

# Изучение независимых и сопряженных эффектов молекулярной генетической предрасположенности и средовых воздействий при шизофрении: результаты исследования EUGEI

Sinan Guloksuz<sup>1,2</sup>, Lotta-Katrin Pries<sup>1</sup>, Philippe Delespaul<sup>1</sup>, Gunter Kenis<sup>1</sup>, Jurjen J. Luykx<sup>3-5</sup>, Bochao D. Lin<sup>4</sup>, Alexander L. Richards<sup>6</sup>, Berna Akdede<sup>7</sup>, Tolga Binbay<sup>7</sup>, Vesile Altınyazar<sup>8</sup>, Berna Yalınçetin<sup>9</sup>, Güvem Gümüş, Akay<sup>10</sup>, Burçin Cihan<sup>11</sup>, Haldun Soygür<sup>12</sup>, Halis Ulas<sup>13</sup>, Eylem Şahin Cankurtaran<sup>14</sup>, Semra Ulusoy Kaymak<sup>15</sup>, Marina M. Mihaljevic<sup>16,17</sup>, Sanja Andric Petrovic<sup>17</sup>, Tijana Mirjanic<sup>18</sup>, Miguel Bernardo<sup>19-21</sup>, Bibiana Cabrera<sup>19,21</sup>, Julio Bobes<sup>21-24</sup>, Pilar A. Saiz<sup>21-24</sup>, María Paz García-Portilla<sup>21-24</sup>, Julio Sanjuan<sup>21,25</sup>, Eduardo J. Aguilar<sup>21,25</sup>, José Luis Santos<sup>21,26</sup>, Estela Jiménez-López<sup>21,27</sup>, Manuel Arrojo<sup>28</sup>, Angel Carracedo<sup>29</sup>, Gonzalo López<sup>21,30</sup>, Javier González Penas<sup>21,30</sup>, Mara Parellada<sup>21,30</sup>, Nadja P. Maric<sup>16,17</sup>, Cem Atbaşoğlu<sup>31</sup>, Alp Uçok<sup>32</sup>, Köksal Alptekin<sup>7</sup>, Meram Can Saka<sup>31</sup>, Genetic Risk and Outcome of Psychosis (GROUP) investigators\*, Celso Arango<sup>21,30</sup>, Michael O'Donovan<sup>6</sup>, Bart P.F. Rutten<sup>1</sup>, Jim van Os<sup>1,3,33</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychiatry and Neuropsychology, School for Mental Health and Neuroscience, Maastricht University Medical Center, Maastricht, The Netherlands;

<sup>2</sup>Department of Psychiatry, Yale School of Medicine, New Haven, CT, USA;

<sup>3</sup>Department of Psychiatry, UMC Utrecht Brain Center, University Medical Center Utrecht, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands;

<sup>4</sup>Department of Translational Neuroscience, UMC Utrecht Brain Center, University Medical Center Utrecht, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands;

<sup>5</sup>GGNet Mental Health, Apeldoorn, The Netherlands;

<sup>6</sup>MRC Centre for Neuropsychiatric Genetics and Genomics, Division of Psychological Medicine and Clinical Neurosciences, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, UK;

<sup>7</sup>Department of Psychiatry, Dokuz Eylül University School of Medicine, Izmir, Turkey;

<sup>8</sup>Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Adnan Menderes University, Aydin, Turkey;

<sup>9</sup>Department of Neuroscience, Health Sciences Institute, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey;

<sup>10</sup>Ankara University Brain Research Center, Ankara, Turkey;

<sup>11</sup>Department of Psychology, Middle East Technical University, Ankara, Turkey;

<sup>12</sup>Turkish Federation of Schizophrenia Associations, Ankara, Turkey;

<sup>13</sup>Department of Psychiatry, School of Medicine, Dokuz Eylül University (discharged by decree 701 on July 8, 2018 because of signing "Peace Petition");

<sup>14</sup>Güven Çayyolu Healthcare Campus, Ankara, Turkey;

<sup>15</sup>Atatürk Research and Training Hospital Psychiatry Clinic, Ankara, Turkey;

<sup>16</sup>Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

<sup>17</sup>Clinic for Psychiatry CCS, Belgrade, Serbia;

<sup>18</sup>Special Hospital for Psychiatric Disorders Kovin, Kovin, Serbia;

<sup>19</sup>Barcelona Clinic Schizophrenia Unit, Neuroscience Institute, Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain;

<sup>20</sup>Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer, Barcelona, Spain;

<sup>21</sup>Biomedical Research Networking Centre in Mental Health (CIBERSAM), Spain;

<sup>22</sup>Department of Psychiatry, School of Medicine, University of Oviedo, Oviedo, Spain;

<sup>23</sup>Instituto de Investigaciyn Sanitaria del Principado de Asturias, Oviedo, Spain;

<sup>24</sup>Mental Health Services of Principado de Asturias, Oviedo, Spain;

<sup>25</sup>Department of Psychiatry, Hospital Clínico Universitario de Valencia, School of Medicine, Universidad de Valencia, Valencia, Spain;

<sup>26</sup>Department of Psychiatry, Hospital Virgen de la Luz, Cuenca, Spain;

<sup>27</sup>Health and Social Research Center, Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, Spain;

<sup>28</sup>Department of Psychiatry, Instituto de Investigaciyn Sanitaria, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain;

<sup>29</sup>Fundaciyn Publica Galega de Medicina Xenómica, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain;

<sup>30</sup>Department of Child and Adolescent Psychiatry, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Universidad Complutense, Madrid, Spain;

<sup>31</sup>Department of Psychiatry, School of Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey;

<sup>32</sup>Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey;

<sup>33</sup>Department of Psychosis Studies, King's College London, Institute of Psychiatry, London, UK

\*The Genetic Risk and Outcome of Psychosis (GROUP) investigators in EUGEI are listed in the Appendix

Перевод: Шишкова Т.И. (Москва)

Редактура: к.м.н. Федотов И.А. (Рязань)

Guloksuz S et al. Examining the independent and joint effects of molecular genetic liability and environmental exposures in schizophrenia: results from the EUGEI study. *World Psychiatry* 2019;18(2):173-182.

*Шизофрения в настоящее время представляется комплексным наследуемым фенотипом. С одной стороны, он ассоциирован с генетической предрасположенностью, при этом вклад каждой из многочисленных и распространенных вариаций по отдельности невелик. С другой стороны, существует множество значимых средовых воздействий. Близнецовые и семейные исследования, которые ранее использовались в качестве замены прямых методов выявления генетического риска, позволяют предположить взаимодействие генетических и средовых факторов в этиологии шизофрении, но молекулярно-генетические данные достаточно скудны. Данный материал также раскрывает тему взаимодействия генетических и средовых факторов в генезе шизофрении: в нем проанализированы основные и сочетанные ассоциации уровня полигенного риска шизофрении (PRS-SCZ) и средовых воздействий у 1699 пациентов с диагнозом расстройств шизофренического спектра и 1542 представителей контрольной группы без соответствующих расстройств в анамнезе. Выявлена суммация эффекта состояния молекулярно-генетического риска шизофрении (бинарная модель PRS-SCZ более 75% от контрольного распределения) и такими внешними факторами, как регулярное употребление каннабиса на протяжении жизни и подверженность негативному воздействию в раннем возрасте (сексуальное и эмоциональное насилие, эмоциональная*

депривация, травля), но не выявлено взаимодействия с такими факторами, как нарушение слуха, время года, на которое приходится дата рождения, а также подверженность физическому насилию и депривации физических потребностей в детстве. Анализ чувствительности, в котором изначально выбранный уровень PRS-SCZ в 75% был заменен на более низкие уровни (25 и 50%) подтвердил выявленные взаимоотношения факторов. Наши результаты позволяют предположить, что в этиопатогенезе шизофрении играет роль генетическая предрасположенность, которая повышает чувствительность индивида к средовым воздействиям.

**Ключевые слова:** шизофрения, психоз, генетика, среда, взаимодействие генов и среды, полигенный риск, детская травма, каннабис, травля.

