

# Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych

The significance of folate metabolism in complications of pregnant women

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz

Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

## Streszczenie

Prawidłowy przebieg cyklu folianów ma kluczowe znaczenie dla homeostazy organizmu. Metabolizm folianów reguluje przemianę aminokwasów (homocysteiny i metioniny), syntezę puryn i pirymidyn oraz metylację DNA. Całość tych procesów biochemicznych ma znaczący wpływ na funkcjonowanie układu krwiotwórczego, sercowo-naczyniowego oraz nerwowego. Zaburzenia cyklu folianów mogą powodować rozwój nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej, zwiększają ryzyko zawału serca, jak również promują rozwój nowotworów, chorób psychicznych i neurodegeneracyjnych. Nie mniej istotny jest związek z powikłaniami u ciężarnych (poronienia nawracające, stan przedrzucawkowy, hipotrofia płodu, zgon wewnątrzmaciczny, przedwczesne oddzielenie łożyska, poród przedwczesny) i wadami płodu (zespół Downa, rozszczep kręgosłupa, przepukliny mózgowo-rdzeniowe).

Kompleksowy proces przemiany folianów wymaga odpowiedniej aktywności wielu enzymów oraz obecności koenzymów. Kluczowym enzymem w metabolizmie folianów jest reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (MTHFR – metylenotetrahydrofolate reductase), a polimorfizm 677C>T genu MTHFR wiązany jest z obniżeniem aktywności enzymatycznej. W kilku pracach wskazano, że polimorfizm 677C>T MTHFR jest niezależnym czynnikiem wpływającym na stężenie homocysteiny w osoczu, jak również na stężenie folianów w osoczu i erytrocytach. Obserwuje się także korelację polimorfizmu 677C>T genu MTHFR z występowaniem zespołu Downa, czy występowaniem wad cewy nerwowej u płodu.

W populacjach europejskich częstość występowania zmutowanego genotypu 677TT wynosi od kilku do kilkunastu procent. Nosicielki genotypów 677TT oraz 677CT MTHFR narażone są na zaburzenia metabolizmu folianów oraz na konsekwencje nieprawidłowego procesu przemian folianów w przebiegu ciąży. Obecnie w tej grupie kobiet szeroko rozpowszechniona jest suplementacja kwasem foliowym. W świetle najnowszej wiedzy zwrócono także uwagę na znaczenie suplementacji metafoliną, która omijając szlaki przemian jakim musi podlegać kwas foliowy po podaniu, jest z pewnością cenną alternatywą suplementacji kobiet ciężarnych w tym zakresie.

Słowa kluczowe: **foliany / wady płodu / reduktaza metylenotetrahydrofolianowa /**

## Adres do korespondencji:

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz  
Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu  
60-535 Poznań, ul. Polna 33, Polska  
tel. 0618419613/fax: 0618474651  
e-mail: asm@data.pl

Otrzymano: 28.11.2012  
Zaakceptowano do druku: 10.04.2013

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych.

## Abstract

*Proper metabolism of folates has a crucial role for body homeostasis. Folate metabolism regulates changing of amino acids (homocysteine and methionine), purine and pyrimidine synthesis and DNA methylation. These whole biochemical processes have significant influence on hematopoietic, cardiovascular and nervous system functions. The disturbances of folate cycle could result in chronic hypertension, coronary artery disease, higher risk of heart infarction, could promote cancers development, and psychic and neurodegenerative diseases. No less important is the connection with complications appearing in pregnant woman (recurrent miscarriages, preeclampsia, fetus hypotrophy, intrauterine death, preterm placenta ablation, preterm delivery) and fetus defects (Down syndrome, spina bifida, encephalomeningocele, myelomeningocele).*

*The complex process of folate metabolism requires adequate activity of many enzymes and presence of co-enzymes. A key enzyme in folate metabolism is methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR - methylenetetrahydrofolate reductase), and 677C>T polymorphism of MTHFR gene is connected with lower enzymatic activity. In several researches it was indicated that 677C>T MTHFR polymorphism is an independent factor influencing homocysteine concentration in serum, and also folate concentration in serum and red blood cells. Nevertheless, it was also observed the correlation of 677C>T MTHFR polymorphism with Down syndrome, and neural tube defects appearance in fetus.*

*In European populations frequency of mutated 677TT genotype ranges from a few to several percent. Women carriers of 677TT or 677CT MTHFR genotypes are exposed on folate metabolism disturbances and on the consequences of incorrect folate process during pregnancy. Nowadays in this group of women folic acid supplementation is widely recommended. In the light of modern knowledge the attention was also focused on the importance of metafolin administration that omitted pathways of folic acid transformation after administration, and in pregnant women certainly is valuable complement of supplementation in this respect.*

Key words: **folate / birth defects / methylenetetrahydrofolate reductase /**

## Wstęp

Jednym z istotnych szlaków biochemicznych w komórce jest proces przemian folianów. Cykl ten bezpośrednio reguluje metabolizm aminokwasów, kwasów nukleinowych oraz wzrost i różnicowanie komórek. W konsekwencji ma on istotny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie układu krwiotwórczego, sercowo-naczyniowego oraz nerwowego. Prawidłowa przemiana folianów wiąże się więc ściśle z prawidłowym rozwojem i funkcjonowaniem organizmu człowieka, a zaburzenia mogą powodować rozwój niektórych powikłań internistycznych (nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej, zawału serca), psychiatrycznych, chorób neurodegeneracyjnych oraz nowotworów. Nie mniej istotny jest związek z powikłaniami u ciężarnych (poronienia nawracające, stan przedrzucawkowy, hipotrofia płodu, zgon wewnątrzmaciczny, przedwczesne oddzielenie łożyska, poród przedwczesny) oraz wadami płodu (zespół Downa, rozszczep kręgosłupa, przepukliny mózgowo-rdzeniowe) [1, 2].

