

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**POLIMORFISMOS DO GENE *METILENOTETRAHIDROFOLATO*
REDUTASE E SUSCETIBILIDADE À PSORÍASE**

Dissertação de Mestrado

Gabriela Maldonado

Porto Alegre, 2009

Dissertação para obtenção do título de Mestre
apresentada à Universidade Federal do Rio Grande
do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Orientador Prof. Dr. Paulo Dornelles Picon

Porto Alegre

2009

M244p **Maldonado, Gabriela**

Polimorfismos do gene *metilenotetraidrofolato redutase* e suscetibilidade à psoríase / Gabriela Maldonado ; orient. Paulo Dornelles Picon. - 2009.

52 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Psoríase 2. Polimorfismo genético 3. Metilenotetraidrofolato redutase (NADPH2) 4. Reação em cadeia da polimerase I. Picon, Paulo Dornelles II. Título.

NLM: WR 205

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Ao Victor, pela cumplicidade e amor.

À Analia, pelo afeto e apoio.

Aos meus pais, pelo incentivo e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Paulo Dornelles Picon, pela acolhida como orientador, pelo incentivo na realização desta pesquisa e na busca sempre pela melhor evidência.

Ao Professor Renan Rangel Bonamigo, pela atenção, estímulo e exemplo de responsabilidade no desenvolvimento do trabalho.

À Professora Lavinia Schüller-Faccini, pela oportunidade de trabalhar com sua equipe e pela indispensável colaboração.

Aos professores Tânia Ferreira Cestari e Lucio Bakos, pela chance de trabalhar com seus pacientes.

Às colaboradoras Ana Paula Brandalize, Mariana Jobim e Fernanda Lindhal, pelo auxílio teórico e prático e fundamental incentivo.

Aos pacientes que participaram deste estudo, minha sincera gratidão.

RESUMO

Introdução: A psoríase é uma doença inflamatória sistêmica crônica que afeta predominantemente a pele e as articulações. Sua etiologia é multifatorial e ainda não completamente entendida. A suscetibilidade genética à psoríase é um fator causal importante, e vários genes e polimorfismos têm sido associados à sua ocorrência. Poucos estudos avaliaram a influência dos polimorfismos C677T e A1298C do gene *metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR)* na suscetibilidade à psoríase em diferentes populações (asiáticos e caucasoides), e os resultados foram contraditórios.

Material e métodos: Foram estudados 339 indivíduos caucasoides; desses, 142 eram pacientes com diagnóstico clínico de psoríase e 197 controles. Os grupos foram comparados quanto à frequência dos polimorfismos C677T e A1298C do gene *MTHFR* através de reação em cadeia da polimerase.

Resultados: Para o polimorfismo C677T do gene *MTHFR*, a prevalência do genótipo mutante foi de 16,0% nos casos e 9,1% nos controles ($p=0,103$). Quando comparados os genótipos CC versus CT+TT, não houve diferença entre os grupos ($p=0,605$). A prevalência do genótipo CC para o polimorfismo A1298C foi de 2,8% nos casos e 4,1% nos controles ($p=0,824$). Quando comparados os genótipos AA versus AC + CC também não houve diferença significativa ($p=0,943$). A análise combinada dos genótipos foi similar entre os grupos.

Conclusão: Nossos resultados não indicam qualquer associação entre os polimorfismos C677T e A1298C do gene *MTHFR* e suscetibilidade à psoríase nem demonstraram ação sinérgica da presença de ambos na redução de atividade da enzima MTHFR.

LISTA DE FIGURAS

• Figura 1. Psoríase crônica em placas.....	12
• Figura 2. Psoríase plantar.....	13
• Figura 3. Histopatologia da psoríase: microabcessos de Munro.....	14
• Figura 4. Histopatologia da psoríase. Aspecto de uma placa crônica: Acantose e paraceratose.....	14
• Figura 5. Metabolismo da homocisteína.....	18
• Figura 6. Gel de poliacrilamida com resultados para C677T do MTHFR.....	20
• Tabela 1. Distribuições genotípicas do gene <i>MTHFR</i> entre casos e controles.	41
• Tabela 2. Genótipos dos polimorfismos <i>MTHFR</i> C677T e A1298C em casos e controles.....	41
• Tabela 3. Frequências dos genótipos combinados do gene <i>MTHFR</i> em pacientes e controles.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PCR	– Polimerase Chain Reaction – Reação em cadeia da polimerase
MTHFR	– Metilenotetrahidrofolato redutase
PSORS	– Locus de suscetibilidade para psoríase
HLA	– Human Leukocyte Antigen – Antígenos leucocitários humanos
DNA	– Ácido desoxirribonucléico
TNF	– Tumor Necrosis Factor – Fator de necrose tumoral
IFN	– Interferon
HIV	– Human Immunodeficiency Virus – Vírus da imunodeficiência humana
IL	– Interleucina
FDA	– Food and Drug Administration
MTX	– Metotrexato
DHFR	– Diidrofolato redutase
CD	-Células dendríticas
MHC	- Major Histocompatibility Complex - Complexo de Histocompatibilidade Principal

SUMÁRIO

RESUMO.....	05
LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	06
LISTA DE ABREVIATURAS.....	07
INTRODUÇÃO	09
1 REVISÃO DA LITERATURA	10
1.1 Psoríase.....	10
1.1.1 Manifestações clínicas.....	12
1.1.2 Histopatologia.....	13
1.1.3 Suscetibilidade genética	15
1.1.4 Fisiopatologia	16
1.2. Gene metilenotetrahidrofolato redutase e o metabolismo da homocisteína.....	17
1.2.1 Polimorfismos C677T e A1298C do gene <i>MTHFR</i>	19
1.3 Polimorfismos C677T e A1298C e suscetibilidade à psoríase	21
1.4 Implicações clínicas relevantes entre a psoríase e os polimorfismos do gene <i>MTHFR</i>.....	22
1.4.1 Associação dos polimorfismos do gene <i>MTHFR</i> com comorbidades relacionadas à psoríase.....	22
1.4.2 Relação dos polimorfismos do gene <i>MTHFR</i> com tratamentos sistêmicos para psoríase.....	23
2 OBJETIVOS	25
3 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA.....	26
4 ARTIGO EM INGLÊS.....	34
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS	49
6 ANEXO 1.....	50

INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença sistêmica crônica e recidivante, de apresentação clínica variável e que afeta cerca de 2% da população mundial (1, 2). Pode ser incapacitante tanto pelas lesões cutâneas – fator importante de dificuldade de inserção social – quanto pela presença da forma articular que configura a artrite psoriásica (3, 4).

Sabe-se que a psoríase é uma doença imunologicamente mediada. O papel de mecanismos imunes é documentado pela presença de linfócitos T ativados e macrófagos e pela boa resposta a terapias imunossupressoras. A presença de mediadores inflamatórios também foi observada: citocinas, fator de necrose tumoral α (TNF- α), interferon γ (INF- γ), endotelina -1, eicosanóides, entre outros (5).

Há uma série de comorbidades associadas à psoríase, entre elas diabetes melito, hipertensão arterial, síndrome plurimetabólica, colite e artrite reumatóide (6-9). Um estudo britânico revelou que pacientes com psoríase severa têm mais comorbidades e recebem em média mais medicamentos do que pacientes internados por outras causas(10).

A influência genética é um fator muito importante na ocorrência da psoríase. A herança é poligênica com risco genético cerca de 10 vezes maior para familiares de primeiro grau. Os marcadores mais importantes descritos até o momento estão associados aos antígenos leucocitários HLA-Cw6, HLA-B13, HLA-Bw57, HLA-DR7 e HLA-B27. No entanto, muitos outros genes e polimorfismos têm sido estudados com o objetivo de elucidar sua relação com a psoríase e assim incrementar o entendimento sobre sua patogênese e tratamentos (11, 12).

A enzima metilenotetrahidrofolato redutase é codificada pelo gene de mesmo nome e é responsável pela metilação do DNA, que é uma característica importante para regulação de genes e para a diferenciação celular. Além disso, a

MTHFR tem atividade regulatória central na via do folato e homocisteína e catalisa a conversão de 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato, cuja função é promover a conversão de homocisteína em metionina (13-15). A não conversão de homocisteína em metionina resulta em hiperhomocisteinemia.

Foram descritos dois polimorfismos mais comuns no gene *MTHFR* – C677T e A1298C – que geram redução de até 60% da atividade enzimática, quando comparados com os alelos normais (16, 17). Dessa forma, a presença desses polimorfismos poderia causar hiperhomocisteinemia e assim influenciar a suscetibilidade a enfermidades bem como alterar a resposta terapêutica a diferentes fármacos que tenham seu metabolismo envolvido com a via do folato.

A relação entre a presença desses polimorfismos e a suscetibilidade à psoríase foi analisada em poucos estudos, com diferentes populações e resultados contraditórios (18-20).

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Psoríase

A psoríase é uma doença sistêmica inflamatória crônica que afeta principalmente a pele, as unhas e ocasionalmente as articulações. A sua prevalência em diferentes populações varia de 0 a 12%, apresentando médias entre 2,1 a 2,8% em populações ocidentais (1, 2). As diferenças de prevalência podem estar relacionadas com o curso recidivante da doença, amplo espectro de apresentações clínicas e falta de critérios padronizados de classificação diagnóstica (2).