Шизофрения – комплексный фенотип, который характеризуется искаженным восприятием реальности, когнитивной дисфункцией и негативной симптоматикой. Хотя распространенность расстройств шизофренического спектра невысока – 0,47% для шизофрении (состояний с наименее благоприятным исходом) и 3% для других диагнозов, относящихся к группе психотических расстройств<sup>1</sup>, – они ассоциированы со значительным ущербом в личностном, социальном и экономическом аспектах. На шизофрению приходится 218 лет жизни, скорректированных по нетрудоспособности (DALY) из 100 000<sup>2</sup>, таким образом, шизофрения занимает по этому показателю пятое место в возрастной группе от 15 до 44. Таким образом, медицина остро нуждается в инновационных подходах к профилактике, диагностике и лечению расстройств шизофренического спектра, и добиться этого позволило бы понимание их этиологии и патогенеза.

За десятилетия работы над этой проблемой неоднократно было показано, что наследуемость этих расстройств достаточно высока, соответственно, в их развитии играет роль генетическая предрасположенность<sup>3,4</sup>. Последние данные датского национального регистра согласуются с самыми первыми семейными исследованиями шизофрении, оценивают наследуемость для расстройств шизофренического спектра в 73%, а для самой шизофрении – в 79%<sup>5</sup>.

На этих фактах из области количественной генетической эпидемиологии основан нынешний интерес к молекулярной генетике – среди изучающих расстройства шизофренического спектра эта область наиболее популярна. Доступность технологий, с одной стороны, недорогих и простых в применении, с другой – высокопроизводительных, подняла на новый уровень разрешающую способность генетических исследований. С целью объединить усилия по выявлению генов с малым размером эффекта в проектах по полногеномному поиску ассоциаций (GWA) был создан Консорциум по психиатрической геномике<sup>6</sup>. Рабочая группа по шизофрении в рамках этого консорциума идентифицировала 108 значимых локусов<sup>7</sup>, и количество возможных генетических вариаций возрастает пропорционально размеру выборки<sup>8</sup>. Как и предполагала полувекковой давности полигенная теория шизофрении<sup>9</sup>, GWA обнаружил, что значительная доля генетического риска обусловлена вариациями многочисленных генов, широко распространенных в популяции, но обладающих очень небольшим размером эффекта.

Тем не менее, обнаруженная в ходе GWA генетическая предрасположенность вследствие однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) объясняет лишь небольшую часть данных по наследуемости шизофрении, полученных в близнецовых исследованиях. Иными словами, существует своего рода «разрыв в наследуемости» между данными близнецовых и молекулярно-генетических исследований<sup>10</sup>. Наиболее вероятным объяснением этого разрыва является тот факт, что для изучаемых пар близнецов сходны не только генетические, но и многие средовые факторы, поскольку чаще всего они растут в одной семье<sup>10</sup>. В то же время этиология психотических расстройств, вероятно, состоит в генетической предрасположенности, которая повышает чувствительность индивида к средовым воздействиям или увеличивает его склонность подвергаться таким воздействиям<sup>11</sup>.

Наряду с расширением наших познаний в области генетики при исследовании средовых воздействий в генезе шизофрении также получены интересные результаты. Наблюдение выявило различные внешние факторы, ассоциированные с расстройствами психотического регистра, – все они демонстрируют разные уровни доказательности и размер эффекта. К таким внешним факторам относятся употребление каннабиса, детские травмы (например, сексуальное насилие, эмоциональная депривация), травля (буллинг), городская среда, условия, располагающие к отгороженности от общества (например, принадлежность к этническим меньшинствам, мигрантам или нарушение слуха), время года, на которое приходится дата рождения, осложнения беременности и родов<sup>12,13</sup>.

Таким образом, эмпирические исследования, опирающиеся на суррогатные показатели генетического риска (такие как семейный анамнез шизофрении), представляются в настоящий момент спорными из-за возможного вклада среды в получаемые результаты<sup>11</sup>, но интересной задачей видится перевод этих исследований в плоскость молекулярно-генетического анализа<sup>14</sup>.

Использование такого показателя, как уровень полигенного риска (PRS), для определения риска по данным молекулярной генетики значительно расширило возможности исследователей в определении ассоциированных фенотипов и выявлении взаимодействия генетических и средовых факторов. В настоящее время уровень полигенного риска шизофрении (PRS-SCZ) для определенного индивида определяется так: логарифмы отношения шансов для каждого SNP умножаются на количество аллелей, ассоциированных с риском, в интересующем локусе, и полученные результаты складываются<sup>15</sup>. PRS-SCZ на данный момент объясняет 7% на шкале предрасположенности к шизофрении, по крайней мере у пациентов с хроническими формами и в случае использования последней версии Консорциума по психиатрической геномике<sup>7</sup>.

В недавнем материале мы обсуждали трудности, с которыми сталкивается исследователь при оценке вклада средовых факторов в психиатрии, и пришли к выводу о необходимости системного подхода, который охватывал бы популяцию, подвергающуюся какому-либо фактору, в целом, – это позволит разграничить эффекты, возникающие за счет реактивности индивида и за счет изначально мощного влияния внешнего фактора<sup>16</sup>. Отталкиваясь от этих результатов, в данной статье мы попытались проанализировать основные и сопряженные ассоциации между средовыми воздействиями и PRS-SCZ в кросс-секционной выборке, созданной специально для исследования по взаимодействию средовых и генетических факторов в происхождении шизофрении.

## МЕТОДЫ

### Исследуемая популяция

В данном исследовании взаимодействия средовых и генетических факторов по типу случай-контроль использовалась информация Рабочей группы 6 (WP6) Европейского отделения Международной сети по изучению взаимодействия генетических и средовых факторов при шизофрении (EUGEI), а также исследования Генетический риск и исход при психозах (GROUP) в рамках EUGEI<sup>18</sup>. Данные были

собраны в промежутке между 2010 и 2015 годом в Нидерландах, Турции, Испании и Сербии.

Диагноз расстройства шизофренического спектра выставлялся по критериям DSM-IV-TR (средняя длительность заболевания после первого контакта с психиатрической службой = 9,9 года). В дальнейшем диагноз верифицировался с использованием Списка операциональных критериев для психотических и аффективных заболеваний<sup>19</sup> в случае EUGEI WP6 и Перечня для клинической оценки в нейропсихиатрии<sup>20</sup> или комплексной оценки симптомов и анамнеза<sup>21</sup> в случае GROUP. Члены контрольной группы, не имеющие психотических расстройств в анамнезе, набирались из той же популяции, что и исследуемая группа, но родственники пациентов исследуемой группы были исключены. Критериями исключения для любой группы были диагноз психотического расстройства в связи с иными медицинскими проблемами, травма головы с потерей сознания в анамнезе, IQ < 70.

Всего в исследование были включены 1866 пациентов и 1583 здоровых участника, для которых имелись данные по исследованию генотипа. Поскольку в отношении индивидов, не относящихся к белой европеоидной расе, предсказательная сила PRS-SCZ не оценивалась<sup>22</sup>, в данном исследовании участвовали только ее представители. Окончательный размер выборки составил 1699 пациентов и 1542 члена группы контроля.

Все проекты были одобрены медицинскими этическими комитетами стран-участников и проводились в соответствии с Хельсинкской Декларацией. Все респонденты предоставили информированное согласие в письменном виде. В случае участников младше 18 лет информированное согласие подписывали родителями, от самих участников также было получено разрешение.

Для достижения высокого качества и однородности оценки внешних факторов, клинической и экспериментальной использовались стандартизированные инструменты, а применявшие их психиатры, психологи и научные ассистенты, которые прошли обязательное обучение как очно, так и в виде тренировочных модулей в режиме онлайн, включая интерактивные видеointервью и опросники для самооценки<sup>17,18</sup>. Чтобы добиться высокой межрейтерской надежности на всем протяжении исследования, и очные, и заочные тренировочные сессии проводились ежегодно.

## Средовые воздействия

В рамках имеющихся данных мы попытались выявить внешние воздействия, которые в более ранних исследованиях демонстрировали ассоциацию с расстройствами шизофренического спектра.

Подверженность неблагоприятному влиянию в детском возрасте оценивалась с помощью Краткой формы опросника по детской травме (СТQ)<sup>23</sup>. Он состоит из 28 вопросов, оцениваемых по 5-балльной шкале Ликерта, оцениваются 5 доменов жестокого обращения с ребенком: эмоциональная и физическая депривация, эмоциональное, физическое и сексуальное насилие. В полной мере были изучены психометрические характеристики переводных версий СТQ (на испанском, турецком, голландском и сербском языках)<sup>24,26</sup>. Для формализации каждого из доменов жестокого обращения (0=отсутствовало или 1=присутствовало), как и в прежних работах EUGEI, мы пользовались следующими пороговыми значениями:  $\geq 9$  для эмоционального насилия,  $\geq 8$  для физического насилия,  $\geq 6$  для сексуального насилия,  $\geq 10$  для эмоциональной депривации и  $\geq 8$  для физической депривации.