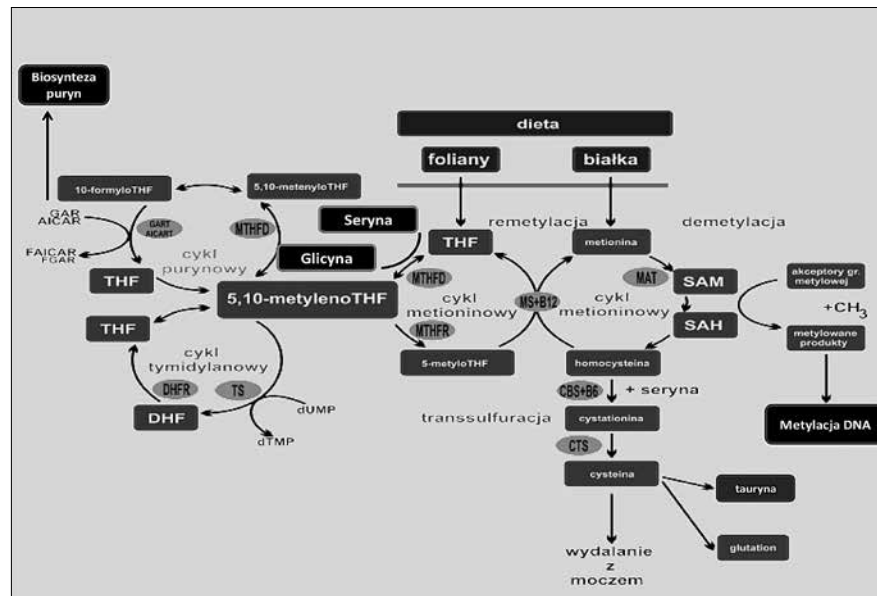
Foliany są nazwą stosowaną do grupy związków strukturalnie podobnych do kwasu foliowego, które w tkankach organizmu działają jako donory i akceptory grup jednowęglowych. W organizmie spotykamy kilka form folianów, z których dominującą (około 90%) i najbardziej aktywną jest zredukowana postać folianów - L-5-metylotetrahydrofolian (L-5-MTHF – *L-5-methyltetrahydrofolate*). Ta właśnie forma może być bezpośrednio włączona w procesy biologiczne komórki. Końcowym wynikiem przemian folianów jest prawidłowa synteza puryn i pirymidyn (prekursorów dla syntezy DNA oraz RNA), prawidłowa metylacja DNA oraz prawidłowy metabolizm homocysteiny. Kluczową rolę w cyklu folianowym odgrywa 5,10-metylenetetrahydrofolian (5,10-MTHF).

Związek ten może być bezpośrednio włączony w cykl tymidylanowy prowadzący do syntezy tymidyny, podlegać redukcji do L-5-MTHF w cyklu metioninowym prowadzącym do przemian aminokwasów (homocysteiny, metioniny, seryny, glicyny) lub podlegać utlenieniu do 10-formylotetrahydrofolianu (10-FTHF) w szlaku syntezy puryn [2, 3].

## Hiperhomocysteinemia

W warunkach równowagi fizjologicznej w komórce homocysteina (Hcy) powstaje w wyniku przemiany egzogennej aminokwasu siarkowego metioniny, która dostarczana jest do organizmu wraz z pożywieniem. W procesie demetylacji metionina w reakcji katalizowanej przez adenozylotransferazę metioninową (MAT) ulega przemianie do S-adenozylometioniny (SAM) a następnie do S-adenozylhomocysteiny (SAH). Po hydrolizie tego ostatniego związku powstaje homocysteina, która jest bezpośrednio wydzielana do krwioobiegu. W przypadku niedoboru metioniny nasileniu ulega proces remetylacji, w którym przy udziale syntazy metioninowej (MS) i kofaktora – witaminy B12 powstaje metionina (przeniesienie grupy metylowej z donora 5-MTHF z przejściowym powstaniem metylokobalaminy). Reakcje demetylacji i remetylacji są procesami odwracalnymi i mogą ulegać przejściowemu nasileniu, tak aby zapewnić równowagę w komórce. Oprócz procesu metylacji metabolizm homocysteiny obejmuje również transulfurację. W nieodwracalnym procesie transulfuracji homocysteina po połączeniu z seryną przekształca się w cystationinę, a następnie w cysteinę. Reakcja katalizowana jest przez  $\beta$ -syntazę cystationiny (CBS) (koenzym – witamina B6) oraz  $\gamma$ -cystationazę (CTS). W końcowym etapie przemian cysteina bierze udział w procesie syntezy glutationu lub jest rozkładana do tauryny [2, 3, 4]. (Rycina 1).

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych.



Rycina 1. Schemat przemiany folianów.

Na cały przebieg powyższych reakcji czynnie wpływa enzym reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (MTHFR – *methylenetetrahydrofolate reductase*), która uczestniczy w przeniesieniu grupy metylowej z 5,10-MTHF, z powstaniem 5-MTHF. Na skutek zmniejszonej aktywności MTHFR uwarunkowanej genetycznie, niedostateczna synteza 5-MTHF prowadzi do wzrostu poziomu Hcy, a jednocześnie grupa metylowa nie jest dostępna w reakcji remetylacji Hcy do metioniny. Innymi determinantami stężenia Hcy w surowicy jest dostępność koenzymów – witaminy B12, B6, których niedobór również wpływa na proces metabolizmu folianów. Oprócz niedoboru aktywności enzymów MTHFR oraz CBS, niedoboru koenzymów uczestniczących w procesie przemian folianów, hiperhomocysteinemia może być także spowodowana poprzez stosowanie niektórych leków i używek (metotreksat, fenytoina, papierosy, kawa), współistnieniem niektórych chorób (cukrzyca typu I oraz II, niewydolność wątroby, nerek, choroba Cushinga, niedoczynność tarczycy). Wyróżnia się następujące postacie hiperhomocysteinemii: łagodną (15-30  $\mu\text{mol/L}$ ), umiarkowaną (31-100  $\mu\text{mol/L}$ ), ciężką (>100  $\mu\text{mol/L}$ ) [2, 3].