O curso da psoríase é recidivante, e os fatores desencadeantes podem ser de naturezas diversas. O clima quente e a luz solar são fatores de melhora, enquanto o clima frio tem efeito contrário.

As infecções também podem agravar quadros de psoríase, com variações de 15 a 76% em diferentes estudos. Quadros infecciosos levam ao aumento de níveis de TNF- α e INF- γ . Essas alterações imunológicas poderiam atuar como fator desencadeante da psoríase em pacientes geneticamente predispostos (21). A psoríase com forma *guttata* frequentemente é precedida de infecção por estreptococo beta-hemolítico em 1 a 2 semanas (22).

Em pacientes infectados pelo HIV, a psoríase tem prevalência semelhante à população geral, porém sua apresentação clínica tem características peculiares. Geralmente ocorrem formas mais graves com início brusco, queratoderma plantar, distrofia ungueal grave, acometimento de dobras (psoríase invertida), formas pustulosas e maior frequência de artrite (21).

O estresse emocional pode agravar a psoríase em 30 a 40% dos casos, sem necessariamente haver qualquer transtorno de personalidade ou doença psiquiátrica associada (4). Acredita-se, também, que o álcool possa exercer influência na progressão da doença, mas, até o momento, é tema em investigação (23).

Figura 1. Psoríase crônica em placas



© 2003 Elsevier - Bologna, Jorizzo and Rapini: Dermatology - www.dermtext.com

Alguns medicamentos têm sido relatados como fatores desencadeantes e de progressão da doença. Os principais fármacos implicados são bloqueadores adrenérgicos, antimaláricos, lítio, inibidores da enzima conversora de angiotensina, sais de ouro, interferon, corticóides sistêmicos e anti-inflamatórios não esteróides (24).

A importância da psoríase para a dermatologia está vinculada à morbidade, à alta influência na qualidade de vida dos pacientes afetados e ao impacto sócio-econômico gerado para o sistema de saúde (3).

1.1.1 Manifestações clínicas

A manifestação cutânea da psoríase caracteriza-se pelo surgimento de placas eritemato-escamosas, com bordas bem delimitadas e de dimensões variáveis. As escamas são branco-prateadas, secas, aderidas e deixam porejamento de sangue ao serem removidas (25). As lesões localizam-se preferencialmente nas superfícies extensoras dos joelhos e cotovelos, no couro cabeludo e na região lombossacra, com

distribuição simétrica. Entretanto, praticamente todo o tegumento pode ser acometido (26).

Figura 2. Psoríase plantar



© 2003 Elsevier - Bologna, Jorizzo and Rapini: Dermatology - www.dermtext.com

A psoríase pode ocorrer em qualquer idade. Geralmente inicia entre a terceira e quarta décadas de vida (2, 3, 27), mas alguns estudos descrevem ocorrência bimodal com picos até os 20 anos e após os 50 anos (28). A distribuição entre os gêneros é semelhante (27, 29).

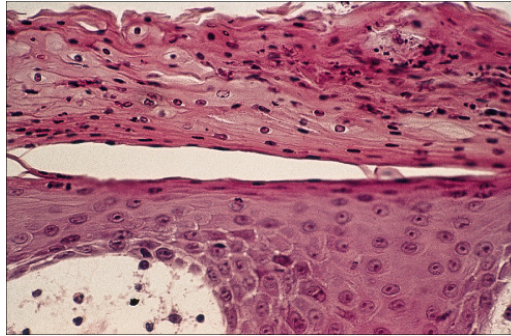
As formas clínicas da psoríase são crônica em placas, em gotas ou *gutatta*, pustulosa, eritrodérmica e ungueal, e podem ou não ter associação com artrite psoriásica (29). A apresentação mais freqüente é a psoríase crônica em placas (75 a 90% dos casos) e o principal sinal relatado é a descamação (92%) (26, 30). A psoríase também pode acometer o aparelho ungueal em cerca de 50% dos pacientes, sendo mais comum em pacientes com artrite psoriásica (3, 31).

1.1.2 Histopatologia

No início da formação da placa psoriásica há edema dérmico, ectasia de vasos da papila dérmica e infiltrado perivascular composto de células T, células dendríticas, monócitos e macrófagos. Posteriormente, a densidade do infiltrado celular

aumenta e células CD8 +, e granulócitos neutrofilicos são encontrados no epiderma, formando os microabcessos de Munro, característicos da psoríase (32, 33).

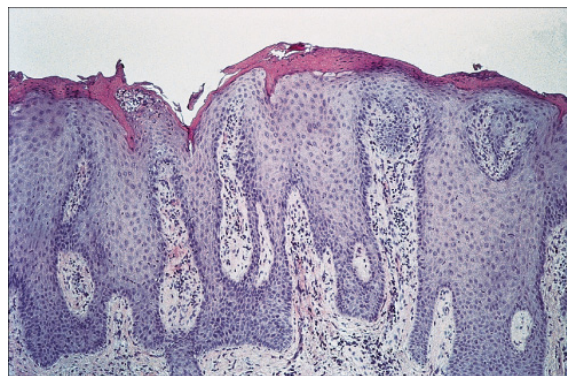
Figura 3. Histopatologia da psoríase: microabcessos de Munro



© 2003 Elsevier - Bologna, Jorizzo and Rapini: Dermatology - www.dermtext.com

Outras alterações importantes são observadas na epiderme: acantose (aumento do número de queratinócitos e espessamento da camada espinhosa), perda da camada granular, paraceratose (disfunção do processo de cornificação que mantém queratinócitos nucleados na camada córnea) e hiperkeratose (espessamento da camada córnea). Ao mesmo tempo, o aumento da quantidade e a dilatação de vasos na derme papilar permitem a maior migração de células imunológicas aos locais afetados, mantendo o ciclo da doença ativo (11, 34).

Figura 4. Histopatologia da psoríase. Aspecto de uma placa crônica: acantose e paraceratose.



© 2003 Elsevier - Bologna, Jorizzo and Rapini: Dermatology - www.dermtext.com

1.1.3 Suscetibilidade genética

Em doenças genéticas complexas geralmente há muitos genes envolvidos e alguns deles podem ser interativos. Além disso, há muitas instâncias conhecidas onde diferentes mutações no mesmo gene podem causar diferentes fenótipos de doença.

O relativamente pequeno número de alelos que contribui para a suscetibilidade a doenças genéticas complexas comuns tende a apresentar uma alta frequência populacional combinada com baixa penetrância. Esse fato promove um impacto apenas modesto na suscetibilidade à doença, com risco geralmente variando entre duas a cinco vezes e raramente passando de dez vezes em relação à população normal.

Essas condições implicam estudos com grandes grupos para que seja detectado tal efeito. Assim, menos de 8% dos estudos que avaliam herança têm associação significativa e menos de 2% têm os locos associados reproduzidos em outros estudos independentes (12).

Embora o padrão de herança da psoríase ainda não esteja completamente entendido, sabe-se que a predisposição genética exerce um importante papel na suscetibilidade ao seu desenvolvimento. Algumas observações corroboram essa afirmação. Primeiro, a probabilidade de desenvolver psoríase é maior em familiares de primeiro grau de pacientes com a doença: o risco é de 20% se um genitor é afetado e de 75% se ambos os genitores são afetados. Se um gemelar homocigótico é afetado, há um risco de 55% de o outro gemelar também desenvolver psoríase (11, 35). Além disso, a psoríase está associada a alguns antígenos leucocitários (HLA), entre eles HLA-Cw6, HLA-B13, HLA-B17, HLA-Bw57 e HLA-DR4 e muitos locos de suscetibilidade à psoríase têm sido descritos. Pessoas com HLA-Cw6 têm risco 10 vezes maior de

desenvolver a doença. O PSORS1 no complexo de histocompatibilidade maior (MHC) do cromossomo 6 (6p21) é o único locus de suscetibilidade à psoríase: entre 19 possíveis candidatos, foi consistente e universalmente confirmado por estudos independentes (12, 35). É importante salientar que alguns genes relacionados à psoríase também se associam a outras doenças autoimunes, como artrite reumatóide, colite e diabetes melito (34, 36).

1.1.4 Fisiopatologia

A patogênese da psoríase vem sendo foco de estudos há muitos anos e é fato conhecido que o sistema imune desempenha um importante papel nesse processo. Até a década de 1970, acreditava-se que a doença era causada pelo aumento da proliferação e pela diferenciação alterada dos queratinócitos. A base dessa proposição eram os achados histopatológicos das lesões (37, 38).

Entre os anos 1980 e 1990 foi postulado que as células T ativadas estavam envolvidas de maneira dominante na iniciação e manutenção da psoríase. Essa hipótese foi fundamentada na observação de respostas positivas a terapias que combatem células T, desenvolvimento da doença em pacientes transplantados com medula de doadores portadores de psoríase e evidências de testes *in vitro* com transplante de pele em cobaias (5). As células que predominam no infiltrado dérmico são linfócitos CD4⁺ e na epiderme são os linfócitos CD8⁺.