Употребление каннабиса оценивали с помощью модифицированной версии Опросника об опыте употребления

каннабиса<sup>28</sup> в исследовании EUGEI WP6 (0=нет, 1=один или два раза, 2=несколько раз в год, 3=несколько раз в месяц, 4=один или более раз в неделю, 5=каждый день) и с помощью секции L Комплексного международного диагностического интервью (CIDI)<sup>29</sup> в исследовании GROUP (0=нет, 1=реже, чем раз в неделю, 2=еженедельно, 3=ежедневно). Как и в прежних работах<sup>30-32</sup>, для создания бинарной модели в отношении регулярного употребления каннабиса в качестве порогового значения использовалась частота один или более раз в неделю в период наиболее частого употребления на протяжении жизни.

При исследовании связи между временем года, на которое приходится дата рождения, и шизофренией за период высокого риска традиционно были приняты месяцы зимнего солнцестояния (декабрь-март), на чем базировалась и бинарная модель.

Нарушение слуха определяли на основании самоотчета об ухудшении слуха за последние 12 месяцев (0=отсутствовало или 1=присутствовало).

История травли со стороны ровесников (с проявлениями эмоционального, психологического и физического насилия) до 17 лет оценивалась с помощью краткой версии Ретроспективного опросника для оценки травли (буллинга) (RBQ)<sup>34,35</sup>, который оценивает тяжесть пережитого опыта травли: 0=нет, 1=малая (не было физических повреждений), 2=умеренная (легкие повреждения и преходящие эмоциональные реакции), 3=выраженная (частый и тяжелый физиологический и психологический вред). Подверженность травле в детском возрасте была приведена к бинарной модели с использованием  $\geq 1$  в качестве порогового значения: 0 – отсутствовала,  $\geq 1$  – присутствовала.

## Обработка генетических данных

Генотипирование всех полученных образцов проводилось в Cardiff University Institute of Psychological Medicine and Clinical Neurology (Кардифском институте психологической медицины и клинической неврологии) с использованием зондов для генотипирования Illumina HumanCore-Exome-24 BeadChip с возможностью распознавания 570 038 генетических вариантов (Illumina, San Diego, CA). Дальнейшая обработка данных проводилась с помощью пакета Genome Studio, они были переведены в формат PLINK для дальнейшего анализа.

Анализ качества проводился в программе PLINK v1.07<sup>36</sup> или с использованием специально разработанных Perl-скриптов. Варианты с call rate (доля интересующих генотипов среди всех возможных) <98% исключались из объема данных. Показатель r в отношении Харди-Вайнберга подсчитывался отдельно для турецкой, южноевропейской и североευропейской популяций. Варианты, для которых r составил  $< 1e^{-6}$ , в каждом из трех регионов были исключены из исследования. После контроля качества в исследовании осталось 559 505 вариантов.

Образцы с call rate <98% исключались из общего объема данных. Набор вариантов, в котором излишняя детализация ликвидировалась методом прунинга по признаку неравновесного сцепления генов (linkage disequilibrium, LD), был обработан с помощью команды – indep-pairwise в PLINK (максимальный показатель  $r^2=0,25$ , размер окна 500 SNP, размер шага окна – 50 SNP) и использовался для дальнейшего анализа. Показатель гомозиготности F был подсчитан с помощью команды – het в PLINK, и образцы, для которых значения оказались за рамками выделенного интервала ( $F < -0,11$  или  $F > 0,15$ ), были исключены. Генетический пол в образцах определялся по данным X-хромосомы с помощью команды – check-sex в PLINK, образцы, у которых генетический пол отличался от внесенного в базу данных, были исключены из исследования.

Таблица 1, Демографические переменные и подверженность внешним воздействиям в исследуемой и контрольной группе.				
	Всего	Контрольная группа	Исследуемая группа	Нет данных
Возраст (средний $\pm$ CO)	32,4 $\pm$ 9,8	33,4 $\pm$ 10,6	31,5 $\pm$ 9,0	
Пол				
Мужской	1,951 (60,2%)	762 (49,4%)	1,189 (70,0%)	
Женский	1,290 (39,8%)	780 (50,6%)	510 (30,0%)	
Регулярное употребление каннабиса				
Нет	2,390 (78,6%)	1,366 (91,2%)	1,024 (66,5%)	202 (6,2%)
Да	649 (21,4%)	132 (8,8%)	517 (33,5%)	
Травля				
Нет	1,947 (72,3%)	1,101 (83,7%)	846 (61,4%)	547 (16,9%)
Да	747 (27,7%)	215 (16,3%)	532 (38,6%)	
Эмоциональное насилие				
Нет	2,019 (73,0%)	1,230 (84,8%)	789 (60,0%)	475 (14,7%)
Да	747 (27,0%)	221 (15,2%)	526 (40,0%)	
Физическое насилие				
Нет	2,477 (88,7%)	1,362 (93,0%)	1,115 (84,0%)	450 (13,9%)
Да	314 (11,3%)	102 (7,0%)	212 (16,0%)	
Сексуальное насилие				
Нет	2,269 (81,5%)	1,309 (90,1%)	960 (72,1%)	456 (14,1%)
Да	516 (18,5%)	144 (9,9%)	372 (27,9%)	
Эмоциональная депривация				
Нет	1,254 (45,3%)	789 (54,3%)	465 (35,4%)	473 (14,6%)
Да	1,514 (54,7%)	664 (45,7%)	850 (64,6%)	
Физическая депривация				
Нет	1,804 (64,8%)	1039 (71,3%)	765 (57,7%)	457 (14,1%)
Да	980 (35,2%)	419 (28,7%)	561 (42,3%)	
Рождение в зимнее время года				
Нет	1,989 (63,2%)	951 (63,0%)	1,038 (63,4%)	94 (2,9%)
Да	1,158 (36,8%)	559 (37,0%)	599 (36,6%)	
Нарушение слуха				
Нет	2,869 (92,5%)	1,437 (95,6%)	1,432 (89,7%)	141 (4,4%)
Да	231 (7,5%)	66 (4,4%)	165 (10,3%)	

Также в PLINK для образцов рассчитывались индексы идентичности по происхождению. Образцы, для которых в выборке обнаруживался один или более генотипически родственные, но при этом генотипически не являющийся сиблингом (определялось по PI-HAT  $>0,35$  и  $<0,65$ ), исключались из исследования. После этого образцы, для которых в базе данных обнаруживалось 2 или более сиблингов, не подтвержденных генотипическим родством, также исключались.

Визуально оценив результаты кластеринга ошибок, допущенных при использовании чипа для генотипирования, мы приняли решение исключить чипы с высоким процентом ошибок. Были исключены все оставшиеся образцы с чипов, где из-за высокой гетерозиготности или call rate ранее исключались более 5 образцов (из 12 возможных). Также исключались все образцы с чипов, где 4 или более образца были исключены из-за вопросов с определением генетического пола и родства, за исключением случаев, когда при перепроверке на другом чипе их результат был подтвержден.

Первичные компоненты анализа проводились в PLINK с использованием вариантов, прореженных по признаку неравновесных связей, при взаимодействии с базой Thousand Genomes. Так как выборка и соответствующие ей варианты анализа являлись, в сущности, межпопуляционными, на этом этапе исключения образцов не проводилось. Популяционные эффекты были впоследствии скорректированы в процессе индивидуального анализа.

После контроля качества результаты были загружены в программу для статистического предсказания – Michigan Imputation Server с применением панели Консорциума по гаплотипам (версия 1.1), а также программ Eagle для фазирования по гаплотипу и Minimac3 для предсказания<sup>37,38</sup>. После этого для дальнейшего участия в исследовании отобраны варианты с достоверностью предсказания  $r^2 > 0,6$ , минимальной частотой аллелей (MAF)  $> 0,1\%$  и call rate  $> 99\%$  (8 277 535 вариантов). Генотипы «наилучшего совпадения» создавались в PLINK методом вероятностной генерации генотипов.

