

Stanowisko ekspertów Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka i Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników w sprawie zlecenia i interpretacji wyników badań pod kątem wariantów genetycznych w genie *MTHFR*

MTHFR genetic testing: Recommendations of the Polish Society of Gynecologists and Obstetricians and the Polish Human Genetics Society

Hanna Moczulska, Karolina Pesz, Agnieszka Gach, Maciej Borowiec, Piotr Sieroszewski, Maria Sasiadek*, Lucjusz Jakubowski*, Mirosław Wielgość*

*Autorzy wnieśli równy wkład merytoryczny w opracowanie artykułu

Gen *MTHFR* jest odpowiedzialny za produkcję reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR), enzymu biorącego udział w metabolizmie folianów [1]. Są one niezbędne w procesie remetylacji homocysteiny do metioniny. Metionina jest konwertowana do S-adenozylometioniny, a ta stanowi jedno z ważniejszych źródeł grup metylowych niezbędnych w procesach regulacji funkcji kwasów nukleinowych oraz wielu białek i innych cząsteczek biologicznych istotnych dla prawidłowego rozwoju prenatalnego, a także całego okresu życia po urodzeniu się.

Obniżona aktywność MTHFR, szczególnie w stanach niedoboru folianów, może prowadzić do hiperhomocysteinemii (homocysteina nie jest w wystarczającym stopniu przetwarzana). Jako dodatkowy objaw niekiedy obserwuje się wówczas homocysteinurię. Wysokie poziomy homocysteiny we krwi mogą zależeć także od wielu innych czynników genetycznych, ogólnoustrojowych oraz środowiskowych. Wymaga to zatem utrzymania w granicach rozsądku postępowania różnicującego, zależnego od wskazań klinicznych.

Uważa się, że aktywność reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej może być umiarkowanie obniżona w przypadkach powszechnie występujących wariantów polimorficznych c.665C>T [znany dotychczas jako c.677C>T] i c.1298A>C w genie *MTHFR* (NM_005957). Są one szczególnie częste u przedstawicieli rasy białej, kaukaskiej, w tym także w Polsce, sięgając nawet 50% populacji ogólnej, nieco rzadsze u rasy żółtej, a najrza-

ziej występują u osób rasy czarnej – do 22% [2]. Pamiętając o reprezentowaniu każdego genu przez jego dwa allele, polimorfizmy te albo nie występują u konkretnej osoby, albo stwierdzane są w układzie heterozygotycznym (polimorfizm tylko w jednym allelu), homozygotycznym (polimorfizm w obu allelach), a także pod postacią złożonych heterozygot (jeden z ww. polimorfizmów w jednym allelu i drugi w allelu drugim). Biorąc po uwagę różne sposoby zapisu rozpatrywanych polimorfizmów zarówno w publikacjach, jak i wynikach badań wydawanych przez poszczególne laboratoria, zestawiono je w załączniku do niniejszych rekomendacji. Dąży się do ujednocnienia tych zapisów.

Na podstawie analizy dostępnych wyników badań naukowych oraz rekomendacji i wytycznych w tym zakresie zespół ekspertów Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka oraz Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników stwierdza, że ocena wariantów polimorficznych genu *MTHFR* ma małą wartość predykcyjną w diagnostyce przeprowadzanej pod kątem przyczyn nawracających poronień, ryzyka urodzenia się dziecka z wadą rozwojową ośrodkowego układu nerwowego (mózgu, rdzenia kręgowego), aberracjami chromosomowymi, w tym z zespołem Downa, ryzyka wystąpienia zakrzepicy w obrębie naczyń żylnych, w tym żył głębokich, udarów niedokrwiennych mózgu, choroby wieńcowej, wybranych typów chorób afektywnych, zaburzeń rozwoju psychosomatycznego i niepełnosprawności intelektualnej lub niektórych chorób nowotworowych [3–6]. Nie stwierdzono

także wystarczająco udokumentowanej korelacji między omawianymi polimorfizmami genu *MTHFR* a poziomami homocysteiny zmienionymi w stopniu uzasadniającym branie ich pod uwagę w etiopatogenezie ww. zaburzeń lub stanów chorobowych.

W związku z tym eksperci obu Towarzystw, biorąc pod uwagę agresywną reklamę na rynku komercyjnych świadczeń diagnostycznych oraz wątpliwości natury merytorycznej, stwierdzają, co następuje:

1. badania wariantów c.665C>T [c.677C>T] i c.1298A>C genu *MTHFR* **nie znajdują uzasadnienia** w diagnostyce przyczyn nawracających poronień, niezależnie od stopnia zaawansowania ciąży, w którym doszło do tego rodzaju powikłań;
2. badania ww. wariantów **nie znajdują uzasadnienia** w diagnostyce mającej na celu ocenę ryzyka wystąpienia u potomstwa wad rozwojowych ośrodkowego układu nerwowego (mózgu i/lub cewy nerwowej), a także innych wad rozwojowych;
3. u kobiet planujących posiadanie potomstwa celem ograniczenia ryzyka wystąpienia wad ośrodkowego układu nerwowego należy zastosować standardową profilaktyczną dawkę kwasu foliowego 0,4 mg/dobę, niezależnie od braku lub obecności wariantów polimorficznych c.665C>T [c.677C>T] i/lub c.1298A>C w genie *MTHFR*, jeśli badanie takie było wykonane;
4. w profilaktyce wystąpienia wad ośrodkowego układu nerwowego u płodu można również zastosować łącznie z kwasem foliowym jego aktywne metabolity, niezależnie od braku lub obecności wariantów poli-

morficznych c.665C>T [c.677C>T] i/lub c.1298A>C w genie *MTHFR*;

