

УДК: 575.616

**Полиморфизм С677Т гена *MTHFR* у больных псориазом**  
А.М.Федота<sup>1</sup>, П.П.Рижко<sup>2</sup>, Л.В.Рощенюк<sup>2</sup>, В.М.Воронцов<sup>2</sup>, А.С.Солодянкин<sup>3</sup>,  
Е.А.Солодянкина<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)

<sup>2</sup>Харьковский областной клинический кожно-венерологический диспансер №1 (Харьков, Украина)

<sup>3</sup>ННЦ Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины (Харьков, Украина)

На образцах ДНК 126 больных псориазом и 88 здоровых людей исследован однонуклеотидный полиморфизм С677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*). Частота аллеля С в группе здоровых людей составила 0,716, аллеля Т – 0,284. В группе больных псориазом частоты аллелей С и Т составили 0,659 и 0,341 соответственно. У больных по сравнению с контролем наблюдается избыток гетерозигот – 50,8% против 34,1%. Гетерозиготность по полиморфизму С677Т является фактором повышенного риска развития псориаза.

**Ключевые слова:** псориаз, полиморфизм С677Т, ген *MTHFR*.

**Поліморфізм С677Т гена *MTHFR* у хворих на псоріаз**  
О.М.Федота, П.П.Рижко, Л.В.Рощенюк, В.М.Воронцов, О.С.Солодянкин, О.О.Солодянкина

На зразках ДНК 126 хворих на псоріаз та 88 здорових осіб досліджено однонуклеотидний поліморфізм С677Т гена метилентетрагидрофолатредуктази (*MTHFR*). Частота алелів С в групі здорових осіб складає 0,716, алелів Т – 0,284. Серед хворих на псоріаз частоти алелів С і Т склали 0,659 і 0,341 відповідно. У хворих порівняно з контролем підвищена питома вага гетерозигот – 50,8% проти 34,1%. Гетерозиготність за поліморфізмом С677Т є фактором підвищеного ризику розвитку псоріазу.

**Ключові слова:** псоріаз, поліморфізм С677Т, ген *MTHFR*.

**C677T polymorphism of *MTHFR* gene in psoriasis patients**  
A.M.Fedota, P.P.Ryzhko, L.V.Roshenyuk, V.M.Vorontsov, A.S.Solodyankin, Ye.S.Solodyankina

DNA samples from 126 psoriasis patients and 88 normal controls were studied for single nucleotide polymorphism C677T of *MTHFR* gene. In patients allele frequencies were: C – 0,659, T – 0,341, in controls – C – 0,716, T – 0,284 respectively. In comparison with control psoriatic patients had more heterozygotes CT – 50,8% vs 34,1%. This investigation has suggested that heterozygosity for single nucleotide polymorphism C677T of *MTHFR* gene may be the potential factor for development of psoriasis in Ukrainian population.

**Key words:** psoriasis, polymorphism C677T, *MTHFR* gene.

**Введение**

Проблема персонафицированной фармакотерапии в настоящее время особенно актуальна для частых мультифакториальных заболеваний, отличающихся клиническим полиморфизмом (Генетический паспорт ..., 2004). Псориаз является распространенным мультифакториальным генодерматозом (Рижко и др., 2004), различные формы которого приводят не только к инвалидизации больных, но и к нарушениям их социально-психологической адаптации. В мировой литературе представлены не только варианты различных моделей его наследования, но и ряд кандидатных генов (Borgiani et al., 2002; Giardina et al., 2004; Kauffman et al., 2004; Nair et al., 2006); однако механизмы реализации этих генов в «псориатический фенотип» до сих пор не представлены. Генетическая гетерогенность, очевидно, и объясняет клинический полиморфизм псориаза, поэтому не существует единого успешного подхода при лечении различных его форм. В связи с этим было бы актуально рассмотреть ассоциации генов и их функционально значимых аллельных вариантов, обеспечивающие важнейшие метаболические процессы организма, с псориазом. В мировой литературе для генодерматозов не представлены данные о результатах исследований полиморфизмов генов фолатного обмена, являющихся факторами риска развития нарушений с широким спектром клинических симптомов.