PRS-SCZ создавался на основе обобщенной статистики по данным полногеномного поиска ассоциаций в рамках Консорциума по психиатрической геномике, при этом образцы, представленные в базе исследования GROUP, исключались<sup>7</sup>. Группировка проводилась в PLINK среди генотипов «наилучшего совпадения» отдельно для каждого набора данных (максимальный  $r^2 = 0,2$ , размер окна = 500 kb, минимальный MAF = 10%, уровень минимальной информации по загрузке = 0,7). Вариации внутри протяженного региона неравновесного сцепления генов (включая главный комплекс гистосовместимости) были исключены<sup>39</sup>. PRS-SCZ рассчитывался на основе генотипов «наилучшего совпадения» в программе PLINK при десяти различных пороговых значениях  $r$  (1, 0,5, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-8}$ ). Как и в предшествующих исследованиях по данной тематике<sup>40-43</sup>, для первичного анализа мы использовали показатель  $p = 0,05$ , поскольку он объ-

Таблица 2. Основные эффекты средовых и генетических факторов на характеристику клинических случаев в исследуемой и контрольной группе.				
	Нескорректированные основные эффекты		Скорректированные основные эффекты <sup>а</sup>	
	Отношение шансов (95% ДИ)	р	Отношение шансов (95% ДИ)	р
Регулярное употребление каннабиса	4,85 (3,89-6,05)	<0,001	3,96 (3,16-4,97)	<0,001
Травля	3,01 (2,48-3,65)	<0,001	3,06 (2,50-3,74)	<0,001
Эмоциональное насилие	3,51 (2,93-4,22)	<0,001	3,77 (3,12-4,56)	<0,001
Физическое насилие	2,70 (2,10-3,48)	<0,001	2,83 (2,18-3,67)	<0,001
Сексуальное насилие	3,66 (2,96-4,53)	<0,001	4,11 (3,30-5,13)	<0,001
Эмоциональная депривация	2,52 (2,14-2,96)	<0,001	2,65 (2,24-3,13)	<0,001
Физическая депривация	2,32 (1,96-2,75)	<0,001	2,33 (1,96-2,78)	<0,001
Рождение в зимнее время года	1,06 (0,92-1,23)	<0,001	1,05 (0,91-1,23)	<0,001
Нарушение слуха	2,46 (1,82-3,31)	<0,001	2,67 (1,96-3,62)	<0,001
PRS-SCZ <sub>75</sub> <sup>б</sup>	2,91 (2,48-3,40)	<0,001	2,85 (2,43-3,35)	<0,001

PRS-SCZ<sub>75</sub> – полигенный уровень риска шизофрении, пороговое значение в 75%; <sup>а</sup> – скорректировано по полу и возрасту; <sup>б</sup> – скорректировано по десяти основным компонентам.

Таблица 3. Корреляция между генетическими факторами в виде PRS-SCZ <sub>75</sub> и внешними факторами.				
	Нескорректированные основные эффекты		Скорректированные основные эффекты <sup>а</sup>	
	Отношение шансов (95% ДИ)	р	Отношение шансов (95% ДИ)	р
Регулярное употребление каннабиса	0,98 (0,61-1,59)	0,949	0,93 (0,57-1,52)	0,771
Травля	1,27 (0,86-1,86)	0,228	1,28 (0,87-1,89)	0,210
Эмоциональное насилие	1,13 (0,80-1,58)	0,493	1,13 (0,81-1,59)	0,476
Физическое насилие	1,82 (1,18-2,81)	0,007	1,84 (1,19-2,84)	0,006
Сексуальное насилие	0,79 (0,51-1,22)	0,287	0,79 (0,51-1,23)	0,292
Эмоциональная депривация	1,18 (0,91-1,52)	0,212	1,16 (0,90-1,50)	0,258
Физическая депривация	1,18 (0,89-1,56)	0,246	1,19 (0,90-1,58)	0,219
Рождение в зимнее время года	1,13 (0,88-1,45)	0,338	1,13 (0,88-1,45)	0,332
Нарушение слуха	1,13 (0,63-2,02)	0,693	1,18 (0,65-2,13)	0,592

PRS-SCZ<sub>75</sub> – полигенный уровень риска шизофрении, пороговое значение в 75%; <sup>а</sup> – скорректировано по полу, возрасту и десяти основным компонентам

ясняет большинство фенотипических вариаций при анализе данных Консорциума по психиатрической геномике<sup>7</sup>.

Чтобы впоследствии сравнить оценки, полученные в нашей выборке, с объемом вариаций, которые объясняет PRS-SCZ, по данным прежних исследований, применялась модель логистической регрессии, которая позволяет выявить ассоциацию PRS-SCZ с отдельными исследованиями по типу случай-контроль (скорректированные для ситуаций, когда в исследовании участвовали родственники, с использованием первых десяти основных компонентов), при этом рассчитывали R<sup>2</sup> Нагелькерке. PRS-SCZ значимо отличался в исследуемой группе и группе контроля (отношение шансов, ОШ=1,30; 95% ДИ: 1,25-1,34; p<0,001; R<sup>2</sup> Нагелькерке=0,15), в том числе при сопоставлении по возрасту, полу и стране (ОШ=1,30; 95% ДИ: 1,26-1,35; p<0,001; R<sup>2</sup> Нагелькерке=0,20). Дихотомизация PRS-SCZ проводилась с использованием пограничных значений квартилей, которые в свою очередь определялись на основании контрольного распределения PRS-SCZ в разных странах (чтобы учесть этнические вариации, которые могут приводить к различиям PRS-SCZ между ними). Наивысший квартиль (PRS-SCZ>75% контрольной группы) был принят за пороговое значение для состояния высокого риска шизофрении (в дальнейшем PRS-SCZ<sub>75</sub>).

### Статистический анализ

Все процедуры анализа проводились в программе STATA версии 15.0<sup>44</sup>. Для проверки одомерной ассоциации средовых воздействий или PRS-SCZ<sup>75</sup> с клинической картиной использовалась многоуровневая модель логистиче-

ской регрессии в сочетании с методом случайных срезов, которая учитывала кластеризацию участников внутри каждой страны. В контрольной группе многоуровневая модель логистической регрессии также использовалась для проверки взаимодействия средовых и генетических факторов для всех разновидностей внешнего воздействия. Для выявления этих взаимодействий в период еще до начала сбора данных (Съезд Консорциума EUGEI, 14 декабря 2013 года) были выбраны аддитивные, а не мультипликативные модели, поскольку они более полно отражают внутренние связи на биологическом уровне<sup>45</sup> и направляют процесс принятия решений в здравоохранении в рамках концепции достаточной причины<sup>46,47</sup>.

Для выявления сопряженных эффектов внешних воздействий и генетического риска мы ввели в многоуровневую модель логистической регрессии в качестве независимых переменных четыре состояния, обусловленных сочетанием определенного вида воздействия и PRS-SCZ (три из них – фиктивные переменные, в которых генетический риск отсутствовал, для сравнения), а в качестве зависимых – характеристики клинической картины.

Отклонение от аддитивности проверяли с использованием коэффициента контрастности взаимодействия; другое название этого показателя – относительный избыточный риск вследствие взаимодействия (RERI). RERI – стандартный показатель взаимодействия на аддитивной шкале для исследований по типу случай-контроль<sup>48</sup>. Он рассчитывается по формуле (ОШ<sub>exposure&PRS-SCZ75</sub> – ОШ<sub>exposure</sub> – ОШ<sub>PRS-SCZ75</sub> + 1)<sup>49</sup>. RERI выше нуля расценивается как положительное отклонение от аддитивности и считается значимым, если 95% ДИ отличается от нуля. Для каждой модели RERI рассчитывался дельта-методом на основе полученных в них ОШ.