O IFN- γ tem importância central, pois é responsável pela ativação de genes que codificam moléculas imunoreguladoras. Estas moléculas estão envolvidas com a quimiotaxia de imunócitos, adesão de leucócitos e vasodilatação que configuram o fenótipo final da doença (39). O sucesso de terapias com medicamentos biológicos anti-TNF- α , quando comparadas às terapias de depleção de células T, tem demonstrado

cl clinicamente que este mediador desempenha um papel central na patogênese da psoríase (40).

Outros mediadores têm sido ligados à psoríase: T-helper 17 e células T regulatórias, macrófagos, células dendríticas (CD), sinal de transdução de queratinócitos, novas citocinas incluindo interleucina (IL) -17, IL-22, IL-23 e IL-20. Esse fato leva a crer que a sua patogênese é formada por estágios, e em cada um deles diferentes tipos de células têm papel dominante. De acordo com esse modelo, o início da doença é similar a uma reação imune, que é composta por três fases: sensibilização, silenciosa e efetora (5). Durante a fase de sensibilização, as CD apresentam antígenos e subsequentemente induzem à formação de células Th17 e T1 que futuramente serão responsáveis por causar infiltração da pele. A seguir tem início uma fase silenciosa com duração variável. A partir dessa fase pode ou não se desenvolver a fase efetora, que se caracteriza por infiltração cutânea de células imunológicas, ativação de células imunes cutâneas e resposta queratinocítica. Após um tratamento de sucesso, a fase efetora se transpõe a uma fase silenciosa e, após um período variável, tem início uma nova fase efetora que representa a recidiva clínica (5).

Até o momento não foi identificado um autoantígeno ou imunógeno contra o qual se dá toda a reação inflamatória. Se a psoríase realmente é uma doença autoimune, como apontam as evidências, provavelmente um componente epidérmico, talvez a queratina, pode ser o candidato mais provável para esse papel. (26)

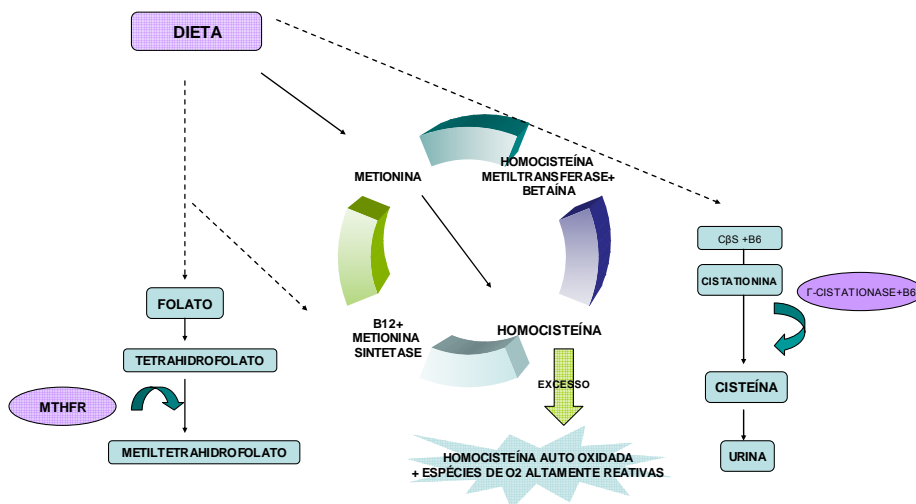
1.2 Gene *Metileno*tetrahidrofolato redutase e o metabolismo da homocisteína

A metileno

a conversão de 5-10 metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato. Essa última constitui uma forma circulatória do folato que atua como cofator na conversão (metilação) de homocisteína (HC) em metionina pela enzima metionina sintase (14, 15). Outras enzimas envolvidas são a timidilato sintase, que converte desoxiuridilato em desoxitimidilato, e a glicinamida ribonucleotídeo transformilase – importante na síntese das purinas (41).

A metionina, que é um aminoácido essencial obtido exclusivamente da dieta (qualquer fonte de proteína animal e feijão), é transformada no organismo em S-adenosilhomocisteína e depois em HC. Esta, por sua vez, pode ser utilizada em duas vias: metionina-sintase a transforma em metionina, e a cistationina-β-sintase em cisteína. A vitamina B12 e o 5-metiltetrahidrofolato (transformado a partir do ácido fólico) são cofatores da metionina redutase (via da metionina), cuja deficiência leva à transformação irreversível da HC pela cistationina-β-sintase em cisteína. Essas reações dependentes de HC suportam níveis baixos deste composto no organismo. A supressão de qualquer uma dessas vias resulta num aumento dos níveis séricos de HC (42).

Figura 5. Metabolismo da homocisteína



MTHFR: metilenotetrahidrofolato redutase; CBS: cistationina β-sintetase

Os níveis séricos normais de homocisteína em adultos variam entre 10-12 μ mol/l, sendo discretamente maiores em idosos (provavelmente por redução da filtração glomerular) e em homens (pelo metabolismo hormonal).

A hiperhomocisteinemia (HHC) (níveis acima de 15 μ mol/l) foi identificada como um fator de risco para muitas patologias, entre elas, doenças cerebrovasculares, distúrbios de fechamento do tubo neural, doença vascular periférica e cardiopatia isquêmica. Além disso, tem sido associada à suscetibilidade à psoríase, que, por sua vez, está relacionada a algumas das patologias anteriormente citadas (6).

Níveis aumentados de HC podem resultar de alterações genéticas, redução da função renal (pela idade ou doenças), de distúrbios dietéticos relacionados a vitaminas e nutrientes que participam do seu metabolismo ou excesso de metionina da dieta (16). Fatores dietéticos e hábitos que contribuem para HHC são tabagismo, etilismo e consumo pesado de café. Os fatores genéticos que associam estas patologias com níveis de homocisteína ainda são foco de estudo (19, 43, 44).

1.2.1 Polimorfismos C677T e A1298C do gene *MTHFR*

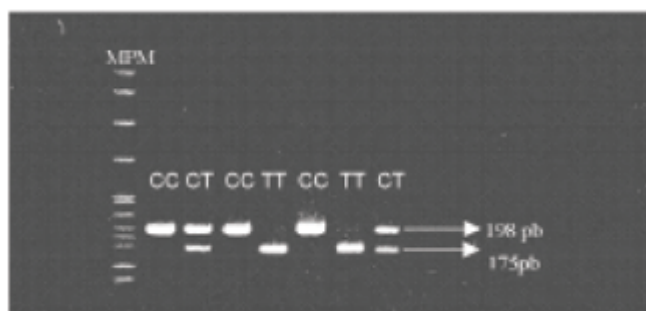
Um gene é considerado polimórfico se o alelo variante ocorre em ao menos 1% da população normal. Mais de dez polimorfismos foram descritos no gene *MTHFR*. Desses, C677T e A1298C têm sido associados a fenótipos alterados (41).

O polimorfismo C677T é o mais prevalente e mais amplamente estudado. Essa mutação consiste na substituição de citosina por timina no nucleotídeo 677 do gene *MTHFR*, resultando na troca dos aminoácidos alanina por valina (16). A frequência esperada na população é cerca de 40% de heterozigotos para o polimorfismo e 8-10% de homozigotos (45). A prevalência do C677T no Brasil foi reportada em um estudo de 1998, sendo que eram homozigotos para a mutação 10% dos caucasianos, 1,45% dos

negros e 1,2% dos indígenas e não houve diferença em relação ao gênero. Esses dados estão de acordo com a literatura mundial em relação aos caucasianos (46).

Esse polimorfismo no gene *MTHFR* resulta em uma variante termolábil da enzima *MTHFR*, com redução da atividade e consequente aumento dos níveis de homocisteína. Indivíduos heterozigotos para a mutação (CT) têm cerca de 60% da atividade da enzima quando comparados aos indivíduos normais (CC). Os indivíduos homozigotos para a mutação (TT) têm cerca de 30% da atividade da enzima *MTHFR* selvagem (16).

Figura 6. Gel de poliácridamida 8% com resultados para C677T do *MTHFR**.



MPM: Marcador de peso molecular; CC: homozigoto normal;
CT: heterozigoto; TT: homozigoto mutante

*Adaptado de Ann Bras Endocrinol Metabol. 2006 Dec;50(6):1059-65
com autorização de Maria Tereza Cartaxo Muniz.

Em relação ao polimorfismo A1298C, van der Put, em 1998, descreveu que ocorre a troca de adenina por citosina no nucleotídeo 1298 do gene *MTHFR*, resultando na substituição do aminoácido glutamato por alanina. Essa alteração gera uma discreta redução na atividade da enzima *MTHFR*. A frequência esperada de heterozigotos é cerca de 40-42% e para homozigotos é 6-13% (17, 47). Foi demonstrado que existe interação sinérgica entre os polimorfismos, uma vez que, isoladamente, o A1298C não resulta em aumento níveis séricos de homocisteína, mas contribui fortemente quando

associado ao C677T. Formas heterozigotas para ambos os polimorfismos equivalem à forma homozigota TT para C677T (17, 41, 48).