5. w prewencji wad ośrodkowego układu nerwowego u kobiet, które wcześniej urodziły dziecko z taką wadą, należy zastosować większą dawkę kwasu foliowego w wysokości 4–5 mg (na rynku najczęściej dostępne tabletki a 5 mg) z możliwością zastosowania aktywnych metabolitów kwasu foliowego, niezależnie od braku lub obecności wariantów polimorficznych c.665C>T [c.677C>T] i/lub c.1298A>C w genie *MTHFR*, jeśli badanie takie zostało wykonane;
6. badania wariantów c.665C>T [c.677C>T] i c.1298A>C genu *MTHFR* **nie znajdują uzasadnienia** w diagnostyce dziedzicznych trombofilii;
7. u pacjentek, u których wcześniej stwierdzono obecność wariantów polimorficznych c.665C>T [c.677C>T] i/lub c.1298A>C w genie *MTHFR*, ale nie obserwowano klinicznych objawów trombofilii, **nie należy zalecać leczenia przeciwzakrzepowego** (heparyn drobnocząsteczkowych czy kwasu acetylosalicylowego);
8. nie należy zlecać analizy wariantów polimorficznych c.665C>T [c.677C>T] i c.1298A>C genu *MTHFR* pod kątem predyspozycji do chorób nowotworowych.

Podziękowania

Autorzy składają podziękowania za udział w dyskusji prof. Krystynie Chrzanowskiej, dr Ewie Obersztyn, prof. Januszowi Limonowi, prof. Jackowi Zarębie.

Piśmiennictwo

1. Kang SS, Wong PW, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: An inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet.* 1991; 48: 536–545.
2. Wolski H, Kocięcka M, Mrozikiewicz AE, et al. Coexistence of the 677C>T and 1298A>C *MTHFR* polymorphisms and its significance in the population of Polish women. *Ginekol Pol.* 2015; 86(10): 742–747, doi: [10.17772/gp/59559](https://doi.org/10.17772/gp/59559), indexed in Pubmed: [26677583](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26677583/).
3. Hickey SE, Curry CJ, Toriello HV. ACMG Practice Guideline: lack of evidence for *MTHFR* polymorphism testing. *Genet Med.* 2013; 15(2): 153–156, doi: [10.1038/gim.2012.165](https://doi.org/10.1038/gim.2012.165), indexed in Pubmed: [23288205](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23288205/).
4. Levin BL, Varga E. *MTHFR*: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature. *J Genet Couns.* 2016; 25(5): 901–911, doi: [10.1007/s10897-016-9956-7](https://doi.org/10.1007/s10897-016-9956-7), indexed in Pubmed: [27130656](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27130656/).
5. American Congress of Obstetricians and Gynecologists. Inherited thrombophilias in pregnancy. American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington (DC) 2013.
6. Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. British Committee for Standards in Haematology. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol.* 2010; 149(2): 209–220, doi: [10.1111/j.1365-2141.2009.08022.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.08022.x), indexed in Pubmed: [20128794](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20128794/).

Załącznik
dotyczący nomenklatury molekularnej wariantów polimorficznych genu *MTHFR*
będących przedmiotem stanowiska obu Towarzystw