Ген метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*, methylenetetrahydrofolate reductase, 1p36.3, OMIM 607093) расположен в локусе р36.3 длинного плеча 1-й хромосомы. *MTHFR* играет ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты. Наиболее изученным является однонуклеотидный

полиморфізм гена *MTHFR*, представляючий собою заміну цитозина (С) в позиції 677 на тимін (Т). У гомозигот по поліморфному алелю Т в позиції 677 гена *MTHFR* відзначається термолабільність фермента і зниження його активності до 35% від середнього значення, що приводить до надмірного накопленню гомоцистеїну в плазмі крові (Guttormsen et al., 1996; Ioannidis et al., 2004). В наші часи відомо, що гіпергомоцистеїнемія є фактором ризику розвитку ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда, атеросклероза, атеротромбоза, ускладнень вагітності (Zetterberg et al., 2002), приводячим до вродженим порокам розвитку (Doolin et al., 2002), предраковим і раковим стаянням колоректальної області (Martin et al., 2006). Як суттєві компоненти високого ризику аденоматоза, показані носільство алелю Т в гомо- або гетерозиготному стаянні, фолатний статус і куріння. Табакокуріння і вжиття кави є відомими факторами, знижуючими рівень фолатів і приводячими до гіпергомоцистеїнемії.

Полиморфізми генів фолатного обміну формують, крім описаних вище ефектів, неоднакову чутливість до ліків і мають фармакогенетичне значення. Відомо, що поліморфізм С677Т впливає на ефективність застосування протипухлинних засобів з групи антиметаболітів, наприклад фторурацилу, метотрексату (Toffoli et al., 2003; Fernández-Peralta et al., 2010). Останній є цитостатичним засобом групи антиметаболітів – аналогом фолієвої кислоти і застосовується при лічінні важких форм псоріазу. Оскільки корекцію гіпергомоцистеїнемії звичайно проводять поступленням кофакторів, необхідних для метаболізму гомоцистеїну (фолієва кислота, вітаміни В1, В6, В12), які також використовуються при лічінні псоріазу, можна передположити, що генотипування по поліморфізму С677Т дозволить виділити різні генотипи як предиктори або прогностичні параметри фармакогенетичного ефекту у кожного хворого, що дозволить розвивати персоналізовану фармакотерапію пацієнтів.

Між тим, будь-які дослідження, що стосуються виявлення зв'язу поліморфізму з захворюваннями, розрахунок величин відносного ризику розвитку захворювання, повинні бути ґрунтовані на даних про частоту алелів і генотипів в кожній конкретній популяції (Атраментова і др., 2010), дослідженню чого і присвячена ця робота.

### Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження послужили зразки периферическої крові 126 хворих з різними формами псоріазу, знаходячись на диспансерному учеті в ХОККВД №1, що складають основну групу. Контролем служили зразки периферическої крові 88 жителів Харківської області без ознак псоріазу і інших важких хронічних захворювань, подібно віковий розподіл яких відповідає розподілу у пробандів. Від усіх учасників дослідження або їх родичів було отримано письмове згоду на участь в цій роботі. Виділення ДНК проводилося з допомогою наборів для екстракції ДНК Diatom DNA Prep 100 виробництва фірми Isogene Lab.Ltd (Москва, Російська Федерація). Реакція ампліфікації проведена з використанням наборів GenPak *MTHFR* PCR test виробництва фірми Isogene Lab.Ltd на термоциклері BIOMETRA T3000 за стандартною методикою виробителя.

Електрофоретичний аналіз проведено з допомогою наборів для електрофорезу виробництва фірми АмпліСенс (Москва, Російська Федерація), в 2% агарозному гелі. Маркером молекулярної маси служила ДНК Ladder M50.