Od wielu lat znaczenie hiperhomocysteinemii wskazywane jest w etiologii chorób układu sercowo-naczyniowego, jako czynnika ryzyka rozwoju przede wszystkim nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej, zawału serca, udaru mózgu. Podwyższony poziom Hcy w osoczu powoduje bezpośrednie uszkodzenie i dysfunkcję komórek śródbłonna, spadek stężenia tlenu azotu i upośledzenie rozszerzalności tętnic. Z drugiej strony hiperhomocysteinemia generuje stres oksydacyjny poprzez peroksydację lipidów LDL, migrację i infiltrację leukocytów do ściany naczyń, przyspieszenie różnicowania monocytów do makrofagów zawierających cholesterol (komórki piankowe). Nadmierne stężenie Hcy powoduje również proliferację komórek mięśniowych gładkich, przebudowę ściany naczyń oraz nasilenie procesu zapalnego. Hiperhomocysteinemia prowadzi również do aktywacji kaskady krzepnięcia m.in. przez agregację płytek krwi, aktywację

czynników krzepnięcia V oraz VII. Wszystkie powyższe procesy w rezultacie prowadzą do powstania blaszki miażdżycowej [1, 3]. Wskazuje się również udział hiperhomocysteinemii w etiologii zylnej choroby zakrzepowo-zatorowej [4, 5, 6].

Hiperhomocysteinemia jest również uznanym czynnikiem ryzyka chorób neurodegeneracyjnych i psychicznych. Jednym z możliwych mechanizmów jest pogłębianie już istniejących zmian miażdżycowych naczyń mózgowych. Wskazuje się także przyspieszenie starzenia komórek poprzez spadek stężenia tetrahydrobiopteryny i zaburzenia syntezy neuroprzekazników, wydzielanie peptydów  $\beta$ -amyloidowych (główny składnik płytek starczych), indukcję apoptozy i procesów neurotoksycznych. Są to możliwe mechanizmy w rozwoju schizofrenii, depresji, choroby Parkinsona, choroby Alzheimera oraz otępienia starczego. Dokładne oddziaływanie zaburzonego metabolizmu folianów na rozwój tych chorób nie jest poznane [7, 8].

W położnictwie homocysteina poprzez gromadzenie w komórkach zarodka i wywieranie bezpośredniego efektu cytotoksycznego może być przyczyną wystąpienia wad cewy nerwowej (NTD – *neural tube defects*), jak również innych wad w zakresie układu sercowo-naczyniowego, moczowego oraz rozszczepu warg i podniebienia [9, 10]. W przebiegu ciąży hiperhomocysteinemia prowadzi do rozwoju wielu powikłań ciążowych, jak poronienia nawracające, stan przedzręczawkowy, hipotrofia płodu, obumarcie wewnątrzmaciczne, przedwczesne oddzielenie łożyska, poród przedwczesny [5, 11]. Prawdopodobną przyczyną tych zmian jest arteroskleroza tętnic macicznych, zakrzepica i niewydolność łożyska [1, 2, 12].

## Zaburzenia syntezy puryn i pirymidyn

Prawidłowa synteza puryn i pirymidyn w komórce uwarunkowana jest odpowiednią aktywnością cyklu tymidylanowego i purynowego. W cyklu syntezy pirymidyn (tymidylanowym) przeniesienie grupy jednowęglowej z 5,10-metylenotetrahydrofolianu na deoksyurydynomonofosforan (dUMP) powoduje

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych.

Tabela I. Częstość występowania polimorfizmu 677C>T genu MTHFR w niektórych populacjach.

Autor, rok	Rasa/grupa etniczna	Liczebność grupy badanej	Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmu 677C>T MTHFR (%)
<b>Mutchinick et al., Mol Genet Metab 1999 [44]</b>	kaukaska/meksykańska	250 zdrowych kobiet	<b>CC 17,6 / CT 47,6 / TT 34,8</b> <b>C 41,4 / T 58,6</b>
<b>Sadewa et al., Kobe J Med Sci 2002 [45]</b>	azjatycka/ jawańska i japońska	68 zdrowych osób z populacji jawańskiej 28 mężczyzn/40 kobiet  244 zdrowych osób z populacji japońskiej 174 mężczyzn/70 kobiet	<b>Jawajczycy:</b> <b>CC 84,0 / CT 16,0 / TT 0,0</b> <b>C 92,0 / T 8,0</b>  <b>Japończycy:</b> <b>CC 39,0 / CT 48,0 / TT 13,0</b> <b>C 63,0 / T 37,0</b>
<b>Li et al., Am J Hematol 2002 [46]</b>	azjatycka/chińska (centralne Chiny)	80 zdrowych osób 51 mężczyzn/29 kobiet	<b>CC 47,5 / CT 42,5 / TT 10,0</b> <b>C 68,7 / T 31,3</b>
<b>De Bree et al., Am J Clin Nutr 2003 [47]</b>	kaukaska/holenderska	2051 zdrowych osób 1094 mężczyzn/957 kobiet	<b>CC 46,9 / CT 43,3 / TT 9,8</b> <b>C 68,6 / T 31,4</b>
<b>Lovricevic et al., Coll Antropol 2004 [48]</b>	kaukaska/chorwacka	228 zdrowych osób 175 mężczyzn/53 kobiety	<b>CC 46,1 / CT 44,7 / TT 9,2</b> <b>C 68,4 / T 31,6</b>
<b>Yang et al., Am J Clin Nutr 2008 [49]</b>	populacja USA	6793 zdrowe osoby	<b>Rasa kaukaska:</b> <b>CC 45,8 / CT 42,6 / TT 11,7</b> <b>C 67,1 / T 33,0</b> <b>Afroamerykanie</b> <b>CC 79,2 / CT 19,5 / TT 1,3</b> <b>C 89,0 / T 11,0</b> <b>Meksykanoamerykanie</b> <b>CC 29,9 / CT 49,8 / TT 20,3</b> <b>C 54,8 / T 45,2</b>
<b>Küry et al., BMC Cancer 2008 [50]</b>	kaukaska/francuska	1121 osób 609 mężczyzn/512 kobiet	<b>CC 40,8 / CT 45,9 / TT 13,3</b>
<b>Kang et al., Epidemiol Health 2010 [8]</b>	azjatycka/koreańska	348 mężczyzn	<b>CC 37,4 / CT 45,4 / TT 17,2</b> <b>C 60,1 / T 39,9</b>
<b>Crider et al., Am J Clin Nutr 2011 [25]</b>	azjatycka/chińska (Północne Chiny)	932 zdrowe kobiety w wieku rozrodczym	<b>CC 17,4 / CT 47,5 / TT 35,1</b> <b>C 41,2 / T 58,8</b>
<b>Łopaciuk et al., Clin Appl Thromb Hemost 2001 [22]</b>	kaukaska/polska	238 zdrowych osób (mężczyźni/kobiety)	<b>CC 49 / CT 40 / TT 11,0</b>
<b>Waśkiewicz et al., Kardiol Pol 2011 [23]</b>	kaukaska/polska	3273 zdrowych osób 1561mężczyzn/1712 kobiet	<b>Mężczyźni</b> <b>CC 46,8 / CT 43,1 / TT 10,1</b> <b>C 68,3 / T 31,7</b> <b>Kobiety</b> <b>CC 49,2 / CT 41,4 / TT 9,4</b> <b>C 69,8 / T 30,2</b>
<b>Seremak-Mrozikiewicz i wsp., Arch Perinat Med 2013 [24]</b>	kaukaska/polska	1082 zdrowe kobiety	<b>CC 49,4 / CT 42,8 / TT 7,8</b> <b>C 70,8 / T 29,2</b>