Zalecane zapisy	Dodatkowe wyjaśnienia	Komentarze
<i>MTHFR</i>	Skrót nazwy genu; należy pisać kursywą	OMIM 607093; lokalizacja chromosomowa: 1p36.22 https://omim.org/entry/607093?highlight=mthrf&search=mthrf
MTHFR	Skrót nazwy enzymu; należy pisać czcionką prostą	Reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianu <i>5,10-methylenetetrahydrofolate reductase</i>
W zapisach wariantów i ich układu allelicznego powinny być stosowane (także w wynikach badań) zasady podane w bazie HGVS (<i>Human Genome Variation Society</i>), zgodnie z wymogami podanymi w Załączniku 4 do rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych z dnia 19 sierpnia 2015 r. (Dz. U. z 2015 r., poz. 1372)		
665C>T	Wariant polimorficzny w pozycji nukleotydu 665 z zastąpieniem C (cytozyny) przez T (tyminę)	Historycznie wariant ten opisywany był również jako 667C>T [3]; nie powinny być stosowane zapisy C665T lub C677T oraz 665C→T lub 677C→T, mimo że są spotykane w literaturze; w bazie danych pojedynczych polimorfizmów (<i>dbSNP</i>) występuje jako rs1801131 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1801131)
c.665C>T	Zalecany zapis tego samego wariantu w przypadku, gdy sekwencją referencyjną w toku analizy było „coding DNA” – stąd litera „c”	
Uwagi dodatkowe	Spotykany w literaturze naukowej poszerzony zapis c.665C>T (p.Ala222Val) oznacza, że zmiana w pozycji nukleotydu 665 powoduje zmianę aminokwasu w pozycji 222 struktury aminokwasowej białka w odniesieniu do jego sekwencji referencyjnej („p” od <i>protein</i>) z zamianą alaniny na walinę	
1286A>C	Wariant polimorficzny w pozycji nukleotydu 1286 z zastąpieniem A (adeniny) przez C (cytozynę)	Nie powinien być stosowany zapis A1286C oraz 1286A→C, mimo że są spotykane w literaturze; w bazie danych pojedynczych polimorfizmów (<i>dbSNP</i>) występuje jako rs1801133 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1801133)
c.1286A>C	Zalecany zapis tego samego wariantu w przypadku, gdy sekwencją referencyjną w toku analizy było „coding DNA” – stąd litera „c”	
Uwagi dodatkowe	Spotykany w literaturze naukowej poszerzony zapis c.1286A>C (p.Glu429Ala) oznacza, że zmiana w pozycji nukleotydu 1286 powoduje zmianę aminokwasu w pozycji 429 struktury aminokwasowej białka w odniesieniu do jego sekwencji referencyjnej („p” od <i>protein</i>) z zamianą glutaminy na alaninę	
Przykładowe wyniki badań dla wariantu 665C>T		
<i>MTHFR</i>: c.[665C=];[665C=]	Jeśli w wyniku badania zapisano, że analizę przeprowadzono pod kątem określonego wariantu, np. <i>MTHFR</i> :c.677C>T, to podany obok wynik oznacza, że wariant nie występuje w żadnym z alleli (allelu typu dzikiego „=” w miejscu potencjalnej mutacji (polimorfizmu)); w powiązaniu z określonym wyżej kierunkiem analizy spotyka się zapis <i>MTHFR</i> :c.[=];[=], lub „-/-”, ale może to być mylące; stan taki opisuje się również jako genotyp 665CC, ale nie powinno to być zalecane	
<i>MTHFR</i>: c.[665C>T];[665C=]	Zapis taki oznacza, że wariant C>T wystąpił w jednym allelu, a drugi allel jest bez wariantu (allelu typu dzikiego „=”), co jest równoznaczne z określeniem heterozygotyczności dla badanego allelu; spotyka się wówczas także zapis <i>MTHFR</i> :c.[665C>T];[=] lub „+/-”, ale może to być mylące; stan taki opisuje się również jako genotyp 665CT, ale nie powinno to być zalecane	
<i>MTHFR</i>: c.[665C>T];[665C>T]	Zapis taki oznacza, że wariant wystąpił w obu allelach, co jest równoznaczne z określeniem homozygotyczności dla badanego allelu; spotyka się wówczas także zapis „+/+”, ale może to być mylące; stan taki opisuje się również jako genotyp 665TT, ale nie powinno to być zalecane	



Przykładowe wyniki badań dla wariantu 1286A>C	
MTHFR: c.[1286A=];[1286A=]	Jeśli w wyniku badania zapisano, że analizę przeprowadzono pod kątem określonego wariantu, np. <i>MTHFR</i> :c.1286A>C, to podany obok wynik oznacza, że wariant nie występuje w żadnym z alleli (allel typu dzikiego „=” w miejscu potencjalnej mutacji (polimorfizmu)); w powiązaniu z określonym wyżej kierunkiem analizy spotyka się zapis <i>MTHFR</i> :c.[=];[=] lub „-/-”, ale może to być mylące; stan taki opisuje się również jako genotyp 1286AA, ale nie powinno to być zalecane
MTHFR: c.[1286A>C];[1286A=]	Zapis taki oznacza, że wariant A>C wystąpił w jednym allelu, a drugi allel jest bez wariantu (allele typu dzikiego „=”), co jest równoznaczne z określeniem heterozygotyczności dla badanego allelu; spotyka się wówczas także zapis <i>MTHFR</i> :c.[1286A>C];[=] lub „+/-”, ale może to być mylące; stan taki opisuje się również jako genotyp 1286AC, ale nie powinno to być zalecane
MTHFR: c.[1286A>C];[1286A>C]	Zapis taki oznacza, że wariant wystąpił w obu allelach, co jest równoznaczne z określeniem homozygotyczności dla badanego allelu; spotyka się wówczas także zapis „+/+”, ale może to być mylące; stan taki opisuje się również jako genotyp 1286CC, ale nie powinno to być zalecane
Heterozygoty złożone (<i>compound heterozygosity</i>)	
MTHFR: c.[665C>T];[1286A>C]	Zapis taki oznacza, że w jednym allelu genu <i>MTHFR</i> wystąpił wariant 665C>T, a w drugim allelu wariant 1286A>C

