<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-1-142-150>
УДК 616-002.78:575.174.015.3(571.54/.5)

Полиморфизм генов фолатного цикла у больных подагрой в популяции русских Забайкальского края

Н.Н. Кушнаренко, М.Ю. Мишко, Т.А. Медведев

Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации,
672090, Российская Федерация, Чита, ул. Горького, 39А

Аннотация

Цель: изучить распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов фолатного цикла (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298G, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) у больных подагрой и оценить их ассоциацию с риском развития заболевания.

Материал и методы. Обследованы 80 пациентов (69 мужчин и 11 женщин) с подагрой. Диагноз подагры выставлен согласно классификационным критериям ACR/EULAR, 2015. Материалом для исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной периферической крови. Все пациенты были генотипированы для выявления полиморфизма локусов генов метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) C677T, *MTHFR* A1298G, метионин-синтазы (*MTR*) A2756G, метионин-синтазы-редуктазы (*MTRR*) A66G. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистических программ STATISTICA 10,0.

Результаты. Полиморфизмы генов *MTHFR* C677T и *MTR* A2756G вовлечены в развитие подагры у индивидов русской этнической принадлежности в популяции Забайкальского края. Выявлены аллели и генотипы повышенного риска развития подагры: минорный аллель Т ($\chi^2 = 4,65$; $p = 0,03$; OR = 1,83; CI95% = 1,05–3,17) и генотип Т/Т ($\chi^2 = 6,5$; $p = 0,01$; OR = 5,94; CI95% = 1,3–27,00) локуса C677T гена *MTHFR*, минорный аллель G ($\chi^2 = 6,46$; $p = 0,01$; OR = 2,38; CI95% = 1,2–4,69) и генотип A/G гена *MTR* A2756G ($\chi^2 = 5,78$; $p = 0,01$; OR = 2,66; CI95% = 1,18–5,98), а также генотипы и аллели, обладающие протективным действием, – аллель С ($\chi^2 = 4,65$; $p = 0,03$; OR = 0,55; CI95% = 0,3–10,94) гена *MTHFR* C677T, а также аллель А ($\chi^2 = 6,46$; $p = 0,01$; OR = 0,42; CI95% = 0,21–0,83) и генотип А/А ($\chi^2 = 7,58$; $p = 0,006$; OR = 0,33; CI95% = 0,15–0,74) локуса A2756G гена *MTR*.

Заключение. В результате проведенного исследования обнаружены значительные различия в распределении частот генотипов и аллелей генов *MTHFR* C677T и *MTR* A2756G у больных подагрой по сравнению с контрольной группой. Наличие минорного аллеля Т и генотипа Т/Т гена *MTHFR* C677T, минорного аллеля G и генотипа A/G гена *MTR* A2756G ассоциировано с повышенным риском развития подагры, в то время как носительство аллеля С локуса C677T гена *MTHFR*, аллеля А и генотипа А/А гена *MTR* A2756G, вероятно, имеет протективный характер.

Ключевые слова:	подагра, мочевая кислота, генетический полиморфизм, фолатный цикл, <i>MTHFR</i> , <i>MTR</i> , <i>MTRR</i> .
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 74 от 06.11.2015 г.).
Для цитирования:	Кушнаренко Н.Н., Мишко М.Ю., Медведев Т.А. Полиморфизм генов фолатного цикла у больных подагрой в популяции русских Забайкальского края. <i>Сибирский медицинский журнал</i> . 2020;35(1):142–150. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-1-142-150 .

Polymorphism in folate cycle genes in patients with gout in the Russian population of Trans-Baikal Territory

Natalia N. Kushnarenko, Marina Yu. Mishko, Tatyana A. Medvedeva

Chita State Medical Academy,
39A, Gorky str., Chita, 672090, Russian Federation

Abstract

Objective. To study the frequency distribution of genotypes and alleles of polymorphic loci of folate cycle genes (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298G, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) in patients with gout and to evaluate their association with the risk of the disease.

Material and Methods. 80 patients (69 men and 11 women) with gout were examined. The diagnosis of gout was made according to the classification criteria ACR/EULAR, 2015. DNA isolated from white blood cells of whole peripheral blood was the material used in the genetic analyses. All patients were genotyped to detect polymorphisms of the *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298G, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G gene loci. Statistical data processing was performed using the software package Statistica 10.0.

Results. Genetic polymorphisms of the *MTHFR* C677T and *MTR* A2756G genes are involved in the development of gout in individuals of Russian ethnicity in the population of the Trans-Baikal Territory. Minor T allele ($\chi^2 = 4.65$, $p = 0.03$, OR = 1.83, CI95% = 1.05–3.17) and the T/T genotype ($\chi^2 = 6.5$, $p = 0.01$, OR = 5.94, CI95% = 1.3–27.00) of the C677T locus of the *MTHFR* gene, minor G allele ($\chi^2 = 6.46$, $p = 0.01$, OR = 2.38, CI95% = 1.2–4.69) and the A/G genotype of the *MTR* A2756G gene ($\chi^2 = 5.78$, $p = 0.01$, OR = 2.66, CI95% = 1.18–5.98) were identified as alleles and genotypes having increased risk for developing gout. While the C allele ($\chi^2 = 4.65$, $p = 0.03$, OR = 0.55, CI95% = 0.31–0.94) of the *MTHFR* C677T gene, and allele A ($\chi^2 = 6.46$, $p = 0.01$, OR = 0.42, CI95% = 0.21–0.83) and genotype A/A ($\chi^2 = 7.58$, $p = 0.006$, OR = 0.33, CI95% = 0.15–0.74) of the A2756G locus of the *MTR* gene were determined as genotypes and alleles having a protective effect.