powstanie deoksymonotymidynofosforanu (dTMP). Właściwy przebieg cyklu zależy przede wszystkim od aktywności enzymu reduktazy dihydrofolianowej (DHFR – *dihydrofolate reductase*). W cyklu purynowym grupa jednowęglowa przenoszona jest poprzez szereg produktów pośrednich z udziałem trójfunkcyjnego enzymu dehydrogenazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFD1 – *metylenotetrahydrofolate dehydrogenase*). Aktywność enzymu obejmuje funkcję dehydrogenazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej, cyklohydrolazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej oraz syntetazy 10-formylotetrahydrofolianowej. (Rycina 1).

W położnictwie sprawna synteza DNA uwarunkowana prawidłową syntezą puryn i pirymidyn ma ogromne znaczenie

w szybko dzielących się komórkach we wczesnym rozwoju zarodka. Zaburzenia w tym zakresie wywołują efekt teratogeny – niezamknięcie cewy nerwowej, bezmózgowie, przepukliny mózgowo-rdzeniowe, rozszczep kręgosłupa. W efekcie prowadzi to do rozwoju wad letalnych, trwałego inwalidztwa lub przedwczesnych zgonów noworodków i dzieci. Spadek aktywności i stabilności enzymu MTHFD1 uwarunkowany genetycznie może być przyczyną wystąpienia wad cewy nerwowej u płodu i noworodka. Opisano kilka wariantów polimorficznych 401G>A, 878G>A, 1958G>A genu *MTHFD1*, które wpływając na aktywność tego enzymu mogą mieć związek ze wzrostem ryzyka urodzenia dziecka z NTD [7, 10, 12, 13].

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych.

## Zaburzenia metylacji DNA

Prawidłowa metylacja DNA zależy od aktywności i sprawnego przebiegu cyklu metioninowego. Bezpośrednim dawcą grup metylowych jest w tym przypadku S-adenozylometionina, która następnie jest redukowana do S-adenozylhomocysteiny. Reakcja ta zależy od dostępności 5-MTHF w komórce i aktywności enzymu MTHFR. W cyklu przemian grupa metylowa przenoszona jest na związki pośrednie, a następnie dzięki działaniu metylotransferaz bezpośrednio na DNA. (Rycina 1).

Metylacja DNA jest cechą epigenetyczną DNA i odgrywa kluczową rolę w regulacji ekspresji genów oraz różnicowaniu komórek. Zaburzenia w metylacji DNA kojarzone są przede wszystkim z rozwojem nowotworów i chorób neurodegeneracyjnych. W położnictwie opisano defekt metylacji spowodowany niedoborem aktywności enzymu MTHFR i następującą hipometylacją powodującą anomalie w formacji kinetochoru. Kinetochor jest to białko przylączające się do centromeru wrzeciona kariokinetycznego i warunkujące prawidłową wędrówkę chromosomów do biegunów wrzeciona podczas podziału mejotycznego komórki. Defekty metylacji DNA są w tym wypadku przyczyną nondysjunkcji w mejozie, braku prawidłowej segregacji chromosomu 21 pary i powstania zespołu Downa. Już w latach 90. XX wieku pojawiły się pierwsze publikacje wskazujące na udział wariantów polimorficznych genu MTHFR i podwyższonego poziomu homocysteiny w osoczu we wroście ryzyka występowania zespołu Downa [12, 15, 16, 17].