**Таблица 4. Эффект взаимодействия средовых и генетических факторов на характеристику клинического случая в исследуемой и контрольной группе.**

	PRS-SCZ <sub>75</sub> =0		PRS-SCZ <sub>75</sub> =1		RERI (95% ДИ)
	№ исследуемая группа/контрольная	Отношение шансов (95% ДИ)	№ исследуемая группа/контрольная	Отношение шансов (95% ДИ)	
Регулярное употребление каннабиса=0	556/1042	1,0	468/324	2,84 (2,36-3,40) p<0,001	5,60 (0,88-10,33) p=0,020
Регулярное употребление каннабиса=1	296/102	4,10 (3,13-5,36) p<0,001	221/30	11,54 (7,60-17,51) p<0,001	
Травля=0	454/842	1,0	392/259	2,84 (2,31-3,47) p<0,001	2,76 (0,29-5,23) p=0,028
Травля=1	296/163	2,97 (2,34-3,76) p<0,001	236/52	7,56 (5,41-10,56) p<0,001	
Эмоциональное насилие=0	464/939	1,0	325/291	2,39 (1,95-2,94) p<0,001	5,52 (2,29-8,75) p<0,001
Эмоциональное насилие=1	273/166	3,26 (2,58-4,12) p<0,001	253/55	10,17 (7,33-14,10) p<0,001	
Физическое насилие=0	632/1049	1,0	483/313	2,71 (2,25-3,26) p<0,001	1,64 (-1,07 до 4,34) p<0,235
Физическое насилие=1	107/65	2,97 (2,11-4,17) p<0,001	105/37	6,31 (4,19-9,52) p<0,001	
Сексуальное насилие=0	536/993	1,0	424/316	2,68 (2,21-3,25) p<0,001	7,61 (2,05-13,17) p<0,007
Сексуальное насилие=1	208/114	3,89 (2,99-5,08) p<0,001	164/30	13,19 (8,60-20,22) p<0,001	
Эмоциональная депривация=0	273/610	1,0	192/179	2,64 (2,03-3,44) p<0,001	2,46 (0,98-3,94) p<0,001
Эмоциональная депривация=1	464/495	2,58 (2,10-3,17) p<0,001	386/169	6,69 (5,20-8,59) p<0,001	
Физическая депривация=0	438/804	1,0	327/235	2,81 (2,26-3,50) p<0,001	1,51 (0,00-3,03) p<0,051
Физическая депривация=1	308/306	2,42 (1,95-3,01) p<0,001	253/113	5,75 (4,36-7,58) p<0,001	
Рождение в зимнее время года=0	562/733	1,0	476/218	3,11 (2,53-3,82) p<0,001	-0,55 (-1,36 до 0,27) p<0,186
Рождение в зимнее время года=1	333/414	1,16 (0,96-1,41) p<0,001	266/145	2,72 (2,14-3,48) p<0,001	
Нарушение слуха=0	767/1098	1,0	665/339	2,97 (2,51-3,52) p<0,001	1,04 (-2,65 до 4,74) p<0,579
Нарушение слуха=1	107/50	3,11 (2,16-4,48) p<0,001	58/16	6,13 (3,43-10,95) p<0,001	

PRS-SCZ<sub>75</sub> – полигенный уровень риска шизофрении, пороговое значение в 75%; RERI – относительный избыточный риск вследствие взаимодействия.  
Данные скорректированы по полу, возрасту и десяти основным компонентам.

Для определения чувствительности использовался альтернативный пошаговый перцентильный метод<sup>50</sup> (N=1000 шагов) – с его помощью определяли 95% ДИ для RERI. Все модели приводили к равновесному распределению по предсуществующим ковариатам (пол и возраст), в то время как модели, включающие PRS-SCZ<sub>75</sub>, дополнительно корректировались по показателям родства с использованием первых десяти основных компонентов, в соответствии с общими рекомендациями. Согласно приложению к Руководству по усовершенствованию отчетов по наблюдательным исследованиям в эпидемиологии (STROBE)<sup>48</sup>, отчет об анализе взаимодействий строился на единственной категории отношения, включающей независимые и сопряженные эффекты PRS-SCZ<sub>75</sub>, а также все обозначенные эффекты совместно с PRS-SCZ<sub>75</sub>.

Все процедуры анализа проводились также для данных, полученных методом статистического предсказания, учитывая, что при оценке внешних воздействий непосредственное наблюдение не проводилось. Исходя из предположения о случайном распределении отсутствующих данных, мы применяли цепную равновесную модель множественных предсказаний<sup>51</sup> с 20 предсказанными вариантами в пределах ранее определенных значений (относительная эффективность варьировалась между 97 и 99%). предска-

занные данные не отличались от выявленных в изначальной выборке. Дальнейшие процедуры анализа выполнялись на основе предсказанных данных, полученные оценки объединялись по правилам Рубина<sup>52</sup>.

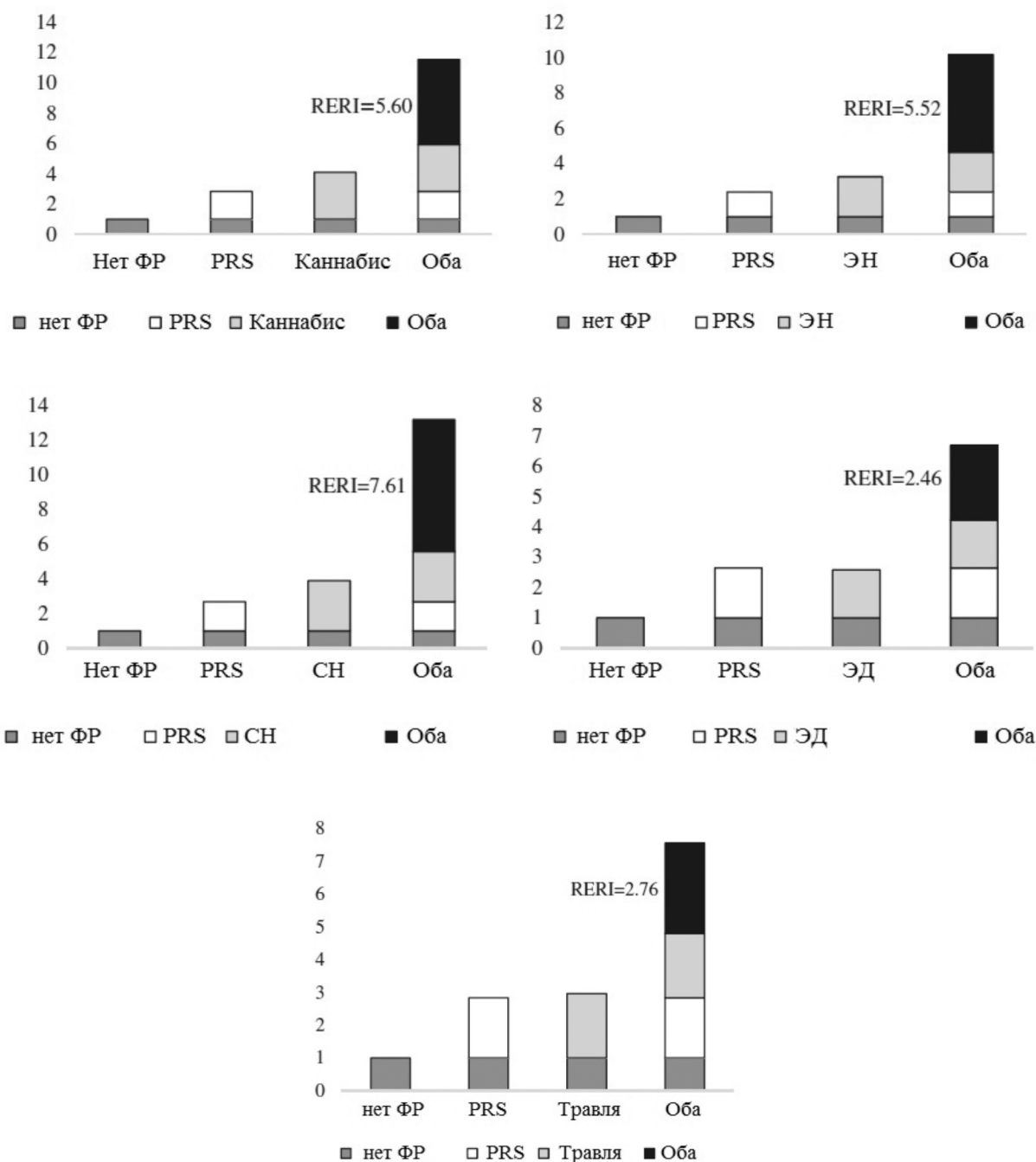
С целью оценить устойчивость обнаруженных закономерностей к ошибкам (robustness) проводился анализ чувствительности пороговых значений бинарного генетического риска с использованием порога в 25 и 50% контрольной группы. Номинальная значимость порога составила p=0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные по полу, возрасту и подверженности неблагоприятным воздействиям представлены в таблице 1.

Для всех видов воздействия, кроме рождения зимой, были обнаружены ассоциации с характеристиками клинической картины, в том числе после коррекции по полу и возрасту. В таблице 2 представлены скорректированные и нескорректированные ОШ для PRS-SCZ<sub>75</sub> и каждой разновидности внешних воздействий, ассоциированной с характеристиками клинической картины.