Conclusion. Significant differences were found in the frequency distribution of genotypes and alleles of the *MTHFR* C677T and *MTR* A2756G genes in gout patients compared with the control group. The presence of minor T allele and the T/T genotype of *MTHFR* C677T gene, the minor G allele and the A/G genotype of *MTR* A2756G gene was associated with an increased risk of gout. In contrast, the carriage of the C allele of *MTHFR* C677T gene, allele A and the genotype A/A of *MTR* A2756G gene had a potentially protective effect.

Keywords:	gout, uric acid, genetic polymorphism, folate cycle, <i>MTHFR</i> , <i>MTR</i> , <i>MTRR</i> .
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.
Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from each patient. The study was approved by the local ethics committee of the Chita State Medical Ministry of Health of the Russian Federation (protocol No. 74 from 06.11.2015).
For citation:	Kushnarenko N.N., Mishko M.Yu., Medvedeva T.A. Polymorphism in folate cycle genes in patients with gout in the Russian population of Trans-Baikal Territory. <i>The Siberian Medical Journal</i> . 2020;35(1):142–150. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-1-142-150 .

Введение

Интерес к проблеме подагры обусловлен высокой распространенностью и быстрой тенденцией к росту среди мужчин и женщин трудоспособного возраста. В настоящее время подагра рассматривается с позиций полиморбидной патологии, сопряженной с артериальной гипертензией, ожирением, нарушениями углеводного обмена, дислипидемией, обуславливающими высокую сердечно-сосудистую смертность [1]. С каждым днем появляются новые факты о роли мочевой кислоты (МК) в инициации эндотелиальной дисфункции, оксидативного стресса, воспаления – факторов миокардиального сосудистого ремоделирования и ключевых триггеров атеросклероза [2, 3].

Рост заболеваемости подагрой среди лиц молодого возраста обусловлен большой распространенностью внешнесредовых факторов, ассоциированных с подагрой [4, 5], в то время как генетический аспект причинно-следственных взаимосвязей этиологии и патогенеза заболевания изучен меньше всего. В связи с этим в последние десятилетия ведется активный поиск генов-кандидатов, ассоциированных с риском развития гиперурикемии (ГУ) и подагры, изучается влияние генетических факторов на регуляцию синтеза и экскреции МК [68].

В качестве генов-кандидатов, предрасполагающих к развитию ГУ и подагры, могут рассматриваться полиморфные локусы, кодирующие метаболизм фолатов [9, 10]. Нарушения метаболизма фолатов ассоциированы

с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний (ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, инсульт), патологии системы гемостаза, осложнений беременности, остеопороза, ревматоидного артрита [11–14]. С другой стороны, участие фолатов в биосинтезе пуриновых нуклеотидов позволяет предположить возможную роль фолатного цикла в патогенезе ГУ и подагры.

Основными причинами нарушений метаболизма фолатов являются генетические дефекты основных ферментов фолатного цикла – метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*), метионин-синтазы (*MTR*) и метионин-синтазы-редуктазы (*MTRR*) [10].

MTHFR является ключевым ферментом фолатного цикла, регулирующего метаболизм реметилирования гомоцистеина. Ген *MTHFR* у человека расположен на коротком плече первой хромосомы (1p36.3). Описано два локуса гена *MTHFR*. Наиболее изученным является вариант, в котором цитозин (С) в позиции 677, относящийся к 4-му экзону, заменен на тимидин (Т), что приводит к замене аминокислотного остатка аланина на остаток валина в сайте связывания фолата. Такой полиморфизм *MTHFR* обозначается С677Т [11]. Вторым изученным вариантом полиморфизма гена *MTHFR* является замена нуклеотида аденина (А) на цитозин (С) в позиции 1298 [9, 11, 15].

Рядом зарубежных исследователей доказана связь полиморфизма С677Т гена *MTHFR* в развитии ГУ в группе пожилых пациентов мужского пола у представителей азиатских популяций [16, 17]. Данных о взаимосвязи полиморфизмов других генов, регулирующих метаболизм фолатов (метионин-синтазы, метионин-синтазы-редуктазы), с уровнем МК в литературе нет.

Изучая данную проблему, мы не встретили работ, характеризующих ассоциацию полиморфизма генов, регулирующих фолатный цикл, с развитием ГУ и подагры в европейских и русской популяциях.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение распределения аллелей и генотипов локусов *MTHFR* С677Т, *MTHFR* А1298G, *MTR* А2756G, *MTRR* А66G,

а также оценка их ассоциации с риском развития подагры в популяции русских Забайкальского края.

Материал и методы

В исследование включены 80 мужчин и женщин с подагрой, находившихся на лечении в ЧУЗ «Клиническая больница» «РЖД-медицина» (г. Чита). Медиана возраста пациентов составила 54,0 [45,0; 65,0] года (мужчин – 53,0 [41,5; 66,2], женщин – 55,6 [45,2; 67,0]). Работа проводилась с учетом Конвенции Совета Европы «О правах человека и биомедицине» (1996), Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 523792005). Диагноз подагры выставлен согласно классификационным критериям ACR/EULAR, 2015 [18].