1.3 Polimorfismos C677T e A1298C e suscetibilidade à psoríase

Foram encontrados até o momento três estudos com o mesmo desenho realizados com o objetivo de verificar associação entre o polimorfismo C677T e suscetibilidade à psoríase. Não foram encontrados artigos estudando o polimorfismo A1298C com relação à psoríase.

O primeiro estudo a avaliar o polimorfismo C677T e a suscetibilidade à psoríase foi realizado em uma população de origem chinesa e com uma amostra reduzida. Foram estudados 39 casos de psoríase e comparados com 79 controles normais. O estudo descreve uma diferença de 18% nas frequências de 677TT, sendo significativamente maior nos casos (OR=3, $p<0,05$). Esse achado indica que naquela amostra o polimorfismo em questão pode estar relacionado à suscetibilidade à psoríase (18).

Em 2008 um estudo avaliando eurodescendentes realizado na Áustria comparou 310 casos de psoríase com 247 controles quanto ao polimorfismo C677T, mas não encontrou diferença significativa entre os grupos. O mesmo estudo analisou níveis séricos de homocisteína em 30 casos e 30 controles, mas também não identificou diferença estatística (19).

Recentemente, outro estudo com delineamento semelhante realizado com eurodescendentes da República Checa avaliou 410 casos de psoríase e 285 controles. Houve um achado surpreendente no desfecho primário, pois foi demonstrada diferença significativa entre os grupos, mas o genótipo que predominou nos casos foi 677CC,

contrariando o estudo chinês e a base teórica do estudo. Em análises secundárias, os achados foram contraditórios (20).

1.4 Implicações clínicas relevantes entre a psoríase e os polimorfismos do gene *MTHFR*

1.4.1 Associação dos polimorfismos do gene *MTHFR* com comorbidades relacionadas à psoríase

Há uma série de comorbidades importantes associadas à psoríase e que apresentam nesses pacientes maior prevalência do que na população em geral. Entre elas podem ser citadas diabetes melito, hipertensão arterial, cardiopatia isquêmica e síndrome plurimetabólica (6-9).

Um estudo britânico revelou que pacientes com psoríase severa têm mais comorbidades e recebem em média mais medicamentos do que pacientes internados por outras causas (10). Os fatores que relacionam estas patologias à psoríase podem ser tanto ambientais quanto genéticos.

Acredita-se estarem envolvidas a inflamação sistêmica com presença de mediadores pró-inflamatórios circulantes e ativação endotelial, os vários tratamentos sistêmicos utilizados e hábitos de vida pouco saudáveis como contribuintes para esse perfil cardiovascular desfavorável dos pacientes com psoríase (26).

Estudos epidemiológicos identificaram maiores taxas de mortalidade por causas cardiovasculares em pacientes psoriásicos com internação hospitalar durante a evolução da doença quando comparados a pacientes ambulatoriais. Esse achado sugere que quanto maior a gravidade da psoríase, ou seja, maior a reação inflamatória e talvez maior quantidade de fármacos sistêmicos, maiores são as taxas de mortalidade (49, 50).

Os níveis séricos de HC em pacientes com psoríase constituem um fator importante a ser estudado como mediador patogênico, pois estão também elevados na síndrome plurimetabólica e na cardiopatia isquêmica. A hiperhomocisteinemia é considerada fator de risco independente para doença cardiovascular (51), e seu mecanismo de toxicidade não é completamente conhecido, mas acredita-se estar relacionado a aumento de reações de redução e oxidação e subsequente liberação de espécies reativas de oxigênio (42). Essa explicação constitui um fator importante para maior ocorrência dessas doenças em pacientes portadores de psoríase (43, 44).

As causas para aumento de homocisteína sérica são dietéticas, farmacológicas e genéticas. Alguns estudos encontraram níveis séricos de homocisteína mais elevados em pacientes com psoríase quando comparados a controles normais.

1.4.2 Relação dos polimorfismos do gene *MTHFR* com tratamentos sistêmicos para psoríase

A terapêutica sistêmica é indicada para pacientes com doença extensa, com lesões disseminadas, pustulares ou rápida evolução mesmo na vigência de tratamentos tópicos. Os principais fármacos são o metotrexato, a acitretina, a ciclosporina, a sulfassalazina e mais recentemente os modificadores biológicos de resposta inflamatória (52-55).

Entre esses fármacos, o metotrexato é utilizado como primeira linha. Com baixo custo e bons resultados terapêuticos, foi introduzido como antipsoriásico em 1958 e foi aprovado pelo FDA em 1972. O mecanismo de ação exato do MTX não está totalmente esclarecido. Esse fármaco é estruturalmente um análogo do ácido fólico e, dessa forma, inibe competitivamente a enzima dihidrofolato redutase (DHFR), interferindo na síntese do DNA e conseqüentemente na divisão celular (56). Uma vez

introduzido na célula por transporte ativo, o MTX é convertido em poliglutamato pela enzima folipoliglutamato sintase e nessa forma tem múltiplas ações. Primariamente, o MTX inibe a DHFR, que é responsável pela conversão de dihidrofolato em tetraidrofolato, importante cofator na conversão de homocisteína em metionina e na síntese das poliaminas (14).

O MTX é um fármaco efetivo para o tratamento da psoríase, sendo considerado primeira escolha em casos moderados a graves. Entretanto, existe uma variação interpessoal importante tanto na resposta terapêutica quanto no perfil de toxicidade. A terapia com MTX pode ser complicada por supressão medular, hepatotoxicidade e intolerância gastrointestinal, sendo que até 30% dos pacientes necessitam interromper o uso por efeitos adversos. Os polimorfismos genéticos que envolvem a via metabólica do folato têm sido estudados como possíveis marcadores de sensibilidade individual ao MTX (41, 56, 57).

Os estudos que avaliaram o possível impacto desses polimorfismos tanto na eficácia quanto na segurança do MTX chegaram a resultados controversos. O polimorfismo C677T tem sido associado ao aumento de toxicidade (hepática e medular) em pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com MTX (58, 59). O mesmo vem sendo demonstrado para os polimorfismos C677T e A1298C em pacientes com artrite reumatóide tratados com MTX (60-62).

Em psoríase, existem poucos estudos avaliando ambos os polimorfismos com relação ao aumento do risco para toxicidade, mas em relação a C677T e A1298C não foi demonstrada diferença em relação a controles. Campalani et al. em 2007 avaliaram esses dois polimorfismos entre outros relacionados ao metabolismo da homocisteína em 203 pacientes com psoríase tratados com MTX, mas não encontraram associação em relação à resposta clínica nem aumento de toxicidade em relação a

controles (57). Em 2009 Warren et al. avaliaram a presença dos polimorfismos em questão em 374 pacientes com psoríase que fizeram uso de MTX e fizeram comparações em relação à eficácia e toxicidade, mas não encontraram associações relevantes (63).

Os efeitos iatrogênicos dos tratamentos sistêmicos para psoríase podem também piorar o perfil de risco cardiovascular dos pacientes. O aumento dos níveis de homocisteína após uso de metotrexato e as mudanças dislipidêmicas relacionadas à ciclosporina e à acitretina podem aumentar custos do sistema público de saúde. O conhecimento de quais pacientes podem se beneficiar com os tratamentos e quais são suscetíveis ao desenvolvimento de efeitos adversos potencialmente graves e de alto custo pode ser obtido também através da farmacogenética (55, 64, 65).

2. OBJETIVOS

Avaliar a associação dos polimorfismos C677T e A1298C do gene *MTHFR* quanto à suscetibilidade à psoríase em pacientes e controles caucasianos do Rio Grande do Sul.

3.REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Schaefer I, Rustenbach SJ, Zimmer L, Augustin M. Prevalence of skin diseases in a cohort of 48,665 employees in Germany. *Dermatology*. 2008;217(2):169-72.
2. Icen M, Crowson CS, McEvoy MT, Dann FJ, Gabriel SE, Maradit Kremers H. Trends in incidence of adult-onset psoriasis over three decades: a population-based study. *J Am Acad Dermatol*. 2009 Mar;60(3):394-401.
3. Augustin M, Kruger K, Radtke MA, Schwappl I, Reich K. Disease severity, quality of life and health care in plaque-type psoriasis: a multicenter cross-sectional study in Germany. *Dermatology*. 2008;216(4):366-72.
4. Silva JDT MM, Bonamigo RR. Estratégias de coping e níveis de estresse em pacientes portadores de psoríase. *An Bras Dermatol*. 2006;81(2):143-9.
5. Sabat R, Philipp S, Hoflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, et al. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol*. 2007 Oct;16(10):779-98.
6. Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *Jama*. 2006 Oct 11;296(14):1735-41.
7. Kremers HM, McEvoy MT, Dann FJ, Gabriel SE. Heart disease in psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 2007 Aug;57(2):347-54.
8. Wakkee M, Thio HB, Prens EP, Sijbrands EJ, Neumann HA. Unfavorable cardiovascular risk profiles in untreated and treated psoriasis patients. *Atherosclerosis*. 2007 Jan;190(1):1-9.
9. Azfar RS, Gelfand JM. Psoriasis and metabolic disease: epidemiology and pathophysiology. *Curr Opin Rheumatol*. 2008 Jul;20(4):416-22.

