

## АССОЦИАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В<sub>12</sub>-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА С ШИЗОФРЕНИЕЙ И ЕЕ СИМПТОМАМИ В НИЖЕГОРОДСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ\*

Т.В. Жилыева<sup>1</sup>, О.Г. Македонская<sup>2</sup>, М.Э. Чумаков<sup>2</sup>,  
А.С. Благодорова<sup>1</sup>, Г.Э. Мазо<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород,  
<sup>2</sup> Мордовская республиканская станция переливания крови, Саранск  
<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и  
неврологии имени В.М. Бехтерева, Санкт-Петербург

Нарушения обмена фолатов в течение нескольких десятилетий изучаются с позиции этиопатогенетического фактора, играющего роль в развитии шизофрении. Накоплен большой объем данных, позволивший сделать мета-анализы о более частом наличии минорного аллеля Т генетического полиморфизма ключевого фермента фолатного цикла МТНFR677С>Т (10 069 пациентов с шизофренией и 13 372 субъектов контрольной группы) и биохимических нарушений в цикле обмена фолатов у больных шизофренией по сравнению со здоровыми субъектами [17, 22–24]. Результаты, полученные в России, согласуются с данными зарубежных авторов об ассоциации носительства минорного аллеля Т полиморфизма МТНFR677С>Т с риском развития шизофрении и различными проявлениями этого заболевания [2, 25].

Первые клинические случаи о положительном влиянии фолатов на симптомы шизофрении были описаны в 1970-е [16], а к настоящему времени получены результаты ряда клинических испытаний, согласно которым коррекция витаминами нарушений в цикле обмена фолатов способствует нормализации биохимических параметров (повышению уровня фолатов и кобаламина плазмы, снижению уровня гомоцистеина плазмы до нормального) и при этом частичной редукции негативных и когнитивных симптомов у больных шизофренией, имеющих генетические предпосылки к нарушениям

обмена фолатов [4, 8, 19, 20]. При этом конкретные механизмы, посредством которых фолаты могут участвовать в патогенезе шизофрении, известны лишь предположительно и за исключением гипотезы гипометилирования [18] изучались не в связи с шизофренией, а в связи с другими патологическими процессами [1, 10, 14, 15, 21]. Одним из возможных объяснений ассоциации нарушений обмена фолатов с симптомами шизофрении может являться развитие дефицита тетрагидробиоптерина (далее ВН4) из-за нарушения ресинтеза ВН4 из тетрагидрофолата и ряда других биохимических механизмов [3]. Кроме того, развивающаяся при дефиците фолатов гипергомоцистеинемия может вызывать оксидативный стресс и эндотелиальную дисфункцию [7, 9, 13], что в свою очередь может также приводить к дефициту ВН4 за счет вторичных воспалительных процессов.

Ответ на терапию фолатами у больных шизофренией с носительством минорного аллеля МТНFR 677 С>Т может быть не одинаковым в связи с тем, что пациенты имеют разные генотипы по другим функционально значимым полиморфизмам генов, имеющих отношение к одноуглеродному обмену (влияющих на всасывание и распределение витаминов, поступление витаминов в клетку и участие их в молекулярных механизмах). Поэтому актуальным является изучение однонуклеотидных полиморфизмов в генах ключевых В12-зависимых ферментов фолатного цикла – метионинсинтазы (МТR 2756 А>G) и метионинсинтазыредуктазы (МТR 66 А>G). Их роль в формировании патологии человека активно изучается в настоящее время, но их вклад в развитие нарушений обмена фолатов при шизофрении практически не известен. Схемы коррекции нарушений одноуглеродного обмена у пациентов в настоящее время

\* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-015-00420, при финансовой поддержке ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России в рамках гранта на проведение фундаментального научного исследования по теме «Однонуклеотидные генетические полиморфизмы ферментов одноуглеродного метаболизма в патогенезе шизофрении – новый шаг на пути к персонализированной медицине»

еще не разработаны, клинически не апробированы и не включены в клинические рекомендации лечения и вторичной профилактики различных кластеров симптомов шизофрении. До сих пор остается не изученным, насколько актуально схемы аугментации фолатами дополнять кобаламином. По-прежнему остается неизвестной степень влияния носительства минорных аллелей генетических полиморфизмов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G на выраженность биохимических нарушений (гипергомоцистеинемии) при шизофрении. Слабо изученным остается влияние носительства различных аллелей этих полиморфизмов на эффективность гомоцистеинснижающей терапии и вытекающих из этого клинических эффектов при шизофрении.

Гипотетически при наличии у пациентов минорных аллелей полиморфизмов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G в гетеро- и тем более гомозиготной форме добавление фолатов в виде монодобавки может усугубить нарушения одноуглеродного метаболизма из-за истощения депо кобаламина. В таком случае, вероятно, необходимо дополнение схемы аугментации цианокобаламином или метилкобаламином в профилактических дозах.

Исследований, посвященных изучению ассоциации полиморфизмов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G с шизофренией, в литературе встречается крайне мало. В единственном исследовании в восточно-европейской популяции (Польша) получена положительная ассоциация с риском шизофрении минорного аллеля полиморфного локуса MTR 2756 A>G (rs1805087): 200 пациентов, 300 субъектов здорового контроля (OR=1,556, 95% CI=1,085–2,232; P=0,0160; P (corr)=0,032, [11]). Также была получена положительная ассоциация MTR 2756 A>G с тяжестью негативных симптомов в североамериканской популяции, а в работе той же группы авторов показано, что носительство аллеля G полиморфизма гена фермента MTR 2756 A>G значимо ассоциировалось с терапевтическим ответом на аугментацию L-метилфолатом антипсихотической терапии шизофрении [18].