В контрольную группу вошли 46 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту. По национальной принадлежности все обследуемые являются русскими, родившимися и проживающими на территории Забайкальского края. Принадлежность к популяционной группе определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям 8-го Международного симпозиума, 1980 г., Лос-Анджелес, США). В таблице 1 представлена клиническая характеристика исследуемых групп. У половины пациентов подагра дебютировала в возрасте от 40 до 49 лет, у 35% – в возрасте старше 50 лет (35,2%), каждый пятый резидент испытал первый приступ заболевания в возрасте моложе 40 лет. Более половины (52,6%) пациентов страдали подагрой от 1 до 5 лет, каждый четвертый (25,4%) – от 6 до 10 лет, 22% имели анамнез заболевания более 10 лет. Характеристика больных подагрой в зависимости от характера течения заболевания представлена в таблице 2. Среди пациентов 57,5% имели рецидивирующее, 42,5% – хроническое течение подагры. Больные с хроническим течением отличались ранним дебютом заболевания, вовлечением в процесс большого количества суставов, высокой интенсивностью болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) во время обострения подагры, более высоким уровнем МК сыворотки крови.

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Table 1. Characteristics of study groups

Группы исследования Study groups	Основная группа Basic group	Контрольная группа Control group	<i>p</i>
Количество, <i>n</i> Number, <i>n</i>	80	46	–
Соотношение мужчин и женщин, % Ratio M : F, %	76,25 % (69 : 11)	56,5% (25 : 21)	0,001
Возраст пациентов, лет Patient age, years	54,0 [45,0; 65,0]	52 [40,0; 62,75]	0,09
Уровень МК сыворотки крови, мкмоль/л Serum UA level, μmol/L	609,4 [417,5; 587,0]	247,5 [200,5; 323,25]	0,004
Уровень МК мочи, мкмоль/л Urine UA level, μmol/L	3758,5 [2957,0; 4704,0]	1274 [1097,75; 1547]	0,008

Примечание: МК – мочевая кислота; *p* – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой.

Note: UA – uric acid; *p* – the level of statistically significant differences compared with the control group.

Таблица 2. Характеристика больных подагрой

Table 2. Characteristics of gout patients

Характер течения подагры Gout course	Хроническое течение Chronic course <i>n</i> = 34 (42,5%)	Рецидивирующее течение Recurrent course <i>n</i> = 46 (57,5%)	<i>p</i>
Уровень МК сыворотки крови, мкмоль/л Serum UA level, $\mu\text{mol/L}$	628 [553,0; 682,5]	502,0 [443,0; 581,0]	0,001
Уровень МК мочи, мкмоль/л Urine UA level, $\mu\text{mol/L}$	3721,0 [3118,0; 4468,0]	3452,0 [2860,0; 4258,5]	0,089
Возраст дебюта подагры, лет Mean age of gout onset, years	42,5 [36,5; 51,5]	55,2 [48,6; 62,5]	0,043
Количество пораженных суставов Number of joints involved	6 [4,0; 8,0]	2,0 [1,0; 3,0]	0,004
Количество атак в год Flare frequency, times per year	7 [5,0; 8,0]	3,0 [2,0; 4,0]	0,002
Медиана длительности течения артрита, дни Duration of arthritis, days	7,0 [4,0; 15,0]	3,0 [1,5; 5,0]	0,003
Интенсивность боли по ВАШ, мм Pain intensity, VAS, mm	68,0 [52,5; 74,0]	54,5 [47,0; 65,0]	0,048

Примечание: МК – мочевая кислота, ВАШ – визуальная аналоговая шкала, *p* – уровень статистической значимости различий по сравнению с рецидивирующей подагрой.

Note: UA – uric acid; VAS – Visual Analogue Scale; *p* – the level of statistically significant differences compared with the recurrent gout.

Всем пациентам выполнены общеклинические и молекулярно-генетические исследования. МК сыворотки крови и мочи определяли с помощью ферментативного колориметрического теста с использованием реакции с уриказой (HUMAN, Германия). В случае регулярного приема пациентом аллопуринола терапия отменялась на 3–4 дня, после чего производился забор анализов. При приеме пациентами препаратов, влияющих на обмен МК (диуретиков, малых доз аспирина, лозартана, амлодипина), они отменялись на 3–4 дня.

Молекулярно-генетические исследования выполнены в лаборатории НИИ молекулярной генетики Читинской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения Российской Федерации. Взятие крови из локтевой вены у обследуемых больных производилось натошак в стерильных условиях. Материалом для исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной периферической крови с использованием комплекта реагентов «ДНК-Экспресс кровь» (ООО НПФ «Литех», Россия) согласно инструкции производителя. Все пациенты были генотипированы для выявления полиморфизмов генов фолатного цикла (4 мутации) – *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298G, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G с использованием набора «Генетика метаболизма фолатов» (ООО НПО «ДНК-Технология», Россия) методом полимеразной цепной реакции с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени. Полимеразную цепную реакцию ДНК проводили на ПЦР-амплификаторе ДТ-96 (ООО НПО «ДНК-Технология», Россия). Амплификацию ДНК осуществляли по следующему алгоритму: начальная денатурация в течение 3 мин при 95 °C, далее 40 циклов денатурации с интервалом 15 с при 95 °C, отжиг и элонгация – 40 с при 63 °C.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ STATISTICA 10,0; on-line программы «Калькулятор для расчета статистики в исследованиях «случай – контроль» (http://gen-exp.ru/calculator_or.php). Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$. Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Различия по частоте аллелей и генотипов между группами оценивали критерием χ^2 Пирсона. Для оценки ассоциации генотипов и аллелей с подагрой рассчитаны показатели отношения шансов (odds ratio, OR) с 95%-м доверительным интервалом (confidence interval, CI). Значение OR = 1 указывало на отсутствие ассоциации; OR > 1 свидетельствовало о положительной ассоциации заболевания с признаком (фактор повышенного риска); OR < 1 рассматривалось как отрицательная ассоциация (фактор пониженного риска).