10. Gerdes S, Zahl VA, Knopf H, Weichenthal M, Mrowietz U. Comedication related to comorbidities: a study in 1203 hospitalized patients with severe psoriasis. *Br J Dermatol*. 2008 Nov;159(5):1116-23.
11. Schon MP, Boehncke WH. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2005 May 5;352(18):1899-912.
12. Valdimarsson H. The genetic basis of psoriasis. *Clin Dermatol*. 2007 Nov-Dec;25(6):563-7.
13. Aggarwal P, Naik S, Mishra KP, Aggarwal A, Misra R. Correlation between methotrexate efficacy & toxicity with C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate gene in rheumatoid arthritis patients on folate supplementation. *Indian J Med Res*. 2006 Nov;124(5):521-6.
14. Ranganathan P, Eisen S, Yokoyama WM, McLeod HL. Will pharmacogenetics allow better prediction of methotrexate toxicity and efficacy in patients with rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis*. 2003 Jan;62(1):4-9.
15. Rady PL, Szucs S, Grady J, Hudnall SD, Kellner LH, Nitowsky H, et al. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *Am J Med Genet*. 2002 Jan 15;107(2):162-8.
16. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995 May;10(1):111-3.
17. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet*. 1998 May;62(5):1044-51.

18. Baiqiu W, Songbin F, Guiyin Z, Pu L. Study of the relationship between psoriasis and the polymorphic site C677T of methylenetetrahydrofolate reductase. *Chin Med Sci J*. 2000 Jun;15(2):119-20.
19. Weger W, Hofer A, Stanger O, Wolf P, El-Shabrawi Y, Renner W, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T gene polymorphism is not associated with chronic plaque psoriasis. *Exp Dermatol*. 2008 Sep;17(9):748-51.
20. Vasku V, Bienertova-Vasku J, Necas M, Vasku A. MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) C677T polymorphism and psoriasis. *Clin Exp Med*. 2009 May 30.
21. Leal L, Ribera M, Dauden E. [Psoriasis and HIV infection]. *Actas Dermosifiliogr*. 2008 Dec;99(10):753-63.
22. Rasmussen JE. The relationship between infection with group A beta hemolytic streptococci and the development of psoriasis. *Pediatr Infect Dis J*. 2000 Feb;19(2):153-4.
23. Higgins E. Alcohol, smoking and psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2000 Mar;25(2):107-10.
24. Berard F, Nicolas JF. [Physiopathology of psoriasis]. *Ann Dermatol Venereol*. 2003 Aug-Sep;130(8-9 Pt 2):837-42.
25. Freedberg I EA, Klaus W, Austen K, Goldsmith L, Katz S. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 6 th ed. New York: McGraw-Hill; 2003.
26. Griffiths CE, Barker JN. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet*. 2007 Jul 21;370(9583):263-71.
27. Ferrandiz C, Bordas X, Garcia-Patos V, Puig S, Pujol R, Smandia A. Prevalence of psoriasis in Spain (Epiderma Project: phase I). *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2001 Jan;15(1):20-3.

28. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. 1985 Sep;13(3):450-6.
29. Aslanian FM, Lisboa FF, Iwamoto A, Carneiro SC. Clinical and epidemiological evaluation of psoriasis: clinical variants and articular manifestations. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005 Jan;19(1):141-2.
30. Dubertret L, Mrowietz U, Ranki A, van de Kerkhof PC, Chimenti S, Lotti T, et al. European patient perspectives on the impact of psoriasis: the EUROPSO patient membership survey. *Br J Dermatol*. 2006 Oct;155(4):729-36.
31. Kumar B, Jain R, Sandhu K, Kaur I, Handa S. Epidemiology of childhood psoriasis: a study of 419 patients from northern India. *Int J Dermatol*. 2004 Sep;43(9):654-8.
32. Ragaz A, Ackerman AB. Evolution, maturation, and regression of lesions of psoriasis. New observations and correlation of clinical and histologic findings. *Am J Dermatopathol*. 1979 Fall;1(3):199-214.
33. Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR, Bakker PM, Cormane RH. Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res*. 1983;275(3):181-9.
34. Bowcock AM, Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol*. 2005 Sep;5(9):699-711.
35. Christophers E. Psoriasis--epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol*. 2001 Jun;26(4):314-20.
36. Langley RG, Krueger GG, Griffiths CE. Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Ann Rheum Dis*. 2005 Mar;64 Suppl 2:ii18-23; discussion ii4-5.

37. Hodge L, Comaish JS. Psoriasis: current concepts in management. *Drugs*. 1977 Apr;13(4):288-96.
38. Voorhees JJ. Pathophysiology of psoriasis. *Annu Rev Med*. 1977;28:467-73.
39. Peternel S, Kastelan M. Immunopathogenesis of psoriasis: focus on natural killer T cells. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009 Oct;23(10):1123-7.
40. Homey B, Meller S. Chemokines and other mediators as therapeutic targets in psoriasis vulgaris. *Clin Dermatol*. 2008 Sep-Oct;26(5):539-45.
41. Warren RB, Griffiths CE. The potential of pharmacogenetics in optimizing the use of methotrexate for psoriasis. *Br J Dermatol*. 2005 Nov;153(5):869-73.
42. Boldyrev AA. Molecular mechanisms of homocysteine toxicity. *Biochemistry (Mosc)*. 2009 Jun;74(6):589-98.
43. Vanizor Kural B, Orem A, Cimsit G, Uydu HA, Yandi YE, Alver A. Plasma homocysteine and its relationships with atherothrombotic markers in psoriatic patients. *Clin Chim Acta*. 2003 Jun;332(1-2):23-30.
44. Malerba M, Gisondi P, Radaeli A, Sala R, Calzavara Pinton PG, Girolomoni G. Plasma homocysteine and folate levels in patients with chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol*. 2006 Dec;155(6):1165-9.
45. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow A, Orbach H, Aamar S, Grenader T, et al. Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann Rheum Dis*. 2004 Oct;63(10):1227-31.
46. Arruda VR, Siqueira LH, Goncalves MS, von Zuben PM, Soares MC, Menezes R, et al. Prevalence of the mutation C677 --> T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med Genet*. 1998 Jul 24;78(4):332-5.

47. Oliveira E, Alves S, Quental S, Ferreira F, Norton L, Costa V, et al. The MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia in Portugal. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2005 Aug;27(8):425-9.
48. Kamel AM, Moussa HS, Ebid GT, Bu RR, Bhatia KG. Synergistic effect of methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphism as risk modifiers of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2007 Jun;19(2):96-105.
49. Mallbris L, Akre O, Granath F, Yin L, Lindelof B, Ekbom A, et al. Increased risk for cardiovascular mortality in psoriasis inpatients but not in outpatients. *Eur J Epidemiol*. 2004;19(3):225-30.
50. Stern RS, Lange R. Cardiovascular disease, cancer, and cause of death in patients with psoriasis: 10 years prospective experience in a cohort of 1,380 patients. *J Invest Dermatol*. 1988 Sep;91(3):197-201.
51. Clarke R, Lewington S. Homocysteine and coronary heart disease. *Semin Vasc Med*. 2002 Nov;2(4):391-9.
52. Warren RB, Griffiths CE. Systemic therapies for psoriasis: methotrexate, retinoids, and cyclosporine. *Clin Dermatol*. 2008 Sep-Oct;26(5):438-47.
53. Warren RB, Chalmers RJ, Griffiths CE, Menter A. Methotrexate for psoriasis in the era of biological therapy. *Clin Exp Dermatol*. 2008 Aug;33(5):551-4.
54. Thaci D. Long-term data in the treatment of psoriasis. *Br J Dermatol*. 2008 Aug;159 Suppl 2:18-24.
55. Kimball AB, Kupper TS. Future perspectives/quo vadis psoriasis treatment? Immunology, pharmacogenomics, and epidemiology. *Clin Dermatol*. 2008 Sep-Oct;26(5):554-61.

56. Roenigk HH, Jr., Auerbach R, Maibach H, Weinstein G, Lebwohl M. Methotrexate in psoriasis: consensus conference. *J Am Acad Dermatol.* 1998 Mar;38(3):478-85.
57. Campalani E, Arenas M, Marinaki AM, Lewis CM, Barker JN, Smith CH. Polymorphisms in folate, pyrimidine, and purine metabolism are associated with efficacy and toxicity of methotrexate in psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2007 Aug;127(8):1860-7.
58. Ulrich CM, Yasui Y, Storb R, Schubert MM, Wagner JL, Bigler J, et al. Pharmacogenetics of methotrexate: toxicity among marrow transplantation patients varies with the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Blood.* 2001 Jul 1;98(1):231-4.
59. Chiusolo P, Reddiconto G, Casorelli I, Laurenti L, Sora F, Mele L, et al. Preponderance of methylenetetrahydrofolate reductase C677T homozygosity among leukemia patients intolerant to methotrexate. *Ann Oncol.* 2002 Dec;13(12):1915-8.
60. Kumagai K, Hiyama K, Oyama T, Maeda H, Kohno N. Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Mol Med.* 2003 May;11(5):593-600.
61. Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, Tanaka E, Nakajima H, Matsuda Y, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics.* 2002 Apr;12(3):183-90.
62. van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, Huizinga TW, Haagsma CJ, Giesendorf BA, et al. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk

factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2001 Nov;44(11):2525-30.