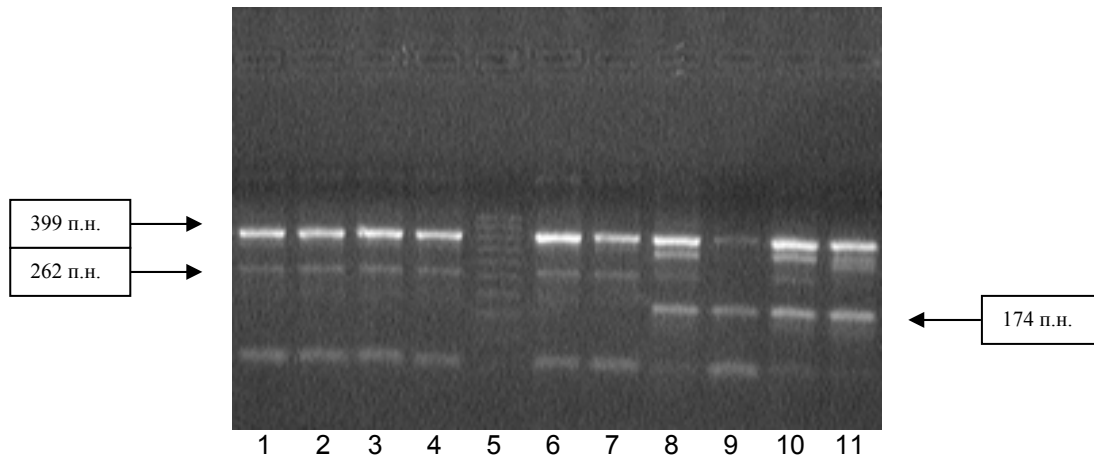
Полоси ПЦР продукту інтерпретувалися наступним чином: 399 п.н. – внутрішній контроль, 262 п.н. – дикий тип, аллель С, 174 п.н. – мутантний аллель Т. Приклад електрофореграми представлений на рис. 1.

Різниця частот генотипів оцінювалася з допомогою ф-перетворення Фішера шляхом кутовий трансформації. Перевірка статистичних гіпотез про асоціацію вивчених алелів і генотипів з захворюванням і оцінка рівності рядів розподілу проведена з допомогою критерію  $\chi^2$  на рівні значимості 0,05, 0,01 і 0,001 (Атраментова, Утєвська, 2007). Відносний ризик і довірливий інтервал розраховані за Armitage, Berry, 1994.

### Результати і обговорення

В ході дослідження розраховані частоти алелів С677 і 677Т гена *MTHFR* у хворих псоріазом і осіб контрольної групи (табл. 1). Отримані результати порівняємо з даними літератури для інших європейських популяцій. Так, наприклад, частота алелю Т складала для американців європейського (n=101) і африканського (n=102) походження 0,3 і 0,1 відповідно (McAndrew et al., 1996), в Середземномор'ї – від 0,03–0,08 у африканців (n=382) до 0,37–0,43 у сардинців (n=395) і 0,42–0,46 у сицилійців (n=374) (Chillemi et al., 2005). В Україні для пацієнтів

харьковского специализированного медико-генетического центра частота аллеля Т составила 0,07 (Гречанина, Гусар, 2010).



**Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР специфической последовательности ДНК, генотипированной по SNP полиморфизму С677Т гена *MTHFR***

Примечание: 1–4, 6–7 – гомозиготы по аллелю С; 5 – маркер молекулярной массы; 8, 10 – гетерозиготы СТ; 9, 11 – гомозиготы по аллелю Т.

Результаты генотипирования, представленные в табл. 1, показывают, что группа больных псориазом и контрольная группа по частотам аллелей С677 и 677Т не имеют статистически значимых различий. Однако реализация генов в тот или иной фенотип происходит в диплоидном наборе, при взаимодействии двух аллелей, и отсутствие различий по частотам аллелей еще не может служить характеристикой нейтральности полиморфизма.

**Таблица 1.**

**Частоты аллелей С677 и 677Т гена *MTHFR* у больных и лиц контрольной группы**

Группа		Статистика
пробанды	контроль	
$P_C=0,658$ $p_T=0,341$	$P_C=0,716$ $p_T=0,284$	$df=1, \chi^2 \text{ ст}=3,84, \chi^2 \text{ ф}=0,016$ $p>0,05$

Поскольку контрольную группу составляют представители обоих полов различного возраста, проживающие на территории Харькова и области, ее можно рассматривать как выборку из населения. На основании частот анализируемых аллелей получено теоретическое число генотипов для панмиксной популяции. Структура популяции соответствует соотношению Харди-Вайнберга, фактическое распределение генотипов статистически значимо не отличается от теоретически ожидаемого при равновесии ( $df=2, \chi^2 \text{ ст}=5,99, \chi^2 \text{ ф}=2,49, p>0,05$ ) (табл. 2).