## Polimorfizm genetyczny enzymów uczestniczących w przemianie folianów

Cały proces przemiany folianów wymaga odpowiedniej aktywności wielu enzymów oraz obecności koenzymów, zaangażowanych w trzy główne szlaki metaboliczne w cytozolu komórkowym – cykl metioninowy, tymidylanowy oraz purynowy. Stąd wiele badań dotyczy wyznaczenia polimorfizmów genetycznych determinujących m.in. aktywność enzymatyczną i w dalszej konsekwencji modulujących procesy dotyczące folianów [18]. Obecnie wskazuje się, że kluczowym enzymem w procesie całego metabolizmu folianów, homocysteiny i metioniny jest enzym MTHFR. W roku 1995 Frosst i wsp. opisali mutację polegającą na zamianie pojedynczego nukleotydu cytozyny na tyminę w pozycji 677 eksonu 4 w genie kodującym MTHFR, co powoduje zamianę aminokwasu alaniny na walinę w łańcuchu białkowym enzymu [19]. Polimorfizm ten ma znaczący wpływ na metabolizm folianów w organizmie człowieka. Homozygoty zmutowane *677TT MTHFR* wykazują tylko około 30% aktywności enzymu, natomiast heterozygoty (*MTHFR 677CT*) około 65-70% w porównaniu do nosicieli genotypu dzikiego *MTHFR 677CC*. W populacjach europejskich częstość występowania genotypu *677CC* i genotypu *677CT* (fenotyp metabolizmu pośredniego) wynosi około czterdziestu kilku procent. Natomiast oceniana częstość genotypu zmutowanego *677TT* najczęściej waha się od kilku do kilkunastu procent, chociaż w krajach Europy Południowej dochodzi nawet do 25-26% [20, 21]. Na świecie w zależności od rasy i pochodzenia etnicznego nosicielstwo genotypu homozygotycznego zmutowanego *677TT* waha się od 0% (niektóre plemiona afrykańskie) do nawet 20% w niektórych populacjach rasy białej i żółtej. W populacji polskiej częstość występowania zmutowanego genotypu *677TT* wynosi od 6-11% [22, 23, 24]. (Tabela I).

W kilku pracach badano wpływ polimorfizmu *677C>T* genu *MTHFR* na stężenie Hcy w wybranych populacjach. W analizach tych wskazano, że polimorfizm *677C>T MTHFR* jest niezależnym czynnikiem wpływającym na stężenie Hcy w osoczu, jak również na stężenie folianów w osoczu i erytrocytach [5, 25]. W populacji polskiej dorosłych (1561 mężczyzn, 1712 kobiet) obserwowano związek występowania genotypu *677TT MTHFR* z wyższym poziomem Hcy [23]. W licznych badaniach udowodniono związek polimorfizmu *677C>T MTHFR* ze znaczącym wzrostem poziomu Hcy w osoczu i w następstwie, ze wzrostem ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych [4, 6, 26, 27, 28].

U ciężarnych natomiast sugeruje się związek polimorfizmu *677C>T MTHFR* z występowaniem przede wszystkim poronień nawracających [29], ale również hipotrofii płodu, zgonów wewnątrzmacicznych, stanu przedzucawkowego, porodów przedwczesnych. Niektóre prace sugerują, że obecnie częsta suplementacja folianami kobiet ciężarnych wyrównuje niedobór aktywności enzymu MTHFR [30].

Korelację polimorfizmu *677C>T MTHFR* z poronieniami nawracającymi potwierdza wiele badań. Już w roku 1997 Nelen i wsp. przedstawili wyniki badania 185 kobiet z co najmniej dwoma poronieniami przed 17 tc. w wywiadzie oraz 113 zdrowych kobiet stanowiących grupę kontrolną. Wykazano częstsze występowanie genotypu zawierającego dwa zmutowane allele (*677TT*) wśród kobiet z poronieniami (16%) w porównaniu z grupą kontrolną (5%) (WR=3,3) [29]. W metaanalizie obejmującej 6 badań dotyczących związku polimorfizmu *677C>T MTHFR* z poronieniami nawracającymi (599 pacjentek i 498 osób z grupy kontrolnej) Nelen i wsp. ponownie wskazali, że hiperhomocysteina jest czynnikiem ryzyka wystąpienia nawracających utrat w wczesnym okresie ciąży (WR=1,40 dla genotypu *677TT* vs. kombinacji genotypów *677CT* i *677CC*) [31]. W badaniu przeprowadzonym przez Mtiraoui i wsp. w populacji kobiet tunezyjskich dowiedziono, że obecność genotypu homozygotycznego *677TT* (30,0 vs. 7,0%,  $p<0,001$ ) oraz homozygotycznego zmutowanego *1298CC* (13,5 vs. 4,0%,  $p=0,026$ ) polimorfizmu *1298A>C* genu *MTHFR* jest czynnikiem ryzyka wystąpienia zarówno wczesnych, jak i różnych utrat ciąży [31]. Metaanaliza Wu i wsp. podkreśliła natomiast korelację genotypu *677TT MTHFR* z poronieniami nawracającymi wśród Azjatów [33]. Również w populacji kobiet z północnych Indii wskazano na znaczenie korelacji genotypu heterozygotycznego *677CT* oraz homozygotycznego *677TT* ze wzrostem ryzyka wystąpienia idiopatycznych poronień nawracających (WR=2,22,  $p=0,02$ ) [34]. Z drugiej jednak strony metaanaliza Ren i wsp. obejmująca 26 badań z 15 państw (pięć z Chin, po trzy z Izraela i Niemiec, po dwa z Austrii, Japonii i Stanów Zjednoczonych i po jednym z innych państw) wykazała, że polimorfizm *677C>T MTHFR* nie jest czynnikiem ryzyka wystąpienia poronień nawracających, z wyjątkiem populacji chińskiej [35]. Dane pochodzące z populacji 145 kobiet z Austrii również nie wskazują na związek polimorfizmu *677C>T MTHFR* z poronieniami samoistnymi [36].

Innym ciekawym spostrzeżeniem jest związek polimorfizmu *677C>T MTHFR* z występowaniem zespołu Downa. James i wsp. w prospektywnym badaniu obejmującym 57 kobiet, wykazali korelację z obecnością genotypu *677TT* u matki z urodzeniem dziecka z zespołem Downa (2,6 razy większe ryzyko urodzenia dziecka z zespołem Downa w porównaniu do matek niebędących nosicielkami allele *677T*,  $p<0,03$ ) [37].

Tab. II. Najczęściej badane polimorfizmy genów związanych z zaburzeniami cyklu folianów.

