

УДК 575. 164

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА G742A ГЕНА *VHMT* У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

А.М. ФЕДОТА¹, Л.В. РОЩЕНЮК², А.В. АДМАКИНА^{1,3}, И.В. ГОРАЙЧУК⁴

¹Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина МОН Украины
 Украина, 61077, г. Харьков, пл. Свободы, 4
 e-mail: afedota@mail.ru

²Харьковский областной клинический кожно-венерологический диспансер №1
 Украина, 61000, г. Харьков, ул. Карла Маркса, 17
 e-mail: okkvd1@gmail.com

³ Национальный фармацевтический университет
 Украина, 61000, г. Харьков, ул. Блюхера, 4
 e-mail: lyollia@mail.ru

⁴ННЦ Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины
 Украина, 61023, г. Харьков, ул. Пушкинская, 83
 e-mail: goraichuk@ukr.net

Цель. Анализ однонуклеотидного полиморфизма G742A гена бетаин-гомоцистеинметилтрансферазы S (*VHMT*) у больных псориазом в восточно-украинской популяции. **Методы.** Генеалогическая информация получена о 72 пробандах и 60 лицах контрольной группы. Молекулярно-генетический анализ проведен методами ПЦР-ПДРФ. Проверка статистических гипотез об ассоциации изученных генотипов с заболеванием и оценка равенства рядов распределения проведена с помощью критерия χ^2 на уровне значимости 0,05, 0,01 и 0,001. **Результаты.** Результаты генотипирования показали, что частоты аллелей и генотипов в контрольной группе составили: $p_G = 0,70$, $q_A = 0,30$, GG – 45,0 %, GA – 50,0 %, AA – 5,0 %, у больных псориазом – $p_G = 0,743$, $q_A = 0,257$, GG – 50,0 %, GA – 48,6 %, AA – 1,4 %, соответственно. Фактическое распределение генотипов по полиморфному варианту G742A гена *VHMT* статистически значимо отличается от теоретически ожидаемого при равновесии в общей группе больных ($p < 0,001$). Распределение частот генотипов в общей выборке больных и в группе контроля выявило статистически значимую разницу между ними ($p = 0,007$). Частота генотипа AA в контрольной группе выше, чем среди больных псориазом, не осложненным артропатией (5,0 % против 2,2 %, $p = 0,029$). В группе пациентов с возрастом начала заболевания до 25 лет фактическое распределение генотипов по полиморфному варианту G742A статистически значимо отличается от теоретически ожидаемого при равновесии ($p < 0,01$). **Заключение.** Результаты исследования полиморфного варианта G742A гена *VHMT* у больных псориазом, в том числе более низкая частота гомозигот по аллелю A среди больных, показали возможность их дальнейшего учета при планировании профилактических и лечебных мероприятий.

Ключевые слова: псориаз, одноуглеродный метаболизм, фолиевая кислота, гомоцистеин, метионин, бетаин-гомоцистеинметилтрансфераза S.

Введение. Исследования генов одноуглеродного метаболизма (one-carbon metabolism genes) представляют особый интерес, так как последний лежит в основе многих процессов жизнедеятельности организма, и его нарушения отмечают при врожденных пороках развития [1], осложнениях беременности [2], сердечно-сосудистых заболеваниях [3], дерматозах [3], различных видах рака [4], нейродегенеративных расстройствах [5], мужском бесплодии [6].

Ген бетаин-гомоцистеинметилтрансферазы S (*VHMT*, betaine-homocysteine S-methyltransferase, 5q14.1, OMIM 602888), расположен в локусе q14.1 короткого плеча 5-й хромосомы. Бетаин-гомоцистеинметилтрансфераза S является цитозольным ферментом, катализирующую

© А.М. ФЕДОТА, Л.В. РОЩЕНЮК, А.В. АДМАКИНА, И.В. ГОРАЙЧУК, 2015

щим превращение гомоцистеина и бетаина в диметилглицерил и метионин [5]. Наиболее изученным SNP гена *BHMT* является однонуклеотидный полиморфизм G742A (rs3733890). У гомозигот по аллелю А в позиции 742 отмечается снижение активности фермента на 60 % от среднего значения, что приводит не только к нарушению метаболизма фолатов, но и к избыточному накоплению гомоцистеина и снижению уровня фолиевой кислоты в плазме крови [7, 8]. Гипергомоцистеинемия может приводить к фрагментации ДНК и повреждению клеточных мембран [5].