63. Warren RB, Smith RL, Campalani E, Eyre S, Smith CH, Barker JN, et al. Outcomes of methotrexate therapy for psoriasis and relationship to genetic polymorphisms. *Br J Dermatol.* 2009 Feb;160(2):438-41.

64. Dervieux T, Meshkin B, Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmacoeconomic implications. *Mutat Res.* 2005 Jun 3;573(1-2):180-94.

65. Hider SL, Morgan C, Bell E, Bruce IN. Will pharmacogenetics allow better prediction of methotrexate toxicity and efficacy in patients with RA? *Ann Rheum Dis.* 2003 Jun;62(6):591; author reply -2.

4. ARTIGO EM INGLÊS

Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are not associated with psoriasis in Southern Brazil

Gabriela Maldonado¹, Ana Paula Carneiro Brandalize^{2,3}, Renan Rangel Bonamigo⁴,
Mariana Jobim⁵, Analia Maldonado⁶, Fernanda Lindhal⁵
Lavinia Schüller-Faccini^{2,3} & Paulo Dornelles Picon⁷

¹Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; ²Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; ³Serviço de Genética, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil; ⁴Ambulatório de Dermatologia Sanitária do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil; ⁵Serviço de Imunologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil; ⁶Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; ⁷Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Correspondence: Gabriela Maldonado, Unidade de Pesquisa Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, Porto Alegre, Brazil, e-mail: gmalld@terra.com.br

Key words: MTHFR gene, polymorphisms C677T and A1298C, PCR, psoriasis

Abstract

Introduction: Psoriasis is a systemic chronic inflammatory disease that affects predominantly the skin and joints. It has multifactorial and not fully understood causes. Several genes and polymorphisms have been associated with its occurrence. Among these, some studies evaluated the influence of the polymorphisms C677T and A1298C of *MTHFR* gene in different populations (Asian and Euro-descendants) with contradictory results. So far, few studies have been published involving genetic susceptibility to psoriasis in Brazilian patients.

Material and methods: This study (n=339 subjects) compared 142 euro-descendent psoriasis patients and 197 euro-descendent controls for the frequency of polymorphisms C677T and A1298C of *MTHFR* gene through polymerase chain reaction.

Results: The distribution of these genotypic variants was similar between case and control groups. The frequencies of the genotype 677TT of *MTHFR* gene was 16% in the cases and 9% in the controls and 1298CC 2,8% in cases and 4,1% in controls . This differences were not statistically significant ($p=0.103$ and $p=0,824$, respectively). When combined genotypes were compared, there was no difference between the groups.

Conclusion: Our data did not confirm previous studies demonstrating association between this polymorphisms and psoriasis neither synergistic action between the two polymorphisms in reducing *MTHFR* activity.

Introduction

Psoriasis is a common, chronic, recurring disease that occurs worldwide, without gender predominance, with a prevalence of between 1.5-2% in euro-descendants, which leads to considerable loss of quality of life (1, 2). In its common presentation it associates hyperproliferation and early differentiation of keratinocytes with the pathogenesis closely related to autoimmunity (3, 4). The skin lesions are sharply demarcated erythematous plaques of various sizes covered with silvery scaling (5).

A number of important comorbidities are associated with psoriasis, including diabetes mellitus, arterial hypertension, metabolic syndrome, colitis and rheumatoid arthritis (6-8). A recent British study revealed that patients with severe psoriasis have more comorbidities and receive on average more medications than patients hospitalized for other causes (9), and it is also recognized that psoriasis itself must be treated with systemic medications in the most severe cases (10-13).

The research for genetic predisposition to this disease has been intense, especially on the major histocompatibility complex (MHC) region on the chromosome 6p21.3, where the locus PSORS 1 resides, which confers susceptibility to psoriasis. An association of psoriasis with Cw06 has also been reported (4, 14, 15). It should be pointed out that few genes related to psoriasis are associated with other autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, colitis and diabetes mellitus (16, 17).

The methylenetetrahydrofolate reductase enzyme (MTHFR) is codified by the gene with the same name, and is in charge of DNA methylation, which is an important characteristic to regulate genes and for cell differentiation. Besides, *MTHFR* performs central regulatory activity in the folate/homocysteine pathway and catalyzes the conversion of 5,10-methylenetetrahydrofolate into 5-methyltetrahydrofolate, whose function is to promote the conversion of homocysteine into methionine (18, 19).

Homocysteine serum levels in patients with psoriasis are a major factor to be studied as a pathogenic mediator, since they are also high in diseases associated to psoriasis. A few studies found higher homocysteine serum levels in psoriasis patients compared to normal controls (20, 21).

C677T is the most frequent polymorphism and most widely studied and replaces cytosine by thymine in nucleotide 677 of gene *MTHFR*, resulting in the exchange of the amino acids alanine for valine. This polymorphism reduces the enzymatic activity, and increases the serum levels of homocysteine (18). Another important polymorphism is A1298C and results in the substitution of alanine by glutamate. This polymorphism generates a reduction of activity of this enzyme, but at that time no alteration of the homocysteine or folate serum levels was observed (19). It is also expected a synergistic interaction between these polymorphisms of *MTHFR* gene (22). When the heterozygous forms are compared for both variants, there is a significant reduction of enzyme activity (19).

The relation between the presence of these polymorphisms and susceptibility to psoriasis was analyzed in few different populations, and the results are contradictory (23, 24). The aim of this study was to investigate the possible association between C677T and A1298C polymorphisms of *MTHFR* gene and psoriasis.

Material and methods

Sample

Euro-descendent patients of both sexes were chosen who had a clinical diagnosis of psoriasis and were being followed at the Outpatient Clinic of Dermatology at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)- Brazil and at the Outpatient Clinic of Sanitary Dermatology of the Rio Grande do Sul State Department of Health, Brazil. The

control group was healthy women that were randomly selected to participate in the study, during a blood collection for routine laboratory analyses at HCPA.

To be assured that the control samples were appropriated for this study we compared the study case and control group with respect to the major factor that could theoretically influence the analysis: the ethnicity. To deal with some population's heterogeneity, we excluded the non euro-descendent participants. It's important to note that in South Brazil, especially in Rio Grande do Sul state, less racial admixture is observed due to the strong European colonization.

All the patients used the public health system, and were only included after signing the Free and Informed Letter of Consent approved by the Committee of Ethics in Research of the institutions involved.

Analysis of *MTHFR* gene polymorphisms

After signing the informed consent, 5 ml peripheral blood was collected in EDTA. DNA was extract according to Lahiri and Nurnberger (25). C677T and A1298C polymorphisms on the *MTHFR* gene were analyzed by the polymerase chain reaction (PCR) with specific primers and protocols as described by Frosst et al. and Van der Put et al.(18, 19). The PCR-amplified fragments were digested with endonucleases *HinfI* and *MboII* and analyzed by electrophoresis in 6% and 8% polyacrylamide gel, respectively.

Statistical analysis

The sample size was calculated based on a study that found an 18% difference between the homozygotes of each group (23). Eighty cases and 80 controls would be required to find this difference with a power of 90% and confidence interval of 95%.

The data was stored in a Microsoft Excel database. The Chi-square test was used to test for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium and to compare allelic and genotypic frequencies between the groups. The odds ratio (OR) was determined to measure the possible combinations between *MTHFR* genotypes and its association with psoriasis. The combined analysis was determined with the Mantel-Haenszel test. The significance level was $p < 0.05$ and the confidence interval (CI) was 95%.

Results

A total of 142 patients with a clinical diagnosis of psoriasis and 197 normal controls were studied. Table 1 shows the genotype distribution for *MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms among case and control samples. The genotype distribution of these *MTHFR* polymorphisms was similar for the groups and was in Hardy-Weinberg equilibrium ($p = 0.6$ and $p = 0.06$, respectively). Likewise, when the CC versus CT+TT and AA versus AC+CC were compared no statistically significant difference between the groups was observed. (Table 2)

The effect of the combined genotypes on psoriasis was investigated by analysis of the genotypic distribution of the two *MTHFR* polymorphisms. As shown in table 3, no significant differences were detected among the groups.

Discussion

The first study to analyze the possible association between C677T polymorphism of *MTHFR* gene and psoriasis was done in 2000. This Chinese study that included 39 psoriasis patients and 79 controls reported an association between this polymorphism and susceptibility to psoriasis (OR = 3; $p < 0.05$) (23). A possible explanation suggested is that the *MTHFR* 677T variant is involved in DNA methylation

reactions that are important in the regulation of gene expressions and cellular differentiation. According to some studies the DNA of homozygous polymorphism (677TT genotype) is hypomethylated if compared with DNA from those that carries the wild-type 677CC genotype (26). This altered status of methylation could trigger an upregulation of some genes (SHP-1 promoter II and p16) that may help to explain the psoriasis pathogenesis (26, 27).