Данных за корреляцию между средовыми и генетическими воздействиями не было обнаружено ни в одном сочета-



**Рисунок 1.** Аддитивные эффекты регулярного употребления каннабиса, эмоционального и сексуального насилия, эмоциональной депривации и травли в ассоциации с полигенным риском развития шизофрении, при пороговом значении 75% (PRS), для исследуемой и контрольной групп, скорректированные по возрасту, полу и десяти основным компонентам. ЭН – эмоциональное насилие, СН – сексуальное насилие, ЭД – эмоциональная депривация, RERI – относительный избыточный риск вследствие взаимодействия.

нии, кроме физического насилия, поскольку PRS-SCZ<sub>75</sub> не был выраженно и значимо ассоциирован с подверженностью остальным видам воздействия в контрольной группе (таблица 3). Напротив, физическое насилие было ассоциировано с PRS-SCZ<sub>75</sub> (скорректированное ОШ=1,84; 95% ДИ: 1,19-2,84; p=0,006).

В таблице 4 отражен совместный эффект PRS-SCZ<sub>75</sub> и внешнего фактора на характеристику клинического случая. Получены данные за взаимодополняющее действие в формировании заболевания между PRS-SCZ<sub>75</sub> и регулярным употреблением каннабиса (RERI=5,60; 95% ДИ: 0,88-10,33; p=0,020), травлей в детском возрасте (RERI=2,76; 95% ДИ:

0,29-5,23; p=0,028), эмоциональным насилием (RERI=5,52; 95% ДИ: 2,29-8,75; p<0,001), сексуальным насилием (RERI=7,61; 95% ДИ: 2,05-13,17; p=0,007) и эмоциональной депривацией (RERI=2,46; 95% ДИ: 0,98-3,94; p=0,001) соответственно. На рисунке 1 показаны значимые эффекты взаимодействия на шкале аддитивности. Значимых взаимодействующих эффектов между PRS-SCZ<sub>75</sub> и физическим насилием, депривацией физических потребностей и рождением в зимнее время года не было обнаружено.

Анализ с использованием альтернативного пошагового перцентильного метода дал схожие результаты (данные не приводятся в статье). Анализ чувствительности, где изна-

**Таблица 5. Аддитивное взаимодействие эффектов PRS-SCZ и факторов среды в исследуемой и контрольной группах, результаты, полученные на статистически предсказанных данных**

	Основные эффекты		Взаимодействие	
	Отношение шансов (95% ДИ)	p	RERI (95% ДИ)	p
Регулярное употребление каннабиса	3,94 (3,15-4,93)	<0,001	5,18 (0,62-9,74)	0,026
Травля	2,88 (2,36-3,51)	<0,001	2,88 (0,63-5,13)	0,012
Эмоциональное насилие	3,49 (2,88-4,24)	<0,001	5,11 (2,10-8,13)	0,001
Физическое насилие	2,65 (2,06-3,40)	<0,001	1,40 (-1,10 до 3,90)	0,272
Сексуальное насилие	3,74 (3,00-4,66)	<0,001	6,84 (1,77-11,92)	0,008
Эмоциональная депривация	2,51 (2,14-2,95)	<0,001	2,37 (0,90-3,84)	0,002
Физическая депривация	2,14 (1,79-2,57)	<0,001	1,42 (-0,05 до 2,88)	0,058
Рождение в зимнее время года	1,06 (0,91-1,23)	0,485	-0,53 (-1,36 до 0,30)	0,209
Нарушение слуха	2,68 (1,97-3,66)	<0,001	1,24 (-2,51 до 5,00)	0,516

чально установленное пороговое значение PRS-SCZ<sub>75</sub> в качестве показателя генетического риска заменялось на другие значения PRS-SCZ (25 и 50%) подтвердил, что дополняющее взаимодействие существовало между уровнем PRS-SCZ и регулярным употреблением каннабиса, травлей в детском возрасте, эмоциональным и сексуальным насилием, эмоциональной депривацией (данные не приводятся в статье). Схожие результаты получены в анализе с использованием статистически предсказанных данных (таблица 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании, посвященном независимым и сопряженным эффектам средовых воздействий и генетической предрасположенности к заболеваниям шизофренического спектра, были получены данные в пользу позитивных дополняющих взаимодействий генетической предрасположенности с такими факторами, как регулярное употребление каннабиса и подверженность неблагоприятным воздействиям в детском возрасте (сексуальное и эмоциональное насилие, эмоциональная депривация и травля в коллективе).

При современном уровне науки в данной работе нам впервые удалось показать, что чувствительность к неблагоприятным воздействиям в детском возрасте и такому фактору, как употребление каннабиса, модулируется уровнем генетического риска шизофрении (PRS-SCZ<sub>75</sub>). Иными словами, положительный и взаимодополняющий характер взаимодействия между генетическими и средовыми факторами позволяет говорить об их синергии, то есть эффект, производимый сочетанием генетической предрасположенности и средовых воздействий, больше, чем простая сумма их эффектов по отдельности.

Как было показано и в предшествующих работах, по PRS-SCZ<sub>75</sub> исследуемая группа значительно отличается от контрольной, и все средовые факторы демонстрировали ассоциацию с характеристикой клинического случая. Однако взаимное усиление эффектов не было показано при взаимодействии PRS-SCZ<sub>75</sub> с такими факторами, как физическое насилие и депривация физических потребностей, нарушение слуха и рождение в зимнее время года.

Доля вариаций, которые объясняет PRS-SCZ<sub>75</sub> в нашей выборке, была сравнима с результатами прошлых исследований<sup>53</sup> и последними данными Консорциума по психиатрической геномике<sup>7</sup>. В данном исследовании мы строго придерживались ранее введенных определений внешнего воздействия, чтобы повысить воспроизводимость и создать возможности для сравнения результатов. В соответствии с ранее полученными результатами в нашей работе одномерный анализ показал, что степень ассоциации

внешних воздействий с характеристикой клинического случая варьировалась, но в целом не отличалась от результатов метаанализа<sup>12,13</sup>.

Пользуясь преимуществами непосредственного молекулярного подхода к определению генетического риска, мы предоставили очередные доводы в пользу гипотезы о взаимодействии средовых и генетических факторов в формировании расстройств шизофренического спектра – ранее это предположение основывалось лишь на непрямых оценках генетической предрасположенности по данным семейных исследований (близнецов, родственников и т.п.)<sup>54</sup>. Выявленные закономерности подтвердились в исследовании с помощью регрессионных моделей (с использованием разных пороговых значений генетического риска, где PRS-SCZ составлял 25 и 50%), а также при анализе данных, полученных методами статистического предсказания.

ДИ 95% и RERI более двух в случае эмоционального и сексуального насилия предполагают «механистическое» взаимодействие<sup>29</sup>, т.е. касались случаев, когда расстройство развивалось только при сочетании генетической предрасположенности и внешнего воздействия, но при наличии только одного из этих факторов шизофрения не развивалась.

Работы, связанные с расчетом PRS, в последнее время поддерживаются в области исследований по взаимодействию генетических и средовых факторов. Ранее уже исследовался вопрос о возможной взаимосвязи между генетическими полиморфизмами, играющими роль в биологических механизмах психоза, с употреблением каннабиса и подверженностью неблагоприятным воздействиям в детском возрасте. Хотя были определены SNP (в разных генах), обладающие потенциалом для дальнейшего изучения (например, AKT1, COMT, BDNF), в разных выборках<sup>55</sup> эти находки оказались несостоятельными и отошли на второй план с появлением подходов, охватывающих геном в целом.

На сегодняшний день лишь небольшое количество исследований затрагивают вопрос взаимодействия средовых и генетических факторов в формировании расстройств психотического спектра и используют показатель PRS-SCZ. Пилотное исследование, которое включало 80 пациентов с первым психотическим эпизодом и 110 участников контрольной группы и ставило задачу изучить, опосредует ли PRS-SCZ связь между психозом и подверженностью неблагоприятным воздействиям в детском возрасте, обладало недостаточной мощностью для выявления названных взаимодействий<sup>56</sup>. В недавнем исследовании на выборке близнецов из общей популяции мы обнаружили данные за положительное взаимодействие между PRS-SCZ и подверженностью неблагоприятным воздействиям, что сказывалось на особенностях эмоциональной регуляции и склон-



ности к психотическим расстройствам<sup>58</sup>. Кроме того, выполнено мультимодальное исследование, которое объединило результаты генетических анализов и методов нейровизуализации – оно продемонстрировало, что на ассоциацию между PRS-SCZ и созреванием коры у молодых представителей мужского пола влиял опыт употребления каннабиса в раннем возрасте<sup>59</sup>. Подводя итог, можно сказать, что с использованием данных GWA в области исследования взаимодействия генетических и средовых факторов постепенно повышается воспроизводимость результатов, однако пока она не демонстрирует фактов, которые позволили бы сделать практически значимые выводы.