Gen	Polimorfizm	Zaburzenia metabolizmu folianów	Powikłania/Wady rozwojowe
<b>Cykl metioninowy</b>			
<b>MTHFR</b> <b>1p36.3</b>	677C>T (Ala 222 Val, A222V) 1298A>C (Glu 429 Ala, E429A) 1793G>A (Arg 594 Gln, R594Q)	hiperhomocysteinemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>wady cewy nerwowej</li> <li>zespół Downa</li> <li>poronienia nawracające</li> <li>zgony wewnątrzmaciczne</li> <li>hipotrofia płodu</li> <li>stan przedrzucawkowy</li> <li>przedwczesne oddzielenie łożyska</li> <li>choroby sercowo-naczyniowe</li> <li>choroby naczyń mózgu</li> <li>powikłania psychiatryczne, neurologiczne</li> <li>nowotwory</li> </ul>
<b>MS (MTR)</b> <b>1q43</b>	2756A>G (Asp 919 Gly, D919G)	hiperhomocysteinemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>rozszczip wargi/podniebienia</li> <li>rozszczip kręgosłupa</li> <li>zespół Downa</li> </ul>
<b>MTRR</b> <b>5p15.2-15.3</b>	66A>G (Ile 22 Met, I22M)	hiperhomocysteinemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>choroby sercowo-naczyniowe</li> <li>wady cewy nerwowej</li> <li>zespół Downa</li> </ul>
<b>TCN2</b> <b>22q12.2</b>	776C>G (Arg 259 Pro, R259P)	hiperhomocysteinemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>choroby sercowo-naczyniowe</li> </ul>
<b>Cykl tymidylanowy</b>			
<b>TS, TYMS</b> <b>18p11.32</b>	2R/3R 28pz VNTR (5'-UTR) 3RG>C 12-ta pz VNTR (5'-UTR) 1494 del 6 pz (3'-UTR)	zaburzenia syntezy pirymidyn	<ul style="list-style-type: none"> <li>choroby sercowo-naczyniowe</li> <li>ostra białaczka limfoblastyczna</li> <li>oporność na 5-FU</li> </ul>
<b>DHFR</b> <b>5q14.1</b>	238C>T (Leu 80 Phe, L80F) 458A>T (Asp 153 Val, D153V)	zaburzenia syntezy pirymidyn	<ul style="list-style-type: none"> <li>anemia megaloblastyczna</li> <li>wady cewy nerwowej</li> <li>rozszczip kręgosłupa</li> <li>oporność na metotreksat</li> </ul>
<b>Cykl purynowy</b>			
<b>MTHFD1</b> <b>14q24</b>	401G>A (Arg 134 Lys, R134K) 878G>A (Arg 293 His, R293H) 1958G>A (Arg 653 Gln, R653Q)	zaburzenia syntezy puryn	<ul style="list-style-type: none"> <li>choroba dwubiegunowa i schizofrenia</li> <li>rak piersi, rak odbytnicy</li> <li>wady cewy nerwowej</li> <li>utrata ciąży w II trym., przedwczesne oddzielenie łożyska</li> <li>zespół Downa</li> </ul>
<b>Transulfuracja</b>			
<b>CBS</b> <b>21q22.3</b>	341C>T (Ala 114 Val, A114V) 434C>T (Pro 145 Leu, P145L) 684C>A (Asn 228 Lys, N228K) 833T>C (Ile 278 Thr, I278T) 442G>A (Gly 148 Arg, G148R)	hiperhomocysteinemia homocystynuria	<ul style="list-style-type: none"> <li>podwichnięcie soczewki</li> <li>opóźnienie umysłowe</li> <li>powikłania zakrzepowo-zatorowe</li> <li>arachnodaktylia</li> <li>dolichostenomelia</li> <li>stopa wydrążona</li> </ul>

MTHFR – reduktaza metylenotetrahydrofolianowa, MS (MTR) – syntaza metioninowa, MTRR – reduktaza sytazy metioniny, TCN2 – transkobalamina II, TS – syntaza tymidylanowa, CBS – β-syntaza cystationinowa, MTHFD1 – reduktaza metylenotetrahydrofolianowa, DHFR – reduktaza dihydrofolianowa

Również w grupie 149 kobiet hinduskich pokazano związek pomiędzy obecnością zmutowanych genotypów 677TT (WR=7,7) oraz 1298CC (WR=4,4) u matki a urodzeniem dziecka z zespołem Downa [38]. Biselli i wsp. wskazali, że podwyższone stężenie Hcy u matki koreluje ze wzrostem ryzyka zespołu Downa (Hcy >4,99 μmol/L). Stąd obecność niektórych polimorficznych wariantów genów związanych z metabolizmem folianów oraz podwyższonego stężenia Hcy u matki jest czynnikiem ryzyka wystąpienia zespołu Downa (dla genotypu 677TT MTHFR

WR=1,7, dla genotypu 1298CC WR=1,5) [39, 40]. W badaniach pochodzących z Włoch natomiast nie wykazano związku pomiędzy obecnością wariantów polimorficznych 677C>T MTHFR u matki a wystąpieniem zespołu Downa [41, 42].

## Podsumowanie

Powyższe badania w większości sugerują związek zmutowanych wariantów polimorficznych genów kodujących enzymy związane z metabolizmem folianów z wystąpieniem powikłań

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych.

u kobiet ciężarnych. Jednocześnie z badań populacyjnych wiadomo obecnie, że stosunkowo duży procent kobiet to nosicielki genotypów 677TT oraz 677CT genu MTHFR (ponad 50% populacji rasy białej), które narażone są na zaburzenia metabolizmu folianów i konsekwencje nieprawidłowego procesu przemian folianów w przebiegu ciąży [5]. Z drugiej strony częstość występowania samych tylko wad cewy nerwowej w populacji polskiej ocenia się na około 8-10 przypadków/10 000 żywych urodzeń. Natomiast urodzenia dzieci z zespołem Downa szacuje się na 1/800-1000, przy czym częstość ta zwiększa się znacznie u kobiet po 40 roku życia (1/60). W tym wypadku również szczególnej uwagi wymagają kobiety nosicielki genotypu homozygotycznego zmutowanego 677TT oraz 677CT genu MTHFR. Dodatkowo również uwarunkowana genetycznie aktywność innych enzymów cyklu folianów może mieć wpływ na przemianę folianów i wystąpienie powikłań u ciężarnych. W tym zakresie najczęściej badania dotyczą syntazy metioninowej (MS, MTR), syntazy tymidylanowej (TS), czy reduktazy dihydrofolianowej (DHFR). (Tabela II).