Количественные данные представлены в виде медианы (*Me*), а также 25- и 75-го квартилей (интерквартильный размах указан в скобках). Значимость различий оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$. Корреляционный анализ выполнен с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты

На первом этапе исследования было изучено распределение частот исследуемых полиморфизмов в основной и контрольной группах. Наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизмов *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298G, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G соответствовали ожидаемому закону равновесия Харди – Вайнберга ($p > 0,05$), таблицы 3, 4.

Таблица 3. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизмов генов, регулирующих фолатный цикл (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) по равновесию Харди – Вайнберга, в группе больных подагрой

Table 3. Expected and observed frequency distribution of genotypes of gene polymorphisms regulating the folate cycle (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) according to Hardy-Weinberg equilibrium in the group of patients with gout

Генотипы Genotypes	Частота генотипов Frequency distribution of the genotypes		χ^2	p
	Больные подагрой Patients			
	Наблюдаемая Observed	Ожидаемая Expected		
MTHFR C677T			1,86	0,17
Генотип C/C Genotype C/C	0,375	0,338		
Генотип C/T Genotype C/T	0,413	0,487		
Генотип T/T Genotype T/T	0,213	0,175		
MTHFR A1298C			0,54	0,46
Генотип A/A Genotype A/A	0,538	0,553		
Генотип A/C Genotype A/C	0,413	0,381		
Генотип C/C Genotype C/C	0,050	0,066		
MTR A2756G			1,66	0,2
Генотип A/A Genotype A/A	0,488	0,517		
Генотип A/G Genotype A/G	0,463	0,404		
Генотип G/G Genotype G/G	0,050	0,079		
MTRR A66G			0,20	0,66
Генотип A/A Genotype A/A	0,188	0,175		
Генотип A/G Genotype A/G	0,463	0,487		
Генотип G/G Genotype G/G	0,350	0,338		

Примечание: p – уровень статистической значимости различий менее 0,05 свидетельствует об отклонениях в распределении частот генотипов в выборке от закона Харди – Вайнберга; χ^2 – χ^2 -тест.

Note: p – the level of statistically significant differences less than 0.05 indicates deviations in the frequency distribution of genotypes according to Hardy-Weinberg equilibrium; χ^2 – χ^2 test.

Таблица 4. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизмов генов, регулирующих фолатный цикл (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) по равновесию Харди – Вайнберга, в группе контроля

Table 4. Expected and observed frequency distribution of genotypes of gene polymorphisms regulating the folate cycle (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) according to Hardy-Weinberg equilibrium in the control group

Генотипы Genotypes	Частота генотипов Frequency distribution of the genotypes		χ^2	p
	Контрольная группа Control group			
	Наблюдаемая Observed	Ожидаемая Expected		
MTHFR C677T			0,47	0,49
Генотип C/C Genotype C/C	0,478	0,499		
Генотип C/T Genotype C/T	0,457	0,415		
Генотип T/T Genotype T/T	0,065	0,086		
MTHFR A1298C			0,11	0,74
Генотип A/A Genotype A/A	0,587	0,596		
Генотип A/C Genotype A/C	0,370	0,352		
Генотип C/C Genotype C/C	0,043	0,052		
MTR A2756G			0,06	0,81
Генотип A/A Genotype A/A	0,696	0,700		
Генотип A/G Genotype A/G	0,283	0,273		
Генотип G/G Genotype G/G	0,022	0,027		
MTRR A66G			0,49	0,48
Генотип A/A Genotype A/A	0,196	0,171		
Генотип A/G Genotype A/G	0,435	0,485		
Генотип G/G Genotype G/G	0,370	0,345		

Примечание: p – уровень статистической значимости различий менее 0,05 свидетельствует об отклонениях в распределении частот генотипов в выборке от закона Харди – Вайнберга; χ^2 – χ^2 -тест.

Note: p – the level of statistically significant differences less than 0.05 indicates deviations in the frequency distribution of genotypes according to Hardy – Weinberg equilibrium; χ^2 – χ^2 test.

При исследовании полиморфизма C677T гена *MTHFR* у больных подагрой была выявлена более высокая частота генотипа *MTHFR* 677 T/T – 21,2% по сравнению с группой контроля – 4,4% ($\chi^2 = 6,5$; $p = 0,01$), с увеличением риска развития заболевания в 5,94 раза (CI95% = 1,32–7,00) и минорного аллеля Т – 41,9% против 28,3% с повышением

риска подагры в 1,83 раза ($\chi^2 = 4,654$; $p = 0,03$; OR = 1,83; CI95% = 1,05–3,17). Частота аллеля дикого типа (С), напротив, преобладала в группе здоровых респондентов (71,7% против 58,1% соответственно; $\chi^2 = 4,65$; $p = 0,03$; OR = 0,55; CI95% = 0,31–0,94), что позволяет сделать заключение о протективной роли данного аллеля (табл. 5).