Для отдельных генов фолатного обмена показаны этнические и географические особенности распределения частот аллелей и генотипов, поэтому исследования генов одноуглеродного метаболизма актуально проводить в каждой конкретной популяции. Поскольку *BHMT* обеспечивает альтернативный путь преобразования гомоцистеина в метионин и отвечает за процессы реметилирования в организме человека [5], представляет интерес исследование указанного полиморфного варианта у больных генодерматозами в восточно-украинской популяции для развития персонализированной фармакотерапии. В связи с этим анализ полиморфного варианта G742A гена *BHMT* у больных псориазом и стал целью данной работы.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы периферической крови 72 больных с различными формами псориаза, находящихся на диспансерном учете в Харьковском областном клиническом кожно-венерологическом диспансере № 1 (ХОККВД № 1) и 60 лиц контрольной группы. От всех участников исследования или их родственников было получено информированное согласие на участие в данной работе. Выделение ДНК проводилось с помощью наборов для экстракции «ДНК Diatom DNA Prep 100» («Isogene Lab. Ltd.»). Генотипирование полиморфного варианта G742A выполнено методом ПЦР-ПДРФ, с использованием однонуклеотидных праймеров и эндонуклеазы рестрикции MboII [8]. Электрофоретический анализ проведен с помощью наборов для электрофореза «АмплиСенс» в 2,5 % агарозном геле. Маркером молекулярной массы служила ДНК Ladder M50. Оценка равенства рядов распределения проведена с помощью критерия χ^2 на уровнях значимости 0,1, 0,05 и 0,001 [9, 10].

Результаты и обсуждение

Проведено исследование частот аллелей и генотипов по полиморфному варианту G742A гена *BHMT* в восточно-украинской популяции для лиц контрольной группы и больных с различными формами псориаза.

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфному варианту G742A гена *BHMT* у больных и лиц контрольной группы

Исследуемая группа	Частоты генотипов и аллелей			
	GG	GA	AA	p_G, p_A
Формы псориаза без артропатии (n=46)	24 (52,2 %)	21 (45,6 %)	1 (2,2 %)	$p_G=0,750, q_A = 0,250$
Псориаз артропатический (n=26)	12 (46,2 %)	14 (53,9 %)	0 (0 %)	$p_G=0,731, q_A = 0,269$
Псориаз в целом (n=72)	36 (50,0 %)	35 (48,6 %)	1 (1,4 %)	$p_G=0,743, q_A = 0,257$
Контроль (n=60)	27 (45,0 %)	30 (50,0 %)	3 (5,0 %)	$p_G=0,700, q_A = 0,300$

Таблица 2. Распределение генотипов AA, GA, GG по полиморфному варианту G742A гена *BHMT* у больных и лиц контрольной группы

Исследуемая группа	Распределение	Частоты генотипов					
		AA		GA		GG	
		Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Псориаз в целом	Фактическое	1	1,4	35	48,6	36	50,0
	Теоретическое	12	16,7	24	33,3	36	50,0
Контроль	Фактическое	3	5,0	30	50,0	27	45,0
	Теоретическое	10	16,7	20	33,3	30	50,0

Таблица 3. Распределение частот генотипов AA, GA, GG по полиморфному варианту G742A гена *VHMT* у больных в зависимости от возраста начала псориаза

Возраст начала заболевания	Распределение	AA		GA		GG	
		Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
0–25 лет	фактическое	0	0,0	21	48,8	22	51,2
	теоретическое	7	16,3	14	32,6	22	51,2
26–40 лет	фактическое	0	0,0	6	46,2	7	53,8
	теоретическое	2	15,4	7	53,8	4	30,8
41–55 лет	фактическое	2	28,6	4	42,9	2	28,6
	теоретическое	1	14,3	4	50,0	3	37,5
56–70 лет	фактическое	0	0,0	1	25,0	3	75,0
	теоретическое	1	25,0	2	50,0	1	25,0

Результаты генотипирования показали, что в контрольной группе частоты аллелей и генотипов составили: $pG = 0,70$, $q_A = 0,30$, $GG = 45,0\%$, $GA = 50,0\%$, $AA = 5,0\%$, соответственно. Фактическое распределение генотипов в группе контроля статистически значимо не отличается от теоретически ожидаемого при равновесии ($df=2$, $ст=13,82$, $\phi=10,20$, $p>0,001$).