Stąd ciągle aktualny pozostaje problem właściwej suplementacji folianami kobiet planujących ciążę oraz kobiet ciężarnych. Obecnie szeroko rozpowszechniona jest suplementacja kwasem foliowym. Ze względu na znacznie obniżoną aktywność enzymu MTHFR u kobiet homozygot 677TT oraz heterozygot 677CT powinny być one suplementowane wyższymi dawkami folianów lub powinno się rozważyć u nich włączenie suplementacji metafoliną, ze względu na szereg właściwości, które pozwalają na szybkie dostarczenie organizmowi ciężarnej zredukowanych folianów. W świetle najnowszej wiedzy natomiast zwrócono uwagę na znaczenie suplementacji metafoliną (sól wapniowa kwasu L-5-MTHF). Metafolina omijając szlaki przemian jakim musi podlegać kwas foliowy przed ostateczną absorpcją do krwiobiegu i włączeniem do cyklu folianów w komórkach, jest z pewnością cennym uzupełnieniem suplementacji kobiet ciężarnych w tym zakresie [43].

## Piśmiennictwo

- Frankenburg F. Folate supplementation: it safe and effective? *J Clin Psychiatry*. 2009, 70, 767-769.
- Fekete K, Berti C, Cetin I, [et al.]. Perinatal folate supply: relevance in health outcome parameters. *Matern Child Nutr*. 2010, 6, 23-38.
- Tamura T, Picciano F. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr*. 2006, 83, 993-1016.
- Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, [et al.]. Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. *Z Kardiol*. 2004, 93, 439-453.
- Ueland P, Hustad S, Schneede J, [et al.]. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci*. 2001, 22, 195-201.
- Ilhan N, Kucuksu M, Kaman D, [et al.]. The 677 C/T MTHFR polymorphism is associated with essential hypertension, coronary artery disease, and higher homocysteine levels. *Arch Med Res*. 2008, 39, 125-130.
- Parle-McDermott A, Kirke PN, Mills J, [et al.]. Confirmation of the R653Q polymorphism of the trifunctional C1-synthase enzyme as a maternal risk for neural tube defects in the Irish population. *Eur J Hum Genet*. 2006, 14, 768-772.
- Kang H, Choe B, Kim S, [et al.]. No Association Between Functional Polymorphisms in COMT and MTHFR and Schizophrenia Risk in Korean Population. *Epidemiol Health*. 2010, 32, e2010011. doi:10.4178/epih/e2010011.
- De Marco P, Merello E, Calevo M, [et al.]. Evaluation of a methylenetetrahydrofolate-dehydrogenase 1958G>A polymorphism for neural tube defect risk. *J Hum Genet*. 2006, 51, 98-103.
- Pangilinan F, Molloy A, Mills J, [et al.]. Evaluation of common genetic variants in 82 candidate genes as risk factors for neural tube defects. *BMC Med Genet*. 2012, 62, 1-19.
- Slezak R, Łączmański Ł, Karpiński P, Reszczyńska-Slezak D. The role of 1691G>A (Leiden) mutation in Factor V gene, 20210G>A in prothrombin gene and 677C>T in MTHFR gene in etiology of early pregnancy loss. *Ginekol Pol*. 2011, 82, 446-450.
- Friso S, Choi S, Girelli D, [et al.]. A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002, 99, 5606-5611.
- Brody L, Conley M, Cox C, [et al.]. A polymorphism, R653Q, in the trifunctional enzyme methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methylenetetrahydrofolate cyclohydrolase/formyltetrahydrofolate synthetase is a maternal genetic risk factor for neural tube defects: report of the Birth Defects Research Group. *Am J Hum Genet*. 2002, 71, 1207-1215.
- Etheredge A, Finnell R, Carmichael S, [et al.]. Maternal and infant gene-folate interactions and the risk of neural tube defects. *Am J Med Genet A*. 2012, 158, 2439-2446.
- James S. Maternal metabolic phenotype and risk of Down syndrome: beyond genetics. *Am J Med Genet A*. 2004, 15, 127, 1-4.
- Medica I, Maver A, Augusto G, [et al.]. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome – meta-analysis. *Cent Eur J Med*. 2009, 4, 395-408.
- Neagos D, Cretu R, Tutulan-Cunita A, [et al.]. Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD) enzyme polymorphism as a maternal risk factor for trisomy 21: a clinical study. *J Med Life*. 2010, 3, 454-457.
- Seremak-Mrozikiewicz A. Significance of genetic polymorphism investigations in pregnancy complications. *Arch Perinatal Med*. 2013, 19, 7-11.
- Frosst P, Blom H, Milos R, [et al.]. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995, 10, 111-113.
- Franco R, Araújo A, Guerreiro J, [et al.]. Analysis of the 677 C->T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups. *Thromb Haemost*. 1998, 79, 119-121.
- Bauduer F, Lacombe D. Factor V Leiden, prothrombin 20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 677T, and population genetics. *Mol Genet Metab*. 2005, 86, 91-99.
- Lopaciuk S, Bykowska K, Kwieciński H, [et al.]. Factor V Leiden, prothrombin gene G20210A variant, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype in young adults with ischemic stroke. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2001, 7, 346-350.
- Waśkiewicz A, Piotrowski W, Broda G, [et al.]. Impact of MTHFR C677T gene polymorphism and vitamins intake on homocysteine concentration in the Polish adult population. *Kardiol Pol*. 2011, 69, 1259-1264.
- Seremak-Mrozikiewicz A, Borowczak P, Barlik M, Drews K, Kurzwirska G, Kraśnik W, [et al.]. Frequency of 677C>T polymorphism of MTHFR gene in general population of women from Wielkopolska region. *Arch Perinat Med*. 2013, 19, 12-17.
- Crider K, Zhu J, Hao L, [et al.]. MTHFR 677C->T genotype is associated with folate and homocysteine concentrations in a large, population-based, double-blind trial of folic acid supplementation. *Am J Clin Nutr*. 2011, 93, 1365-1372.
- Szamosi S, Csiki Z, Szomják E, Abbrd-Filho M. Plasma homocysteine levels, the prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and macrovascular disorders in systemic sclerosis: risk factors for accelerated macrovascular damage? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009, 36, 145-149.
- Biselli P, Sanches de Alvarenga M, [et al.]. Effect of folate, vitamin B6, and vitamin B12 intake and MTHFR C677T polymorphism on homocysteine concentrations of renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2007, 39, 3163-3165.
- Kawamoto R, Kohara K, Oka Y, Biorn H. An association of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2005, 14, 67-74.
- Nelen W, Steegers E, Eskes T, [et al.]. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet*. 1997, 350, 861-865.
- Murphy R, Donoghue C, Nallen R, [et al.]. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000, 20, 266-270.
- Nelen W, Bloom H, Steegers E, [et al.]. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2000, 74, 1196-1199.
- Mitrouli N, Zammiti W, Ghazouani L, [et al.]. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. *Reproduction*. 2006, 131, 395-401.
- Wu X, Zhao L, Zhu H, [et al.]. Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012, 16, 806-811.
- Nair R, Khanna A, Singh K. MTHFR C677T polymorphism and recurrent early pregnancy loss risk in north Indian population. *Reprod Sci*. 2012, 19, 210-215.
- Ren A, Wang J. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and the risk of unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2006, 86, 1716-1722.
- Hohlgeschwandtner M, Unfried G, Heinze G, [et al.]. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2003, 79, 1141-1148.
- James S, Pogribna M, Pogribny I, [et al.]. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr*. 1999, 70, 495-501.
- Rai A, Singh S, Mehta S, [et al.]. MTHFR C677T and A1298C polymorphisms are risk factors for Down's syndrome in Indian mothers. *J Hum Genet*. 2006, 51, 278-283.
- Biselli J, Goloni-Bertollo E, Zampieri B, [et al.]. Genetic polymorphisms involved in folate metabolism and elevated plasma concentrations of homocysteine: maternal risk factors for Down syndrome in Brazil. *Genet Mol Res*. 2008, 22, 33-42.