Таблица 5. Частоты распределения генотипов и аллелей полиморфизмов генов фолатного цикла (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) у больных подагрой

Table 5. Frequencies of distribution of genotypes and alleles of folate cycle gene polymorphisms (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G, *MTRR* A66G) in patients with gout

Ген, генотипы, <i>n</i> (частота) Gene, genotypes <i>n</i> (frequency)	Пациенты с подагрой Patients with gout	Группа контроля Control group	χ^2 , <i>p</i>	OR [CI]
<i>MTHFR</i> C677T				
Генотипы Genotypes				
C/C	30 (37,5%)	22 (47,8%)	$\chi^2 = 1,28$ $p = 0,26$	0,65 [0,311,36]
C/T	33 (41,3%)	22 (47,8%)	$\chi^2 = 0,51$ $p = 0,47$	0,77 [0,371,59]
T/T	17 (21,2%)	2 (4,4%)	$\chi^2 = 6,5$ $p = 0,01$	5,94 [1,327,00]
Всего Totally	80	46		
Аллели Alleles				
C	93 (58,1%)	66 (71,7%)	$\chi^2 = 4,65$ $p = 0,03$	0,55 [0,310,94]
T	67 (41,9%)	26 (28,3%)	$\chi^2 = 4,65$ $p = 0,03$	1,83 [1,053,17]
Всего Totally	160	92		
<i>MTHFR</i> A1298C				
Генотипы Genotypes				
A/A	43 (53,8%)	27 (58,7%)	$\chi^2 = 0,29$ $p = 0,59$	0,82 [0,391,70]
A/C	33 (41,2%)	17 (37%)	$\chi^2 = 0,22$ $p = 0,64$	1,19 [0,572,53]
C/C	4 (5%)	2 (4,3%)	$\chi^2 = 0,03$ $p = 0,87$	1,16 [0,206,58]
Всего Totally	80	46		
Аллели Alleles				
A	119 (74,4%)	71 (77,2%)	$\chi^2 = 0,25$ $p = 0,62$	0,86 [0,471,57]
C	41 (25,6%)	21 (22,8%)	$\chi^2 = 0,25$ $p = 0,62$	1,16 [0,642,13]
Всего Totally	160	92		
<i>MTR</i> A2756G				
Генотипы Genotypes				
A/A	39 (48,8%)	34 (73,9%)	$\chi^2 = 7,58$ $p = 0,006$	0,33 [0,150,74]
A/G	37 (46,2%)	11 (23,9%)	$\chi^2 = 5,78$ $p = 0,01$	2,66 [1,185,98]
G/G	4 (5%)	1 (2,2%)	$\chi^2 = 0,61$ $p = 0,43$	2,36 [0,2621,8]
Всего Totally	80	46		

Окончание табл. 5
End of table 5

Ген, генотипы, <i>n</i> (частота) Gene, genotypes <i>n</i> (frequency)	Пациенты с подагрой Patients with gout	Группа контроля Control group	χ^2 , <i>p</i>	OR [CI]
Аллели Alleles				
A	115 (71,9%)	79 (85,9%)	$\chi^2 = 6,46$ $p = 0,01$	0,42 [0,210,83]
G	45 (28,1%)	13 (14,1%)	$\chi^2 = 6,46$ $p = 0,01$	2,38 [1,24,69]
Всего Totally	160	92		
MTRR A66G				
Генотипы Genotypes				
C/C	15 (18,8%)	9 (19,6%)	$\chi^2 = 0,01$ $p = 0,91$	0,95 [0,372,38]
C/T	37 (46,2%)	20 (43,5%)	$\chi^2 = 0,09$ $p = 0,76$	1,12 [0,532,32]
T/T	28 (35%)	17 (36,9%)	$\chi^2 = 0,05$ $p = 0,83$	0,92 [0,431,95]
Всего Totally	80	46		
Аллели Alleles				
C	67 (41,9%)	38 (41,3%)	$\chi^2 = 0,007$ $p = 0,93$	1,02 [0,611,72]
T	93 (58,1%)	54 (58,7%)	$\chi^2 = 0,007$ $p = 0,93$	0,98 [0,581,64]
Всего Totally	160	92		

Примечание: *p* – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой; χ^2 – χ^2 -тест; OR – отношение шансов; CI – 95%-й доверительный интервал (confidence interval).

Note: *p* – the level of statistically significant differences compared with the control group; χ^2 – χ^2 -test; OR – the odds ratio; CI – 95% confidence interval.

Нами получено, что носительство генотипа *MTR* 2756 A/A и доминантного аллеля (A) данного гена ассоциировано с уменьшением риска развития заболевания в 3 и 2,38 раза соответственно (см. табл. 5). Наличие же минорного аллеля G гена *MTR* A2756G было ассоциировано с повышением риска подагры в 2,38 раза ($\chi^2 = 6,46$; $p = 0,01$; OR = 2,38; CI 95%:1,24,69). Носители гетерозиготного генотипа A/G также имели более высокий риск развития заболевания ($\chi^2 = 5,78$; $p = 0,01$; OR = 2,66; CI95% = 1,185,98). Не было выявлено ассоциации гомозиготного по минорному аллелю генотипа *MTR* 2756 G/G с риском развития подагры, что связано, наиболее вероятно, с малым количеством носителей данного генотипа в обеих выборках.