Для больных псориазом в целом частоты аллелей и генотипов составили: $pG = 0,743$, $q_A = 0,257$, $GG = 50,0\%$, $GA = 48,6\%$, $AA = 1,40\%$, соответственно. Фактическое распределение генотипов при псориазе в целом статистически значимо отличается от теоретически ожидаемого при равновесии – структура популяции не соответствует соотношению Харди-Вайнберга ($df=2$, $ст=13,82$, $\phi=15,22$, $p<0,001$).

Исследование показало, что больные псориазом и лица контрольной группы по частотам аллелей G742 и 742A не имеют значимых различий. В то же время сравнение распределения частот генотипов при псориазе в целом и в контроле выявило статистически значимую разницу между ними ($p=0,007$).

Частота генотипа AA в контрольной группе выше, чем в группе больных с формами псориаза, не осложненными артропатией, $5,0\%$ против $2,2\%$ ($p = 0,029$), что предполагает продолжение исследований для анализа причин более низкой частоты генотипа, гомозиготного по низкофункциональному аллелю, у больных генодерматозом.

Средний возраст начала заболевания у больных псориазом составил $40,5 \pm 2,8$ лет при генотипе AA, $21,7 \pm 4,6$ года – при генотипе GA, для пробандов с генотипом GG – $25,9 \pm 3,11$ лет, при этом

значимой разницы между анализируемыми группами не выявлено ($p>0,05$).

В табл. 3 представлено распределение частот генотипов в различных группах больных псориазом в зависимости от возраста начала заболевания.

В группе больных с возрастом начала заболевания до 25 фактическое распределение генотипов по полиморфному варианту G742A статистически значимо отличается от теоретически ожидаемого при равновесии ($df=2$, $ст=9,21$, $\phi=10,50$, $p<0,01$).

По данным Xu X. et al. [11], распределение частот генотипов среди американцев сходно с полученными нами результатами – $GG = 47,8\%$: $GA = 41,2\%$: $AA = 11,1\%$, в выборке американок, больных раком молочной железы – $GG = 48,1\%$: $GA = 41,8\%$: $AA = 10,2\%$, разницы между больными и контролем авторами не было выявлено. По данным Radu A. P. et al. [6] и Cande V. A. et al. [2], генотип AA чаще всего встречается среди населения Испании ($13,6\%$) и Америки ($12,8\%$). Итальянские исследователи приводят распределение частот генотипов у больных с синдромом Дауна – $GG = 51,7\%$: $GA = 34,8\%$: $AA = 13,5\%$ [12]. Обнаружены ассоциации генотипов GA и AA по анализируемому SNP с плоскоклеточным раком у табакокурльщиков [13], с мужским бесплодием [6], не выявлены – с сердечно-сосудистыми патологиями [3]. В то же время данных, описывающих участие полиморфного варианта G742A гена *VHMT* в развитии псориаза, в литературе представлено мало, что открывает перспективы для дальнейших исследований генов одноуглеродного метаболизма при генодерматозах.

Выводы

Результати дослідження поліморфного варіанта G742A гена BHMT у больних псоріазом, в том числі, більш низка частота гомозигот по алелю А серед больних, показали можливість їх дальнішого урахування при плануванні профілактичних і лікувальних заходів.