**Таблица 2.**

**Распределение генотипов СС, СТ, ТТ гена *MTHFR* у лиц контрольной группы**

Распределение	ТТ		СТ		СС	
	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
фактическое	10	11,4	30	34,1	48	54,6
теоретическое	7	8,0	36	40,9	45	51,1

Полученная информация о частотах аллелей и генотипов по исследуемому гену может быть использована для анализа структуры популяции и процессов, которые в ней происходят, поскольку в различных популяциях, этнических группах и климатогеографических зонах эти параметры неодинаковы. Так, по данным Wilcken et al., 2003, генотип ТТ наиболее часто встречается в северном

Китае (20%), южной Италии (26%), Мехико (32%). Имеются данные о распределении частот генотипов среди детей от 2 до 12 лет в Украине, которое составило для генотипов CC, CT, TT 58%, 38% и 4% соответственно (Горовенко та ін., 2010). Однако неоднозначность приводимых в литературе результатов генетического тестирования по гену *MTHFR* требует анализа и является темой отдельного исследования.

Анализ рядов распределения исследуемых генотипов у здорового населения и больных псориазом показал статистически значимую разницу ( $df=2$ ,  $\chi^2$  ст=5,99,  $\chi^2$  ф=38,79,  $p<0,001$ ) между ними (табл. 3). Среди больных доля гетерозигот выше, чем в контрольной группе ( $df=172$ ,  $t$  ст=2,58,  $t$  ф=2,60,  $p<0,01$ ). Вероятно, это объясняется тем, что аллель С обеспечивает восстановление активной формы фолиевой кислоты, играющей важную роль в процессах метилирования ДНК, обеспечивающих стабильность генома. Аллель Т, с другой стороны, приводит к избыточному накоплению в плазме крови гомоцистеина, как предшественника цистеина.

**Таблица 3.**  
**Распределение генотипов CC, CT, TT гена *MTHFR* у пробандов и здоровых людей**

Распределение	TT		CT		CC	
	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
контроль	10	11,4	30	34,1	48	54,6
пробанды	11	8,7	64	50,8	51	40,5

Для прогнозирования вероятности развития псориаза для каждого генотипа вычислено отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (ДИ). Для гетерозигот C677T вероятность заболеть псориазом увеличивается в 2 раза (OR=2,00, 95% ДИ 1,13–3,46,  $p<0,05$ ), чем в среднем в популяции. Для обнаруженных больных псориазом гомозигот TT (8,7%) можно ожидать развития побочных эффектов при применении метотрексата, так как последний необратимо связывается с дигидрофолатредуктазой, что препятствует восстановлению дигидрофолата в активный тетрагидрофолат, образование которого нарушено у гомозигот по аллелю 677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы. Таким образом, проблема персонифицированной фармакотерапии особенно актуальна для частых мультифакториальных заболеваний, отличающихся клиническим полиморфизмом.

### Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность заведующему лабораторией молекулярной диагностики ННЦ «ИЭКВМ» А.П.Герилевичу за поддержку при выполнении исследования.

### Список литературы

- Атраментова Л.А., Полторак В.В., Тыжненко Т.В. и др. Однонуклеотидный полиморфизм +276 GT гена адипонектина (ARM1) у доноров Харькова // Цитология и генетика. – 2010. – №6. – С. 40–44. /Atramentova L.A., Poltorak V.V., Tyzhnenko T.V. i dr. Odnonukleotidnyy polimorfizm +276 GT gena adiponektina (ARM1) u donorov Khar'kova // Tsitologiya i genetika. – 2010. – №6. – S. 40–44/
- Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Харків, 2007. – 288с. /Atramentova L.O., Utievs'ka O.M. Statystychni metody v biologii. – Kharkiv, 2007. – 288s./
- Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С.Баранова. – СПб: Изд-во Н-Л, 2009. – 528с. /Geneticheskij pasport – osnova individual'noy i prediktivnoy meditsiny / Pod red. V.S.Baranova. – SPb: Izd-vo N-L, 2009. – 528s./
- Горовенко Н.Г., Ольхович Н.В., Россоха З.І. та ін. Вплив поліморфізму C677T гену MTHFR на фолатний статус та рівень гомоцистеїну в сироватці крові у дітей з когнітивними розладами // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. – Київ-Луганськ, 2010. – С. 61–70. /Gorovenko N.G., Ol'khovich N.V., Rossoha Z.I. ta in. Vplyv polimorfizmu C677T genu MTHFR na folatnyy status ta riven' gomotsisteinu v syrovattsi krovii u ditey z kognityvnymy rozladamy // Aktual'ni problemy akusherstva i ginekologii, klinichnoi imunologii ta medychnoi genetyky. – Kyiv-Lugans'k, 2010. – S. 61–70/
- Гречанина Е.Я., Гусар В.А. Распространенность полиморфизмов C677T MTHFR и A66G MTRR генов системы фолатного цикла в популяциях восточной Украины // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. – Київ-Луганськ, 2010. – С. 91–97. /Grechanina E.Ya., Gusar V.A. Rasprostranennost' polimorfizmov C677T MTHFR i A66G MTRR genov sistemy folatnogo tsikla v populyatsiyakh vostochnoy Ukrainy // Aktual'ni problemy akusherstva i ginekologii, klinichnoi imunologii ta medychnoi genetyky. – Kyiv-Lugans'k, 2010. – S. 91–97/

