 82(10).—P.:662.

11. Hesecker H. Folic acid and other potential measures in the prevention of neural tube defects / H. Hesecker // Ann Nutr Metab. — 2011. — Vol. 59 (1). — P. 41—45.

12. Mohamed M. A. Birth region, race and sex may affect the prevalence of congenital diaphragmatic hernia, abdominal wall and neural tube defects among US newborns / M. A. Mohamed, H. J. Aly // J Perinatol. — 2012, Jan. — Vol. 26. — P. 184.

13. Neural tube defects and folate pathway genes: family-based association tests of gene-gene and gene-environment interactions / A. L. Boyles, A. V. Billups, K. L. Deak [et al.] // Environ Health Perspect. — 2006, Oct. — Vol. 114 (10). — P. 1547—1552.

14. Rare case of spina bifida in both twins with possible genetic basis / A Lembet, E.N. Uğurlu, T Toprak, E Bastu //J Obstet Gynaecol Res.— 2011; Nov;— Vol. 37(11).—P.1755-8.

15. Spina bifida occulta and monozygotic twins / B Spacca, N Buxton. //J Neurosurg Pediatr.— 2008; Oct;— Vol. 2(4).—P.258-60. -9. doi: 10.1002/bdra.20511

16. Variation and expression of dihydrofolate reductase (DHFR) in relation to spina bifida / I. J. van der Linden, U. Nguyen, S. G. Heil, B. Franke // Mol Genet Metab. — 2007, May. — Vol. 91 (1). — P. 98—103.

17. Wei Cui et al., Sex differences in birth defects: A study of opposite-sex twins // Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology.— 2005; Nov;— Vol.73 (11),—P. 876—880.

Receptionat 05.10.2013