В эпоху GWA наши результаты могут быть полезны в дальнейшем изучении взаимодействия средовых и генетических факторов в нескольких аспектах. Во-первых, они могут задать направление для дальнейших исследований с предварительной регистрацией данных, которые ставили бы задачу подтвердить уже имеющиеся результаты. Во-вторых, они могли бы стимулировать перспективную линию исследований взаимодействия генетических и средовых факторов в контексте биологической теории, с использованием, например, данных о путях реализации генетической информации вместо аккумуляции данных о генах, составляющих уровень риска фенотипического проявления болезни. Эти исследования раскрыли бы гипотезу о частных биологических механизмах, в которые могут вмешиваться внешние факторы (например, механизм гипоксии-ишемии × осложненные роды и подверженность влиянию неблагоприятных факторов в детском возрасте × гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось)<sup>60,61</sup>, а также общих патофизиологических путей, как, например, воспалительный, активность которого может регулировать одновременно множество внешних воздействий<sup>62</sup>.

Однако у последнего подхода есть и недостатки: уровни риска на основе биологических механизмов могут оказаться не таким мощным инструментом, как совокупный полигенный уровень риска определенного фенотипа, а возможности построения «гипотетических» путей практически ничем не ограничиваются. Поэтому набор генов, на котором будет основан поиск механизмов, должен быть определен предварительно и зафиксирован в центральном репозитории с целью избежать неконтролируемого дополнения данных. В идеале следовало бы также создать фиксированный список протоколов для анализа внешних воздействий и их биологических механизмов (как, например, регулярное употребление каннабиса и эндоканнабиноидный путь), а если это невозможно, следует продолжить независимый анализ данных.

В нашем исследовании сбор данных проводился специально обученными психиатрами, психологами и научными ассистентами и был направлен именно на выявление роли средовых и генетических факторов в генезе шизофрении. В дальнейшем, поскольку выборка отличалась высоким культурным и географическим разнообразием, у нас была возможность проследить различные вариации внешних факторов и с большей точностью выявить эффекты взаимодействия<sup>63</sup>.

Однако следует упомянуть о некоторых ограничениях данного исследования. Во-первых, кросс-секционный дизайн позволяет выявить лишь временные ассоциации, но не причинно-следственные связи. Тем не менее, кросс-секционные исследования остаются необходимым первым звеном в работе по выявлению факторов риска и создают условия для последующих лонгитудинальных исследований, которые отразили бы взаимодействие генетических и средовых факторов в развитии. Во-вторых, учитывая размер выборки и поисковый характер работы, мы сконцентрировались на основных и сопряженных эффектах ранее выдвинутых средовых факторов и PRS-SCZ. Однако

самые современные статистические модели не могут в полной мере охватить сложные отношения, которые существуют в реальности, включая динамические взаимодействия, ассоциации, связанные и не связанные с причинной обусловленностью в рамках экспозома (тесно взаимосвязанных внешних факторов, эффект которых может варьироваться в зависимости от момента воздействия, его продолжительности, массивности и количества повторений)<sup>16,64</sup>, генома (его избыточности, феноменов эпистаза и плейотропии)<sup>65</sup> и фенома (разнообразии синдромов, вовлекающее одновременно множество дименсий)<sup>66</sup>. В-третьих, в данном исследовании мы прибегли к квази-систематической практике избирательно изучать один вид воздействия в одном исследовании. Таким образом мы хотели отразить целостную картину взаимодействий между генетическими и средовыми факторами в имеющейся выборке. Однако многие факторы в нашем исследовании не рассматривались (например, осложнения беременности и родов).

В заключение можно сказать, что, используя молекулярно-генетические подходы к оценке риска, мы получили еще одно подтверждение роли взаимодействия генетических и средовых факторов в генезе шизофрении. Приведенные результаты требуют дальнейшего подтверждения в исследованиях с предварительным сбором данных.

#### Дополнение

Исследователи GROUP в проекте EUGEI: Behrooz Z. Alizadeh, Therese van Amelsvoort, Nico J. van Beveren, Richard Bruggeman, Wiepke Cahn, Lieuwe de Haan, Philippe Delespaul, Jurjen J. Luyckx, Inez Myin-Germeys, Ruud van Winkel and Jim van Os.

#### Благодарности

Проект EUGEI поддержан грантом HEALTH-F2-2010-241909 в рамках Седьмой Европейской Программы по Поддержке Общественного Здоровья. Авторы благодарят всех пациентов и их родственников за участие в проекте. Также авторы выражают благодарность всем специалистам, участвовавшим в исследовании, в частности, J. van Vaaren, E. Veermans, G. Driessen, T. Driesen, E. van't Hag and J. de Nijs. Все образцы ДНК из Турции были предоставлены Ankara University Brain Research Center Biobank, что обеспечил проект Ankara University Scientific Research Projects Coordination Unit (номер проекта 10A6055003, 2010). Деятельность B.P.F. Rutten финансировалась премией VIDU no. 91718336 от the Netherlands Scientific Organization. S. Guloksuz, L.-K. Pries, B.P.F. Rutten и J. van Os внесли равный вклад в данную работу.

#### Библиография

1. Perala J, Suvisaari J, Saarni SI et al. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry* 2007;64:19-28.
2. Murray CJ, Vos T, Lozano R et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2197-223.
3. McGuffin P, Farmer AE, Gottesman II et al. Twin concordance for operationally defined schizophrenia: confirmation of familiarity and heritability. *Arch Gen Psychiatry* 1984;41:541-5.
4. Cardno AG, Marshall EJ, Coid B et al. Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:162-8.
5. Hilker R, Helenius D, Fagerlund B et al. Heritability of schizophrenia and schizophrenia spectrum based on the nationwide Danish twin register. *Biol Psychiatry* 2018;83:492-8.
6. Sullivan PF, Agrawal A, Bulik CM et al. Psychiatric genomics: an update and an agenda. *Am J Psychiatry* 2017;175:15-27.
7. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 2014;511:421-7.
8. Pardinas AF, Holmans P, Pocklington AJ et al. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nat Genet* 2018;50:381-9.