Список литературы

1. 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. – Vol. 71. – P. 1222–1226.
2. Cande V. A., Elsasser D., Wendy L. K. et al. Polymorphisms in methionine synthase reductase and betaine-homocysteine S-methyltransferase genes: risk of placental abruption // *Mol Genet Metab.*, 2007. – Vol. 91, № 1. – P. 104–110.
3. Singh P.R., Lele S.S. Folate gene polymorphisms MTR A2756G, MTRR A66G, and BHMT G742A and risk for coronary artery disease: a meta-analysis // *Genet. Test Mol. Biomarkers.* – 2012. – Vol. 16, № 6. – P. 471–475.
4. Gibson T.M., Brennan P., Han S. et al. Comprehensive evaluation of one-carbon metabolism pathway gene variants and renal cell cancer risk // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, Iss. 10. – e26165.
5. Guttormsen A.B., Ueland P.M., Nesthus I. et al. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia. The Hordaland Homocysteine Study // *J. Clin. Invest.* – 1996. – Vol. 98, № 9. – P. 2174–2183.
6. Radu A. P., Farcaș M.F., Trifa A.P. et al. Association of betaine-homocysteine S-methyltransferase gene G742A SNP and male-fertility // *Revista Română de Medicină de Laborator.* – 2012. – Vol. 20. – P. 57–62.
7. Hooshmand B., Solomon A., Kåreholt I. et al. Serum homocysteine, holotranscobalamin, folate and cognition in the elderly: a longitudinal study // *J. Intern. Med.* – 2011. – Vol. 271, № 2. – P. 204–212.
8. Li F., Feng Q., Lee C. et al. Human betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT) and BHMT2: common gene sequence variation and functional characterization // *Mol. Genet. Metab.* – 2008. – Vol. 94, № 3. – P. 326–335.
9. Armitage P., Berry G. *Statistical methods in medical research.* 3rd ed. – Blackwell Scientific Publications, 1994. – 620 p.
10. Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Харків, 2007. – 288 с.
11. Xu X., Gammon M.D., Zhang H. et al. Polymorphisms of one-carbon-metabolizing genes and risk of breast cancer in a population-based study // *Carcinogenesis.* – 2007. – Vol. 28, № 7. – P. 1504–1509.
12. Biselli J.M., Zampieri B.L., Goloni-Bertollo E.M. et al. Genetic polymorphisms modulate the folate metabolism of Brazilian individuals with Down syndrome // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, № 10. – P. 9277–9284.
13. Wernimont S.M., Clark A.G., Stover P.J. et al. Folate network genetic variation, plasma homocysteine, and global genomic methylation content: a genetic association study // *BMC Med. Genet.* – 2011. – 12:150.