In 2008, an Austrian study evaluated the frequency of the same polymorphism in 310 Euro-descendants psoriasis patients and 247 controls, but did not find a significant difference between the groups. The study also analyzed the homocysteine serum levels of 30 cases and 30 controls, but even didn't observe any difference between these groups (24).

Recently, another study with similar design, carried out also with Euro-descendants (Czech) subjects (410 cases and 285 controls) found some differences between the groups. The 677CC genotype was significantly more frequent in psoriatic patient (OR=1.55, CI 1.12-2.15, $p<0.005$) (28). This results was unexpected and the authors justified this by the variations of frequency of the TT genotype in Europe. However, a significant increase of 677T was observed in secondary analysis when they compared psoriatic patients with positive family history of diabetes ($p=0.02$) and those with frequent tonsillitis/tonsillectomy ($p=0.04$). No studies were found about susceptibility to psoriasis and polymorphism A1298C.

In our study, psoriasis patients were compared to normal controls in relation to polymorphisms C677T and A1298C of MTHFR gene. There are few works on this topic. Existing information is based on different populations and showed contradictory results. This is the first study performed with Brazilian samples using this approach. For polymorphism C677T, the genotype frequencies of 677TT were 16% in the cases and

9% in the controls, and is expected for Brazilian population (29). There was no differences for A1298C and even for combined genotypes of both polymorphisms.

A possible complementation of our study could be the comparison between groups treated or not with methotrexate. The therapeutic response and methotrexate toxicity are interesting issues to be analyzed because this pharmaceutical is related to the folate and homocysteine metabolism.

About 20% of the patients do not respond, and 24-30% need to interrupt treatment due to adverse effects.(30, 31) Several studies have evaluated the influence of the polymorphisms of *MTHFR gene* in this therapeutic response or toxicity, but the results are still inconclusive. A few of them, performed on patients with rheumatoid arthritis and leukemia showed that the presence of these polymorphisms may lead to increased toxicity in patients treated with methotrexate (30, 32-34) and others did not show this outcome(35-37). Few studies were published about psoriasis, evaluating the polymorphisms and their relation to the increased risk of toxicity, between 2007 and 2009. Those few didn't show any significant difference when the outcomes were compared to controls (38, 39).

Further studies are required to see whether the patients with the variants discussed, when treated for psoriasis with methotrexate will present higher rates of toxicity or failure in response. These data may be useful in future, in the sense of reducing iatrogenic complications, and consequently their costs to the health system, seeking better pharmacoeconomics implications (40, 41).

Conclusion

Based in our findings it is not possible to establish an association between the polymorphisms C677T and A1298C of *MTHFR* gene and susceptibility to psoriasis in Caucasian subjects from Southern Brazil.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgments:

This study was performed with the help of the Dermatology Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre through professors Lucio Bakos and Tânia Ferreira Cestari, and the help of the Sanitary Dermatology Outpatient Clinic of Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul through MD Cecília Cassal.

Table 1. Genotypic distributions of MTHFR gene between case and control

<i>MTHFR C677T</i>	Genotypic Frequency - n (%)			<i>p</i> *
	CC	CT	TT	
Case (142)	58 (40,8)	60 (42,3)	24 (16,9)	
Control (197)	86 (43,7)	93 (47,2)	18 (9,1)	0,103
<i>MTHFR A1298C</i>	AA	AC	CC	
Case (142)	82 (57,7)	56 (39,4)	4 (2,8)	
Control (197)	113 (57,4)	76 (38,6)	8 (4,1)	0,824

* 5% significant according to Chi-square test

Table 2: MTHFR C677T and A1298C genotypes in cases vs. controls

<i>C677T</i>	Genotype frequency - n(%)		<i>p</i> *
	CC	CT / TT	
Cases (142)	58 (40,8)	84 (59,2)	
Controls (197)	86 (43,7)	111 (56,3)	0,605
<i>A1298C</i>	AA	AC / CC	
Cases (142)	82 (57,7)	60 (42,3)	
Controls (197)	113 (57,4)	84 (42,6)	0,943

* 5% significant according to Chi-square test

Table 3: Frequencies of combined genotypes of the MTHFR gene in psoriasis patients and normal controls

<i>C677T</i>	<i>A1298C</i>	Cases <i>n=142</i>	Controls <i>n=197</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i> *
-	-	25	43	1,0 ^a	-
-	+	33	43	0,76 (0,37 – 1,42)	0,433
+	-	57	70	0,72 (0,40 – 1,32)	0,295
+	+	27	41	0,88 (0,44 – 1,76)	0,724

^a Reference value

- Genotypes CC and AA; + Genotypes CT+TT and AC+CC

* 5% significant according to the Mantel-Haenszel test

References

1. Ferrandiz C, Bordas X, Garcia-Patos V, Puig S, Pujol R, Smandia A. Prevalence of psoriasis in Spain (Epiderma Project: phase I). *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2001 Jan;15(1):20-3.
2. Nevitt GJ, Hutchinson PE. Psoriasis in the community: prevalence, severity and patients' beliefs and attitudes towards the disease. *Br J Dermatol*. 1996 Oct;135(4):533-7.
3. Sabat R, Philipp S, Hoflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, et al. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol*. 2007 Oct;16(10):779-98.
4. Guilhou JJ, Moles JP. New hypotheses in the genetics of psoriasis and other 'complex' diseases. *Dermatology*. 2008;216(2):87-92.
5. Dubertret L, Mrowietz U, Ranki A, van de Kerkhof PC, Chimenti S, Lotti T, et al. European patient perspectives on the impact of psoriasis: the EUROPSO patient membership survey. *Br J Dermatol*. 2006 Oct;155(4):729-36.
6. Kremers HM, McEvoy MT, Dann FJ, Gabriel SE. Heart disease in psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 2007 Aug;57(2):347-54.
7. Wakkee M, Thio HB, Prens EP, Sijbrands EJ, Neumann HA. Unfavorable cardiovascular risk profiles in untreated and treated psoriasis patients. *Atherosclerosis*. 2007 Jan;190(1):1-9.
8. Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *Jama*. 2006 Oct 11;296(14):1735-41.
9. Gerdes S, Zahl VA, Knopf H, Weichenthal M, Mrowietz U. Comedication related to comorbidities: a study in 1203 hospitalized patients with severe psoriasis. *Br J Dermatol*. 2008 Nov;159(5):1116-23.

10. Warren RB, Griffiths CE. Systemic therapies for psoriasis: methotrexate, retinoids, and cyclosporine. *Clin Dermatol*. 2008 Sep-Oct;26(5):438-47.
11. Warren RB, Chalmers RJ, Griffiths CE, Menter A. Methotrexate for psoriasis in the era of biological therapy. *Clin Exp Dermatol*. 2008 Aug;33(5):551-4.
12. Thaci D. Long-term data in the treatment of psoriasis. *Br J Dermatol*. 2008 Aug;159 Suppl 2:18-24.
13. Kimball AB, Kupper TS. Future perspectives/quo vadis psoriasis treatment? Immunology, pharmacogenomics, and epidemiology. *Clin Dermatol*. 2008 Sep-Oct;26(5):554-61.
14. Schon MP, Boehncke WH. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2005 May 5;352(18):1899-912.
15. Valdimarsson H. The genetic basis of psoriasis. *Clin Dermatol*. 2007 Nov-Dec;25(6):563-7.
16. Langley RG, Krueger GG, Griffiths CE. Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Ann Rheum Dis*. 2005 Mar;64 Suppl 2:ii18-23; discussion ii4-5.
17. Bowcock AM, Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol*. 2005 Sep;5(9):699-711.
18. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995 May;10(1):111-3.
19. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet*. 1998 May;62(5):1044-51.

20. Malerba M, Gisondi P, Radaeli A, Sala R, Calzavara Pinton PG, Girolomoni G. Plasma homocysteine and folate levels in patients with chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol*. 2006 Dec;155(6):1165-9.
21. Vanizor Kural B, Orem A, Cimsit G, Uydu HA, Yandi YE, Alver A. Plasma homocysteine and its relationships with atherothrombotic markers in psoriatic patients. *Clin Chim Acta*. 2003 Jun;332(1-2):23-30.
22. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow A, Orbach H, Aamar S, Grenader T, et al. Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann Rheum Dis*. 2004 Oct;63(10):1227-31.
23. Baiqiu W, Songbin F, Guiyin Z, Pu L. Study of the relationship between psoriasis and the polymorphic site C677T of methylenetetrahydrofolate reductase. *Chin Med Sci J*. 2000 Jun;15(2):119-20.
24. Weger W, Hofer A, Stanger O, Wolf P, El-Shabrawi Y, Renner W, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T gene polymorphism is not associated with chronic plaque psoriasis. *Exp Dermatol*. 2008 Sep;17(9):748-51.
25. Lahiri DK, Nurnberger JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991 Oct 11;19(19):5444.
26. Ruchusatsawat K, Wongpiyabovorn J, Shuangshoti S, Hirankarn N, Mutirangura A. SHP-1 promoter 2 methylation in normal epithelial tissues and demethylation in psoriasis. *J Mol Med*. 2006 Feb;84(2):175-82.
27. Zhang K, Zhang R, Li X, Yin G, Niu X, Hou R. The mRNA expression and promoter methylation status of the p16 gene in colony-forming cells with high

proliferative potential in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol.* 2007 Nov;32(6):702-8.