- Рыжко П.П., Федота А.М., Воронцов В.М. Генодерматозы: буллёзный эпидермолиз, ихтиоз, псориаз. – Харьков: Фолио, 2004. – 334с. /Ryzhko P.P., Fedota A.M., Voroncov V.M. Genodermatozy: bulleznyy epidermoliz, ihtioz, psoriaz. – Khar'kov: Folio, 2004. – 334s./
- Armitage P., Berry G. Statistical methods in medical research. 3<sup>rd</sup> ed. – Blackwell Scientific Publications, 1994. – 620p.
- Borgiani P., Vallo L., D'Apice M. R. et al. Exclusion of CARD15/NOD2 as a candidate susceptibility gene to psoriasis in the Italian population // *Europ. J. Derm.* – 2002. – №12. – P. 540–542.
- Chillemi R., Angius A., Persico I. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) from Mediterranean to Sub-Saharan areas // *Online Journal of Biological Sciences.* – 2005. – №1 (6). – P. 28–34.
- Doolin M.-T., Barbaux S., McDonnell M. et al. Maternal genetic effects, exerted by genes involved in homocysteine remethylation, influence the risk of spina bifida // *Am. J. Hum. Genet.* – 2002. – №71. – P. 1222–1226.
- Fernández-Peralta A.M., Daimiel L., Nejda N. et al. Association of polymorphisms MTHFR C677T and A1298C with risk of colorectal cancer, genetic and epigenetic characteristic of tumors, and response to chemotherapy // *Int. J. Colorectal Dis.* – 2010. – №25 (2). – P. 141–151.
- Giardina E., Capon F., De Rosa M.C. et al. Characterization of the loricrin (LOR) gene as a positional candidate for the PSORS4 psoriasis susceptibility locus // *Ann. Hum. Genet.* – 2004. – №68. – P. 639–645.
- Guttormsen A.B., Ueland P.M., Nesthus I. et al. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (> or = 40 micromol/liter). The Hordaland Homocysteine Study // *J. Clin. Invest.* – 1996. – №98 (9). – P. 2174–2183.
- Ioannidis J.P., Ntzani E.E., Trikalinos T.A. 'Racial' differences in genetic effects for complex diseases // *Nat. Genet.* – 2004. – №36 (12). – P. 1243–1244.
- Kauffman C.L., Aria N., Toichi E. et al. A phase I study evaluating the safety, pharmacokinetics, and clinical response of a human IL-12p40 antibody in subjects with plaque psoriasis // *J. Invest. Derm.* – 2004. – №123. – P. 1037–1044.
- Martin D.N., Boersma B.J., Howe T.M. et al. Association of MTHFR gene polymorphisms with breast cancer survival BMC // *Cancer.* – 2006. – №6. – P.257.
- McAndrew P.E., Brandt J.T., Pearl D.K., Prior T.W. The incidence of the gene for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase in African Americans // *Thromb Res.* – 1996. – №83 (2). – P. 195–198.
- Nair R.P., Stuart P.E., Nistor I. et al. Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene // *Am. J. Hum. Genet.* – 2006. – №78. – P. 827–851.
- Toffoli G., Russo A., Innocenti F. et al. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T polymorphism on toxicity and homocysteine plasma level after chronic methotrexate treatment of ovarian cancer patients // *Int. J. Cancer.* – 2003. – №103 (3). – P. 294–299.
- Wilcken B., Bamforth F., Li Z. et al. Geographical and ethnic variation of the 677C-T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide // *J. Med. Genet.* – 2003. – №40. – P. 619–625.
- Zetterberg H., Regland B., Palmér M. et al. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2002. – №10 (10). – P. 578–579.

**Представлено: Т.В.Тижненко / Presented by: T.V.Tyzhnenko**

**Рекомендовано до друку: Є.Е.Перським / Recommended for publishing by: Ye.E.Persky**

*Подано до редакції / Received: 15.10.2010.*