Представлена Л.Л. Лукаш
Поступила 27.05.2015

АНАЛІЗ ПОЛІМОРФНОГО ВАРІАНТА G742A ГЕНА BHMT У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ

О. М. Федота¹, Л. В. Рощенюк², А. В. Адмакіна^{1,3}, І. В. Горайчук⁴

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
МОН України

Україна, 61077, м. Харків, пл. Свободи 4

e-mail: afedota@mail.ru

²Харківський обласний клінічний шкірно-венерологічний
диспансер №1

Україна, 61000, м. Харків, вул. Карла Маркса, 17

e-mail: okkvd1@gmail.com

³Національний фармацевтичний університет МОЗ України

Україна, 61000, м. Харків, вул. Блюхера, 4

e-mail: lyollia@mail.ru

⁴ННЦ Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної
медицини

Україна, 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83

e-mail:goraichuk@ukr.net

Мета. Аналіз однонуклеотидного поліморфізму G742A гена бетаїн-гомоцистеїнметилтрансферази S (BHMT) у хворих на псоріаз у східно-українській популяції. **Методи.** Генеалогічна інформація була зібрана у 72 пробандів та 60 осіб контрольної групи. Аналіз ДНК проводився за допомогою ПЛР-ПДРФ. Перевірка статистичних гіпотез про асоціацію вивчених генотипів із захворюванням і оцінка рівності рядів розподілу проведена за допомогою критерію χ^2 на рівнях значущості 0,05, 0,01 і 0,001. **Результати.** Результати генотипування показали, що частоти алелів і генотипів в контрольній групі склали: pG = 0,70, qA = 0,30, GG – 45,0 %, GA – 50,0 %, AA – 5,0 %, у хворих на псоріаз – pG = 0,743, qA = 0,257, GG – 50,0 %, GA – 48,6 %, AA – 1,4 %, відповідно. Фактичний розподіл генотипів за поліморфними варіантами G742A гена BHMT статистично значуще відрізняється від теоретично очікуваного при рівновазі в загальній групі хворих ($p < 0,001$). Розподіл частот генотипів при псоріазі в цілому і в контролі показав статистично значущу різницю між ними ($p = 0,007$). Частота генотипу AA в контрольній групі вище, ніж у групі хворих на псоріаз, що не ускладнений на артропатію (5,0 % проти 2,2 %, $p = 0,029$). У групі хворих з віком початку захворювання до 25 років фактичний розподіл генотипів статистично значуще відрізняється від теоретично очікуваного при рівновазі для поліморфного варіанта G742A ($p < 0,01$). **Висновок.** Результати дослідження поліморфного варіанта G742A гена BHMT у хворих на псоріаз, у тому числі, більш низька частота гомозигот по алелю А серед хворих, показали можливість їх подальшого врахування при плануванні профілактичних і лікувальних заходів.

Ключові слова: псоріаз, одноуглеродний метаболізм, фолієва кислота, гомоцистеїн, метіонін, бетаїн-гомоцистеїнметилтрансфераза S.

ANALYSIS OF THE G742A POLYMORPHISM OF BHMT GENE IN PATIENTS WITH PSORIASIS

O.M. Fedota¹, L.B. Roshenyk², A.B. Admakina^{1,3}, I.V. Goraichuk⁴

¹V.N. Karazina Kharkiv National University
Ukraine, 61022, Kharkiv, Svoboda str., 4
e-mail: afedota@mail.ru

²Kharkiv Regional Clinical Skin and Venereal Diseases
Dispensary №1
Ukraine, 61000, Kharkiv, Karl Marx str, 17
e-mail: okkvd1@gmail.com

³National Pharmaceutical University
Ukraine, 61000, Kharkiv, Bluhera str., 4
e-mail: lyollia@mail.ru

⁴ National Scientific Centre «Institute an Experimental and
Clinical of Veterinary medicine»
Ukraine, 61023, Kharkiv, Pushkinska str., 83
e-mail:goraichuk@ukr.net

Aim. To analyse the single nucleotide polymorphism G742A in the gene of betaine homocysteine methyltransferase S (*BHMT*) in patients with psoriasis. **Methods.** Genealogical information is obtained for 72 probands and 60 persons of the control group. Molecular genetic analysis was performed by PCR-RFLP method. Statistical testing of hypothesis of association between the studied genotypes and disease occurrence, and

assessment of the equality of distribution series was conducted using χ^2 test at significance levels of 0.05, 0.01 and 0.001. **Results.** Genotyping showed that the allele and genotype frequencies in the control group were: p_G = 0,700, q_A = 0,30, GG – 45,0 %, GA – 50,0 %, AA – 5,0 %, while in patients with psoriasis – p_G = 0,743, q_A = 0,257, GG – 50,0 %, GA – 48,6 %, AA – 1,4 %. The actual distribution of genotypes was statistically different from the theoretically expected distribution of *BHMT* G742A polymorphism in general group of patients ($p < 0,001$). The frequency distribution of genotypes showed a statistically significant difference between the group of patients with psoriasis and control group ($p = 0.007$). The frequency of the AA genotype in the control group was higher than in the group of patients with psoriasis without arthropathy (5.0 % vs. 2.2 %, $p = 0.029$). For G742A polymorphism in patients with age of onset of the disease up to 25 years, the actual distribution of genotypes was significantly different from the theoretically expected at a balance ($p < 0,01$). **Conclusion.** The results of the *BHMT* G742A polymorphism study in patients with psoriasis, including a lower frequency of genotypes homozygous for allele A among patients, demonstrate the possibility of its further consideration in the planning of preventive and therapeutic measures.

Keywords: psoriasis, one carbon metabolism, folic acid, homocysteine, methionine, betaine homocysteine methyltransferase S.