28. Vasku V, Bienertova-Vasku J, Necas M, Vasku A. MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) C677T polymorphism and psoriasis. *Clin Exp Med.* 2009 May 30.

29. Arruda VR, Siqueira LH, Goncalves MS, von Zuben PM, Soares MC, Menezes R, et al. Prevalence of the mutation C677 --> T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med Genet.* 1998 Jul 24;78(4):332-5.

30. van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, Huizinga TW, Haagsma CJ, Giesendorf BA, et al. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2001 Nov;44(11):2525-30.

31. Roenigk HH, Jr., Auerbach R, Maibach H, Weinstein G, Lebwohl M. Methotrexate in psoriasis: consensus conference. *J Am Acad Dermatol.* 1998 Mar;38(3):478-85.

32. Chiusolo P, Reddiconto G, Casorelli I, Laurenti L, Sora F, Mele L, et al. Preponderance of methylenetetrahydrofolate reductase C677T homozygosity among leukemia patients intolerant to methotrexate. *Ann Oncol.* 2002 Dec;13(12):1915-8.

33. Ulrich CM, Yasui Y, Storb R, Schubert MM, Wagner JL, Bigler J, et al. Pharmacogenetics of methotrexate: toxicity among marrow transplantation patients varies with the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Blood.* 2001 Jul 1;98(1):231-4.

34. Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, Tanaka E, Nakajima H, Matsuda Y, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with

both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics*. 2002 Apr;12(3):183-90.

35. Aggarwal P, Naik S, Mishra KP, Aggarwal A, Misra R. Correlation between methotrexate efficacy & toxicity with C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate gene in rheumatoid arthritis patients on folate supplementation. *Indian J Med Res*. 2006 Nov;124(5):521-6.

36. Kumagai K, Hiyama K, Oyama T, Maeda H, Kohno N. Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Mol Med*. 2003 May;11(5):593-600.

37. Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, Bostick R, et al. Lack of association between the C677T MTHFR polymorphism and colorectal hyperplastic polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000 Apr;9(4):427-33.

38. Campalani E, Arenas M, Marinaki AM, Lewis CM, Barker JN, Smith CH. Polymorphisms in folate, pyrimidine, and purine metabolism are associated with efficacy and toxicity of methotrexate in psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2007 Aug;127(8):1860-7.

39. Warren RB, Smith RL, Campalani E, Eyre S, Smith CH, Barker JN, et al. Outcomes of methotrexate therapy for psoriasis and relationship to genetic polymorphisms. *Br J Dermatol*. 2009 Feb;160(2):438-41.

40. Dervieux T, Meshkin B, Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmaco-economic implications. *Mutat Res*. 2005 Jun 3;573(1-2):180-94.

41. Rogowski W. Current impact of gene technology on healthcare. A map of economic assessments. *Health Policy*. 2007 Feb;80(2):340-57.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O conhecimento sobre o tema abordado neste estudo ainda é escasso e controverso. Apenas três estudos anteriores abordaram o tema, sendo que o primeiro demonstrou associação do polimorfismo C677T do gene *MTHFR* numa população de pacientes orientais (18). Pacientes caucasianos foram avaliados em mais dois estudos que não demonstraram associação nos desfechos primários (19, 20).

Nosso estudo, também realizado com pacientes caucasianos portadores de psoríase, vem corroborar os achados desses dois últimos trabalhos e não demonstrou associação entre os polimorfismos A1298C e C677T e a suscetibilidade à psoríase.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título original do projeto como foi submetido ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação. Os dados apresentados nessa dissertação são parciais :

“ESTUDO SOBRE A ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS C677T E A1298C DO GENE *MTHFR* E A TOXICIDADE AO METOTREXATE, EM PACIENTES COM PSORÍASE”

Financiamento: Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos- HCPA

Coordenador da Pesquisa: Prof. Paulo Dornelles Picon

Pesquisadora Responsável: Gabriela Maldonado

Objetivos e relevância do estudo

Os efeitos colaterais que o paciente pode apresentar quanto está usando remédio para o tratamento da psoríase são um grande problema para saúde pública. Quando o paciente desenvolve efeitos colaterais graves estes podem ser causa de troca de tratamento, aumentado tempo de tratamento, hospitalização e, até mesmo, de morte. O metotrexate é um dos principais medicamentos utilizados no tratamento da psoríase e também um dos remédios que mais causa efeitos colaterais graves. Esta pesquisa tem como objetivo a avaliação do fígado, rins e das células sanguíneas para saber se o paciente tem maior chance de ter efeitos colaterais quando está tomando o metotrexate para psoríase. Além disso, serão pesquisados dois fatores genéticos que podem estar relacionados com o desenvolvimento de efeitos colaterais quando se está em uso do metotrexato.

Procedimentos:

Os voluntários que decidirem participar da pesquisa serão submetidos à coleta de 10 ml de sangue que será realizada na face anterior do antebraço com agulha e seringa descartáveis, antecedido por anti-sepsia local com álcool e algodão. A amostra de sangue será utilizada para realização dos testes genéticos.

Local do Estudo

Os procedimentos de coleta de sangue e entrevista serão realizados no Ambulatório de Dermatologia Sanitária em Porto Alegre, no Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. As análises genéticas e dosagens enzimáticas serão realizadas no Serviço de Genética HCPA- UFRGS.

Riscos e desconfortos

Os riscos e desconfortos aos participantes deste estudo são aqueles associados aos procedimentos descritos acima. A coleta de sangue é de uma pequena quantidade (10mL) e por isso dificilmente causará algum mal-estar geral (1 em cada 1000 pessoas), no entanto poderá haver dor no local da coleta e eventualmente um pequeno hematoma. Os demais procedimentos (exames) serão feitos em material já coletado e congelado para posterior exame e por isso não causarão desconfortos aos participantes do estudo.

Desistência na participação do estudo

A participação de cada indivíduo neste estudo é voluntária, ou seja, quem não quiser participar do estudo estará livre para fazê-lo sem que haja qualquer perda no atendimento de seus problemas de saúde a que tem direito. Se concordar em participar do estudo e mudar de idéia no decorrer do mesmo, da mesma forma não sofrerá perdas relacionadas ao atendimento a que tem direito para seus problemas de saúde.

Benefícios

Os procedimentos médicos aos quais o participante do estudo será submetido poderão gerar novos conhecimentos científicos com conseqüente melhoria do

tratamento de pacientes que necessitem tratamento para psoríase. Se você desejar poderá tomar conhecimento dos resultados obtidos nesta pesquisa.

Gostaria de ser comunicado de resultados desta pesquisa?

Sim, gostaria.

Não gostaria de ser comunicado dos resultados desta pesquisa.

Compensação financeira

Não haverá nenhum pagamento aos pacientes que concordarem em participar da pesquisa, bem como os participantes da pesquisa não terão nenhum custo adicional relacionado aos exames realizados.

Confidencialidade das informações

Toda a informação que será fornecida pelos participantes do estudo e os resultados dos exames realizados serão considerados confidenciais e conhecidos somente pela equipe envolvida no estudo, isto é, não será permitido o acesso a terceiros. Todos os questionários e materiais coletados serão identificados através de um código (número) criado na entrada do estudo, este código será a única identificação utilizada no banco de dados do estudo. Este banco será utilizado para análise dos dados e divulgação dos mesmos no meio científico.

Perguntas e dúvidas relacionadas ao estudo

Este termo de consentimento explica de forma clara o estudo que está sendo proposto e convida os indivíduos a participar, no entanto se houver alguma dúvida estas poderão ser esclarecidas pela equipe do estudo, através da Gabriela Maldonado em qualquer momento do estudo pelo telefone: 21018752.

Autorização para estocagem de material biológico

1. Permito que minha amostra de sangue seja guardada para ser utilizada em outra pesquisa, mediante protocolo de pesquisa autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas, ficando no entanto livre para solicitar a destruição da mesma, a qualquer momento, se assim desejar; **(sem minha identificação e/ou mantendo minha privacidade).**

Sim, permito.

Não permito que minha amostra seja utilizada em novos estudos.

Desejo que minha amostra seja destruída, após o fim do presente estudo.

2. Gostaria de ser comunicado de resultados que possam interessar-me;

Sim, gostaria.

Não gostaria de ser comunicado de novos resultados.

O significado de sua assinatura

A sua assinatura abaixo significa que você entendeu a informação que lhe foi fornecida sobre o estudo e sobre este termo de consentimento. Se você assinar este documento significa que você concorda em participar do estudo. Você receberá uma cópia deste termo de consentimento.

Assinatura do voluntário Data:

Assinatura do entrevistador Data:

Assinatura do coordenador do estudo Data:

Obs.: O presente documento, baseado no item IV das diretrizes e normas regulamentadoras para pesquisa em Saúde, do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 196/96), será assinado em duas vias, de igual teor, ficando uma via em poder do voluntário ou de seu responsável legal e outra com o pesquisador responsável.