9. Gottesman II, Shields J. A polygenic theory of schizophrenia. *Int J Ment Health* 1972;1:107-15.
10. Uher R, Zwickler A. Etiology in psychiatry: embracing the reality of poly-gene- environmental causation of mental illness. *World Psychiatry* 2017;16:121-9.
11. van Os J, Kenis G, Rutten BP. The environment and schizophrenia. *Nature* 2010;468:203.
12. Radau J, Ramella-Cravaro V, Ioannidis JP et al. What causes psychosis? An umbrella review of risk and protective factors. *World Psychiatry* 2018;17:49- 66.
13. Belbasis L, Kohler C, Stefanis N et al. Risk factors and peripheral biomarkers for schizophrenia spectrum disorders: an umbrella review of meta-analyses. *Acta Psychiatr Scand* 2018;137:88-97.
14. Duncan LE, Keller MC. A critical review of the first 10 years of candidate gene-by-environment interaction research in psychiatry. *Am J Psychiatry* 2011;168:1041-9.
15. Wray NR, Lee SH, Mehta D et al. Research review: polygenic methods and their application to psychiatric traits. *J Child Psychol Psychiatry* 2014;55:1068-87.
16. Guloksuz S, Rutten BP, Pries L-K et al. The complexities of evaluating the exposome in psychiatry: a data-driven illustration of challenges and some propositions for amendments. *Schizophr Bull* 2018;44:1175-9.
17. EUGEL, van Os J, Rutten BP et al. Identifying gene-environment interactions in schizophrenia: contemporary challenges for integrated, large scale investigations. *Schizophr Bull* 2014;40:729-36.
18. Korver N, Quee PJ, Boos HB et al. Genetic Risk and Outcome of Psychosis (GROUP), a multi site longitudinal cohort study focused on gene environment interaction: objectives, sample characteristics, recruitment and assessment methods. *Int J Methods Psychiatr Res* 2012;21:205-21.
19. McGuffin P, Farmer A, Harvey I. A polydiagnostic application of operational criteria in studies of psychotic illness: development and reliability of the OPCRIT system. *Arch Gen Psychiatry* 1991;48:764-70.
20. Wing JK, Babor T, Brugha T et al. SCAN: Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:589-93.
21. Andreasen NC, Flaum M, Arndt S. The Comprehensive Assessment of Symptoms and History (CASH): an instrument for assessing diagnosis and psychopathology. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:615-23.
22. Vassos E, Di Forti M, Coleman J et al. An examination of polygenic score risk prediction in individuals with first-episode psychosis. *Biol Psychiatry* 2017;81:470-7.
23. Bernstein DP, Stein JA, Newcomb MD et al. Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse Negl* 2003;27:169-90.
24. Sar V, Akyuz G, Kundakci T et al. Childhood trauma, dissociation, and psychiatric comorbidity in patients with conversion disorder. *Am J Psychiatry* 2004;161:2271-6.
25. Hernandez A, Gallardo-Pujol D, Pereda N et al. Initial validation of the Spanish Childhood Trauma Questionnaire-Short Form: factor structure, reliability and association with parenting. *J Interpers Viol* 2013;28:1498-518.
26. Thombs BD, Bernstein DP, Lobbestael J et al. A validation study of the Dutch Childhood Trauma Questionnaire-Short Form: factor structure, reliability, and known-groups validity. *Child Abuse Negl* 2009;33: 518-23.
27. Kraan TC, Velthorst E, Themmen M et al. Child maltreatment and clinical outcome in individuals at ultra-high risk for psychosis in the EUGEL high risk study. *Schizophr Bull* 2017;44:584-92.
28. Barkus EJ, Stirling J, Hopkins RS et al. Cannabis-induced psychosis-like experiences are associated with high schizotypy. *Psychopathology* 2006;39:175-8.
29. Robins LN, Wing J, Wittchen HU et al. The Composite International Diagnostic Interview: an epidemiologic instrument suitable for use in conjunction with different diagnostic systems and in different cultures. *Arch Gen Psychiatry* 1988;45:1069-77.
30. Van Winkel R, Van Beveren NJ, Simons C et al. AKT1 moderation of cannabis-induced cognitive alterations in psychotic disorder. *Neuropsychopharmacology* 2011;36:2529-37.
31. Pries L-K, Guloksuz S, ten Have M et al. Evidence that environmental and familial risks for psychosis additively impact a multidimensional subthreshold psychosis syndrome. *Schizophr Bull* 2018;44:710-9.
32. Radhakrishnan R, Guloksuz S, ten Have M et al. Interaction between environmental and familial affective risk impacts psychosis admixture in states of affective dysregulation. *Psychol Med* (in press).
33. Davies G, Welham J, Chant D et al. A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr Bull* 2003;29:587-93.
34. Schafer M, Korn S, Smith PK et al. Lonely in the crowd: recollections of bullying. *Br J Dev Psychol* 2004;22:379-94.
35. Hunter SC, Mora-Merchan J, Ortega R. The long-term effects of coping strategy use in victims of bullying. *Spanish J Psychol* 2004;7:3-12.
36. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007;81:559-75.
37. Das S, Forer L, Schonherr S et al. Next-generation genotype imputation service and methods. *Nat Genet* 2016;48:1284-7.
38. Loh PR, Danecek P, Palamara PF et al. Reference-based phasing using the Haplotype Reference Consortium panel. *Nat Genet* 2016;48:1443-8.
39. Price AL, Weale ME, Patterson N et al. Long-range LD can confound genome scans in admixed populations. *Am J Hum Genet* 2008;83:1325.
40. Allardyce J, Leonenko G, Hamshere M et al. Association between schizophrenia-related polygenic liability and the occurrence and level of mood-incongruent psychotic symptoms in bipolar disorder. *JAMA Psychiatry* 2018;75:28-35.
41. Escott-Price V, Smith DJ, Kendall K et al. Polygenic risk for schizophrenia and season of birth within the UK Biobank cohort. *Psychol Med* (in press).
42. Sorensen HJ, Debois J-C, Agerbo E et al. Polygenic risk scores, school achievement, and risk for schizophrenia: a Danish population-based study. *Biol Psychiatry* 2018;84:684-91.
43. van Os J, van der Steen Y, Islam MA et al. Evidence that polygenic risk for psychotic disorder is expressed in the domain of neurodevelopment, emotion regulation and attribution of salience. *Psychol Med* 2017;47: 2421-37.
44. StataCorp. STATA Statistical Software: Release 15. Texas: College Station, 2017.
45. Rothman KJ. The estimation of synergy or antagonism. *Am J Epidemiol* 1976;103:506-11.
46. Kendler KS, Gardner CO. Interpretation of interactions: guide for the perplexed. *Br J Psychiatry* 2010;197:170-1.
47. Rothman KJ, Greenland S, Walker AM. Concepts of interaction. *Am J Epidemiol* 1980;112:467-70.
48. Knol MJ, VanderWeele TJ. Recommendations for presenting analyses of effect modification and interaction. *Int J Epidemiol* 2012;41:514-20.
49. VanderWeele TJ, Knol MJ. A tutorial on interaction. *Epidemiol Methods* 2014;3:33-72.
50. Richardson DB, Kaufman JS. Estimation of the relative excess risk due to interaction and associated confidence bounds. *Am J Epidemiol* 2009;169:756-60.
51. Royston P, White IR. Multiple imputation by chained equations (MICE): implementation in Stata. *J Stat Softw* 2011;45:1-20.
52. Rubin DB. Multiple imputation for nonresponse in surveys, Vol. 81. Chichester: Wiley, 2004.
53. Mistry S, Harrison JR, Smith DJ et al. The use of polygenic risk scores to identify phenotypes associated with genetic risk of schizophrenia: systematic review. *Schizophr Res* 2018;197:2-8.
54. Van Os J, Rutten BP, Poulton R. Gene-environment interactions in schizophrenia: review of epidemiological findings and future directions. *Schizophr Bull* 2008;34:1066-82.
55. Modinos G, Iyegbe C, Prata D et al. Molecular genetic gene-environment studies using candidate genes in schizophrenia: a systematic review. *Schizophr Res* 2013;150:356-65.
56. Trotta A, Iyegbe C, Di Forti M et al. Interplay between schizophrenia polygenic risk score and childhood adversity in first-presentation psychotic disorder: a pilot study. *PLoS One* 2016;11:e0163319.
57. Ursini G, Punzi G, Chen Q et al. Convergence of placenta biology and genetic risk for schizophrenia. *Nat Med* 2018;24:792-801.
58. Pries LK, Klingenberg B, Menne-Lothmann C et al. Interaction between polygenic liability for schizophrenia and childhood adversity influences daily-life emotional dysregulation and subtle psychosis expression. Submitted for publication.
59. French L, Gray C, Leonard G et al. Early cannabis use, polygenic risk score for schizophrenia and brain maturation in adolescence. *JAMA Psychiatry* 2015;72:1002-11.
60. Schmidt-Kastner R, Van Os J, Esquivel G et al. An environmental analysis of genes associated with schizophrenia: hypoxia and vascular factors as interacting elements in the neurodevelopmental model. *Mol Psychiatry* 2012;17:1194-205.

61. Binder EB. Understanding gene x early adversity interactions: possibilities for insight in the biology of psychiatric disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2017;267:183-5.
62. Radhakrishnan R, Kaser M, Guloksuz S. The link between the immune system, environment, and psychosis. *Schizophr Bull* 2017;43:693-7.
63. Ritz BR, Chatterjee N, Garcia-Closas M et al. Lessons learned from past gene-environment interaction successes. *Am J Epidemiol* 2017;186:778-86.
64. Guloksuz S, van Os J, Rutten BP. The exposome paradigm and the complexities of environmental research in psychiatry. *JAMA Psychiatry* 2018;75:985-6.
65. Pingault J-B, O'Reilly PF, Schoeler T et al. Using genetic data to strengthen causal inference in observational research. *Nat Rev Genet* 2018;19:566-80.
66. Guloksuz S, Van Os J. The slow death of the concept of schizophrenia and the painful birth of the psychosis spectrum. *Psychol Med* 2018;48:229-44.

DOI: 10.1002/wps.20629