Было затруднительно оценить сравнительную характеристику частот распределения генотипов и аллелей генов *MTHFR* C677T и *MTR* A2756G у больных подагрой в зависимости от половой принадлежности ввиду несоответствия распределения полиморфных вариантов генов равновесию Харди – Вайнберга в совокупности женщин как в основной группе, так и в группе сравнения (отсутствие мутантных гомозигот). Частоты генотипов и аллелей генов *MTHFR* A1298C, *MTRR* A66G в основной и контрольной группах не имели статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Носители «рисковых» аллелей и генотипов (аллель T и генотип T/T гена *MTHFR* C677T, аллель G и генотип A/G гена *MTR* A2756G) не имели особенностей клинической картины, однако была установлена положительная корреляционная взаимосвязь слабой силы между генотипа-

ми *MTHFR* и уровнем МК ($r = 0,165$, $p = 0,026$). Так, при сравнении больных подагрой с генотипами *MTHFR* 677 C/C, *MTHFR* 677 C/T, *MTHFR* 677 T/T с нарастанием копий T аллеля отмечалось статистически значимое увеличение уровня МК сыворотки крови – 491,5; 508,4; 548,6 мкмоль/л соответственно ($p = 0,02$).

Обсуждение

Исследование полиморфизма гена *MTHFR* C677T с риском развития ГУ и подагры было показано на выборках японской и корейской популяций. Так, M. Zuo и соавт. (2000), S. Ito и соавт. (2009), а также независимо от них Y.S. Hong и соавт. (2004), доказали, что полиморфизм гена *MTHFR* C677T является фактором риска гиперурикемии у мужчин [16, 17, 19]. M. Zuo и соавт. (2000) на выборке из 271 пациента показали, что носительство генотипа T/T гена *MTHFR* было статистически значимо ассоциировано с более высоким уровнем МК сыворотки крови ($p = 0,038$). Это позволило предположить влияние полиморфизма *MTHFR* C677T на развитие ГУ и подагры у мужчин [17]. S. Ito и соавт. (2009) также установили взаимосвязь между мутацией локуса C677T гена *MTHFR* и ГУ. В исследовании, включавшем 793 респондента (272 мужчины и 521 женщина) в возрасте старше 39 лет, была выявлена значительная ассоциация между ГУ и генотипами *MTHFR* C677T [18]. Аналогичные данные описываются в работах корейских исследователей. Так, Y.S. Hong и соавт. (2004) также показали, что генотип T/T гена *MTHFR* значительно

чаще встречался у пациентов с высокими уровнями МК ($p = 0,003$), а при нарастании копий минорного аллеля данного гена наблюдалось статистически значимое увеличение уровня МК сыворотки крови [16].

Данных о взаимосвязи полиморфизма гена *MTR* A2756G, *MTRR* A66G, локуса A1298C, *MTHFR* с уровнем МК и риском развития ГУ и подагры в литературе найдено не было.

Исследований, доказывающих роль генов фолатного цикла в развитии ГУ и подагры, на выборке русской популяции не проводилось. В связи с этим нами была предпринята попытка установить связь между этими генами и уровнем ГУ.

На основании полученных результатов было установлено, что у больных подагрой с более высокой частотой встречались минорный аллель Т гена *MTHFR* C677T и генотип *MTHFR* 677T/T, ассоциированные с увеличением риска заболевания в 1,83 и 5,94 раза соответственно. Также была выявлена положительная корреляционная взаимосвязь между генотипами *MTHFR* и уровнем МК сыворотки крови ($r = 0,165$, $p = 0,026$). Частота мажорного аллеля гена *MTHFR* C677T преобладала в группе здоровых респондентов, что свидетельствует о вероятной протективной роли данного аллеля. Носительство минорно-

го аллеля G гена *MTR* A2756G и гетерозиготного генотипа A/G также предположительно ассоциировано с повышенным риском развития подагры. Наличие же в генотипе доминантного аллеля А и генотипа А/А гена *MTR* A2756G обуславливает протективное действие, снижая вероятность развития подагры в 2,38 и 3 раза соответственно.

Заключение

В проведенном исследовании показана роль полиморфизма генов фолатного цикла в развитии подагры у индивидов русской этнической принадлежности в популяции Забайкальского края. Носительство аллеля Т и генотипа Т/Т гена *MTHFR* C677T, аллеля G и генотипа А/G гена *MTR* A2756G повышало риск развития подагры. Аллель С локуса C677T гена *MTHFR*, а также аллель А и генотип А/А гена *MTR* A2756G предположительно оказывали протективное действие. Точный механизм взаимосвязей между мутациями генов, регулирующих фолатный цикл, и метаболизмом МК и в настоящее время остается до конца неясным. Для подтверждения выявленных закономерностей и тенденций требуется продолжение исследований в этом направлении в других популяционных группах.