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych.

40. Biselli J, Zampieri B, Goloni-Bertolo E, [et al.]. Genetic polymorphisms modulate the folate metabolism of Brazilian individuals with Down syndrome. *Mol Biol Rep.* 2012, 39, 9277-9284.
41. Pozzi E, Vergani P, Dalpra L, [et al.]. Maternal polymorphisms for methyltetrahydrofolate reductase and methionine synthetase reductase and risk of children with Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2009, 200, 636-642.
42. Coppede F, Colognato R, Migliore L. MTHFR and RFC-1 gene polymorphisms and the risk of Down syndrome in Italy. *Am J Med Genet A.* 2007, 143, 1018-1019.
43. Pietrzik K, Bailey L, Shane B. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet.* 2010, 49, 535-548.
44. Mutchinick O, López M, Luna L, [et al.]. High prevalence of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab.* 1999, 68, 461-467.
45. Sadewa A, Sunarti A, Sutomo R, [et al.]. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among the Indonesian Javanese population. *Kobe J Med Sci.* 2002, 48, 137-144.
46. Li X, Wei Y, Hao H, [et al.]. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T mutation in Budd-Chiari syndrome. *Am J Hematol.* 2002, 71, 11-14.
47. de Bree A, Verschuren W, Björke-Monsen A, [et al.]. Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Clin Nutr.* 2003, 77, 687-693.
48. Lovrićević I, Franjić B, Tomić M, [et al.]. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677 C -> T genetic polymorphism in 228 Croatian volunteers. *Coll Antropol.* 2004, 28, 647-654.
49. Yang Q, Botto L, Gallagher M, [et al.]. Prevalence and effects of gene-gene and gene-nutrient interactions on serum folate and serum total homocysteine concentrations in the United States: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey DNA Bank. *Am J Clin Nutr.* 2008, 88, 232-246.
50. Küry S, Buecher B, Robiou-du-Pont S, [et al.]. Low-penetrance alleles predisposing to sporadic colorectal cancers: a French case-controlled genetic association study. *BMC Cancer.* 2008, 8, 326-333.

KOMUNIKAT



Sekcja Terapii Płodu  
Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego



## AKTUALNE MOŻLIWOŚCI TERAPII WEWNĄTRZMACICZNEJ PŁODU

20 kwietnia 2013

Hotel Holiday Inn  
ul. Piotrkowska 229/231, Łódź

PRZEWODNICZĄCY KOMITETU NAUKOWEGO:

**Dr hab. n. med. Piotr Kaczmarek**

Zakład Ultrasonografii Położniczo-Ginekologicznej,  
Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi  
Przewodniczący Sekcji Terapii Płodu Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego

WSPÓŁPRZEWODNICZĄCY KOMITETU NAUKOWEGO:

**Prof. dr hab. n. med. Przemysław Oszukowski**

Klinika Perinatologii i Ginekologii,  
Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi  
Prezes Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego

**Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Szaflik**

Klinika Rozrodczości i Terapii Płodu,  
Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi

### TEMATY WIODĄCE KONFERENCJI:

aktualne możliwości terapii wewnątrzmacicznej płodu,  
terapia wewnątrzmaciczna w Polsce,  
wymagania do zastosowania terapii  
wewnątrzmacicznej,  
prawne aspekty terapii wewnątrzmacicznej i innych  
trudnych decyzji położniczych

Udział w konferencji honorowany jest **20 punktami**  
Sekcji Ultrasonografii PTG.

## Serdecznie zapraszamy.

Szczegółowe informacje na temat konferencji znajdą Państwo  
na stronie [www.grupamedica.pl](http://www.grupamedica.pl)