Литература

1. Гринштейн Ю.И., Шабалин В.В., Руф Р.Р., Петрова М.М., Артюхов И.П., Шальнова С.А. Взаимосвязь гиперурикемии, функции почек и артериальной гипертензии у населения крупного региона Восточной Сибири. *Российский кардиологический журнал*. 2017;(6):86–91. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-6-86-91.
2. Елисеев М.С., Новикова А.М. Коморбидность при подагре и гиперурикемии: распространенность, причины, перспективы уратснижающей терапии. *Терапевтический архив*. 2019;91(5):120–128. DOI: 10.26442/00403660.2019.05.000232.
3. Wei C.Y., Sun C.C., Wei J.C., Tai H.C., Sun C.A., Chung C.F. et al. Association between Hyperuricemia and Metabolic Syndrome: An Epidemiological Study of a Labor Force Population in Taiwan. *BioMed. Research International*. 2015;(7):369179. DOI: 10.1155/2015/369179.
4. Vedder D., Walrabenstein W., Heslinga M., de Vries R., Nurmohamed M., van Schaardenburg D. et al. Dietary Interventions for Gout and Effect on Cardiovascular Risk Factors: A Systematic Review. *Nutrients*. 2019;11(12):2955. DOI: 10.3390/nu11122955.
5. Li R., Yu K., Li C. Dietary factors and risk of gout and hyperuricemia: a meta-analysis and systematic review. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2018;27(6):1344–1356. DOI: 10.6133/apjcn.201811_27(6).0022.
6. Merriman T.R. An update on the genetic architecture of hyperuricemia and gout. *Arthritis Res. Ther.* 2015;17:98. DOI: 10.1186/s13075-015-0609-2.
7. Dalbeth N., Stamp L.K., Merriman T.R. The genetics of gout: towards personalised medicine? *BMC Medicine*. 2017;15(1):108. DOI: 10.1186/s12916-017-0878-5.
8. Кушнаренко Н.Н., Мишко М.Ю., Медведева Т.А., Витковский Ю.А. Полиморфизм гена *ABCG2* у больных подагрой в Забайкальском крае. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2019;8(2):77–86. DOI: 10.17802/2306-1278-2019-8-2-77-86.
9. Hiraoka M., Kagawa Y. Genetic polymorphisms and folate status. *Con-genital Anomalies*. 2017;57(5):142–149. DOI: 10.1111/cga.12232.
10. Li W.X., Cheng F., Zhang A.J., Dai S.X., Li G.H., Lv W.W. et al. Folate deficiency and gene polymorphisms of *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* elevate the hyperhomocysteinemia risk. *Clin. Lab.* 2017;63(3):523–533. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160917.
11. Liew S.C., Gupta E.D. Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur. J. Med. Genet.* 2015;58(1):1–10. DOI: 10.1016/j.ejmg.2014.10.004.
12. Nazki F.H., Sameer A.S., Ganaie B.A. Folate: metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene*. 2014;533(1):11–20. DOI: 10.1016/j.gene.2013.09.063.
13. Yuan Y., Shao W., Li Y. Associations between C677T and A1298C polymorphisms of *MTHFR* and susceptibility to rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatol. Int.* 2017;37(4):557–569. DOI: 10.1007/s00296-017-3650-4.
14. Zhao M., Wang X., He M., Qin X., Tang G., Huo Y. et al. Homocysteine and stroke risk: modifying effect of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and folic acid intervention. *Stroke*. 2017;48(5):1183–1190. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.015324.
15. Levin B.L., 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.
16. Hong Y.S., Lee M.J., Kim K.H., Lee S.H., Lee Y.H., Kim B.G. et al. The C677T mutation in methylene tetrahydrofolate reductase gene: correlation with uric acid and cardiovascular risk factors in elderly Korean men. *J. Korean Med. Sci.* 2004;19(2):209–213. DOI: 10.3346/jkms.2004.19.2.209.
17. Zuo M., Nishio H., Lee M.J., Maejima K., Mimura S., Sumino K. The C677T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene increases serum uric acid in elderly men. *J. Hum. Genet.* 2000;45:257–262. DOI: 10.1007/s100380070037.
18. Van der Heijde D., Aletaha D., Carmona L., Edwards C.J., Kvien T.K., Kouloumas M. et al. 2014 Update of the EULAR standardised operating procedures for EULAR-endorsed recommendations. *Ann. Rheum. Dis.* 2015;74(1):8–13. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206350.
19. Ito S., Goto Y., Suzuki K., Kawai S., Naito M., Ito Y. et al. Significant association between methylenetetrahydrofolate reductase 677T allele and hyperuricemia among adult Japanese subjects. *Nutr. Res.* 2009;29(10):710–715. DOI: 10.1016/j.nutres.2009.10.006.

References

1. Grinshtein Y.I., Shabalin V.V., Ruf R.R., Petrova M.M., Artyukhov I.P., Shalnova S.A. Relation of hyperuricaemia, renal function and arterial hypertension in a large region of the eastern Siberia inhabitants. *Russian Journal of Cardiology*. 2017;(6):86–91 (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2017-6-86-91.
2. Eliseev M.S., Novikova A.M. Comorbidity in gout and hyperuricemia:

- prevalence, causes, prospects of urate lowering therapy. *Therapeutic Archive*. 2019;91(5):120–128 (In Russ.). DOI: 10.26442/00403660.2019.05.000232.
3. Wei C.Y., Sun C.C., Wei J.C., Tai H.C., Sun C.A., Chung C.F. et al. Association between Hyperuricemia and Metabolic Syndrome: An Epidemiological Study of a Labor Force Population in Taiwan. *BioMed. Research International*. 2015;(7):369179. DOI: 10.1155/2015/369179.
 4. Vedder D., Walrabenstein W., Heslinga M., de Vries R., Nurmohamed M., van Schaardenburg D. et al. Dietary Interventions for Gout and Effect on Cardiovascular Risk Factors: A Systematic Review. *Nutrients*. 2019;11(12):2955. DOI: 10.3390/nu11122955.
 5. Li R., Yu K., Li C. Dietary factors and risk of gout and hyperuricemia: a meta-analysis and systematic review. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2018;27(6):1344–1356. DOI: 10.6133/apjcn.201811_27(6).0022.
 6. Merriman T.R. An update on the genetic architecture of hyperuricemia and gout. *Arthritis Res. Ther.* 2015;17:98. DOI: 10.1186/s13075-015-0609-2.
 7. Dalbeth N., Stamp L.K., Merriman T.R. The genetics of gout: towards personalised medicine? *BMC Medicine*. 2017;15(1):108. DOI: 10.1186/s12916-017-0878-5.
 8. Kushnarenko N.N., Mishko M.Y., Medvedeva T.A., Vitkovsky Y.A. ABCG2 gene polymorphism in patients with gout in Zabaikalsky Krai. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2019;8(2):77–86 (In Russ.). DOI: 10.17802/2306-1278-2019-8-2-77-86.
 9. Hiraoka M., Kagawa Y. Genetic polymorphisms and folate status. *Con genital Anomalies*. 2017;57(5):142–149. DOI: 10.1111/cga.12232.
 10. Li W.X., Cheng F., Zhang A.J., Dai S.X., Li G.H., Lv W.W. et al. Folate deficiency and gene polymorphisms of MTHFR, MTR and MTRR elevate the hyperhomocysteinemia risk. *Clin. Lab.* 2017;63(3):523–533. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160917.
 11. Liew S.C., Gupta E.D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur. J. Med. Genet.* 2015;58(1):1–10. DOI: 10.1016/j.ejmg.2014.10.004.
 12. Nazki F.H., Sameer A.S., Ganaie B.A. Folate: metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene*. 2014;533(1):11–20. DOI: 10.1016/j.gene.2013.09.063.
 13. Yuan Y., Shao W., Li Y. Associations between C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR and susceptibility to rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatol. Int.* 2017;37(4):557–569. DOI: 10.1007/s00296-017-3650-4.
 14. Zhao M., Wang X., He M., Qin X., Tang G., Huo Y. et al. Homocysteine and stroke risk: modifying effect of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and folic acid intervention. *Stroke*. 2017;48(5):1183–1190. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.015324.
 15. Levin B.L., 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.
 16. Hong Y.S., Lee M.J., Kim K.H., Lee S.H., Lee Y.H., Kim B.G. et al. The C677 mutation in methylene tetrahydrofolate reductase gene: correlation with uric acid and cardiovascular risk factors in elderly Korean men. *J. Korean. Med. Sci.* 2004;19(2):209–213. DOI: 10.3346/jkms.2004.19.2.209.
 17. Zuo M., Nishio H., Lee M.J., Maejima K., Mimura S., Sumino K. The C677T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene increases serum uric acid in elderly men. *J. Hum. Genet.* 2000;45:257–262. DOI: 10.1007/s100380070037.
 18. Van der Heijde D., Aletaha D., Carmona L., Edwards C.J., Kvien T.K., Kouloumas M. et al. 2014 Update of the EULAR standardised operating procedures for EULAR-endorsed recommendations. *Ann. Rheum. Dis.* 2015;74(1):8–13. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206350.
 19. Itou S., Goto Y., Suzuki K., Kawai S., Naito M., Ito Y. et al. Significant association between methylenetetrahydrofolate reductase 677T allele and hyperuricemia among adult Japanese subjects. *Nutr. Res.* 2009;29(10):710–715. DOI: 10.1016/j.nutres.2009.10.006.

Информация о вкладе авторов

Кушнарченко Н.Н. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Мишко М.Ю. – разработка концепции и дизайна, сбор, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи.

Медведева Т.А. – сбор, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Сведения об авторах

Кушнарченко Наталья Николаевна, д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов, Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-0350-0698.

E-mail: natalia.kushnarenko1@gmail.com.

Мишко Марина Юрьевна, ассистент, кафедра внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов, Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-3243-2951.

E-mail: mm_you@mail.ru.

Медведева Татьяна Александровна, ассистент, кафедра внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов, Читинская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-8410-5827.

E-mail: saidi-tma@mail.ru.

Мишко Марина Юрьевна, e-mail: mm_you@mail.ru.

Information on author contributions

Kushnarenko N.N. – manuscript concept and design, critical revision of the manuscript draft, and final approval of the version to be published.

Mishko M.Yu. – manuscript concept and design, acquisition, analysis and interpretation of the data.

Medvedeva T.A. – acquisition, analysis, and interpretation of the data.

All authors gave their final consent to the submission of the manuscript and agreed to bear responsibility for all aspects of the work, vouching for their accuracy and impeccability.

Information about the authors

Natalya N. Kushnarenko, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Internal Medicine, Pediatric and Dental Faculties, Chita State Medical Academy. ORCID 0000-0002-0350-0698.

E-mail: natalia.kushnarenko1@gmail.com.

Marina Yu. Mishko, Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Pediatric and Dental Faculties, Chita State Medical Academy. ORCID 0000-0003-3243-2951.

E-mail: mm_you@mail.ru.

Tatyana A. Medvedeva, Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Pediatric and Dental Faculties, Chita State Medical Academy. ORCID 0000-0001-8410-5827.

E-mail: saidi-tma@mail.ru.

Marina Yu. Mishko, e-mail: mm_you@mail.ru.

Received December 10, 2019

Поступила 10.12.2019