Полиморфизм гена фермента MTRR 66 A>G (rs1801394) (он же MTRR 203A>G) изучался в связи с шизофренией также только дважды. В исследовании

арабской популяции (Сирия) не было обнаружено значимой ассоциации минорного аллеля с шизофренией, но обнаружена пограничная по достоверности ассоциация для комбинированного генотипа двух полиморфизмов CC/GG (MTHFR C677T/ MTRR A66G, OR=2,24, 95% CI (0,97–5,15), p=0,053, 85 пациентов и 126 субъектов здорового контроля [12]). В исследовании J.L.Roffman и соавт. в США также не было получено положительной ассоциации (n=219) [18]. Дальнейших исследований данного полиморфизма не проводилось, хотя размер выборки менее 500 случаев в настоящее время считается недостаточным для исследований ассоциаций «генетический полиморфизм-заболевание», в частности при шизофрении. Учитывая высокую распространенность минорного аллеля G MTRR 66 A>G в тех популяциях, где он изучался, – до 50% [6], дальнейшее изучение его роли в развитии дефицита кобаламина и гипергомоцистеинемии при шизофрении является актуальным, особенно в контексте разработки схем аугментации терапии шизофрении витаминами.

Частоты встречаемости генотипов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G значительно различаются в популяциях разных стран (табл. 1), что говорит о невозможности экстраполяции данных, полученных в отдельных исследованиях, и необходимости изучения ассоциации данных генетических факторов риска с отдельными заболеваниями в конкретных географических регионах.

В Российской популяции исследований, посвященных изучению ассоциации генетических полиморфизмов B<sub>12</sub>-зависимых ферментов фолатного цикла с шизофренией, не представлено в научной литературе. Вместе с тем, несмотря на широкие географические колебания распространенности изучаемых полиморфизмов, интерес представляют данные об ассоциации полиморфизма MTR 2756A>G с негативной симптоматикой шизофрении, полученные в североамериканской популяции. Кроме того, подтверждена ассоциация другого полиморфизма ключевого фермента фолатного цикла – MTHFR677 C>T с шизофренией в России [25]. Это определяет целесообразность разработки методов коррекции нарушений метаболизма фолатов при шизофрении

Таблица 1

**Частоты встречаемости генотипов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G в популяциях различных географических регионов \***

Регион	Генотипы MTR 2756 A>G, %			Генотипы MTRR 66 A>G, %		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG
США (штат Юта, потомки выходцев из Европы)	68,8	30,3	0,9	36,5	34,9	28,6
Китай	88,9	8,9	2,2	54,5	40,9	4,5
Япония	63,9	33,3	2,8	53,5	32,6	14,0
Нигерия	46,6	43,8	9,6	59,0	36,1	4,9
Кения	50,0	37,0	13,0	-	-	-
Калифорния (потомки мексиканцев)	66,1	32,1	1,8	-	-	-

Примечания: \* – <https://www.snpedia.com/index.php/Rs1805087>, <https://www.snpedia.com/index.php/Rs1801394>.

и необходимость изучения ассоциации генетических полиморфизмов MTR 2756 A>G, MTRR 66 A>G с этим заболеванием в Российской популяции.

**Целью** данного исследования было изучение распространенности минорных аллелей полиморфизмов ферментов фолатного цикла MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G среди пациентов с шизофренией и здоровых доноров в Нижегородском регионе России, а также изучение ассоциации носительства различных аллелей этих полиморфизмов с выраженностью симптомов шизофрении. Кроме того произведена предварительная оценка влияния минорных аллелей этих полиморфизмов на переносимость аугментации фолатами антипсихотической терапии шизофрении.

### Материалы и методы

В исследовании был использован архивированный биологический материал и база данных клинических показателей здоровых доноров и пациентов с шизофренией, ранее обследованных на носительство аллелей полиморфизма гена ключевого фермента фолатного цикла MTHFR 677C>T, результаты опубликованы [2, 4, 25]. Из имеющейся базы данных были отобраны доноры и пациенты, сопоставимые по полу, возрасту и носительству аллелей MTHFR 677C>T. Все обследованные участники исследования постоянно проживали на территории Нижегородской области, национальный состав изученной выборки соответствовал национальному составу населения Нижегородского региона России: 96% русские, остальные национальности в совокупности 4% (евреи, татары, украинцы, чуваша).

Пациенты отбирались для участия в исследовании в отделениях стационара Клинической психиатрической больницы №1 города Нижнего Новгорода. В исследование включались пациенты с установленным ранее в соответствии с критериями МКБ-10 диагнозом шизофрении (F20; у 91% пациентов – параноидная форма, остальные диагностические категории – в единичных случаях в каждой подгруппе обследованных) в возрасте 18–65 лет, способные понять цели исследования, не имеющие

тяжелой соматической патологии и гемотрансмиссивных инфекций. Производился сплошной набор всех пациентов, подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании, проходивших лечение в отделениях во время забора биообразцов, который осуществлялся в 2014–2017 годы периодичностью в среднем 1 раз в месяц [1].

Оценка носительства аллелей MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G производилась на базе проблемной научной лаборатории ПЦР-исследований НИИ профилактической медицины ПИМУ методом ПЦР с аллель-специфичными праймерами («SNP-экспресс-РВ») и последующей детекцией в режиме реального времени. Использовались тест-системы для выделения ДНК из лейкоцитов «ДНК-Экспресс-кровь» и набор для определения однонуклеотидных полиморфизмов производства НПФ «Литех», Москва.

На основании содержащихся в базе данных результатов произведена оценка влияния носительства минорных аллелей MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G на выраженность симптомов шизофрении, измеренных с помощью PANSS (n=108) и шкалы для оценки кататонии Баша-Франсиса (n=53). Также произведена предварительная оценка влияния носительства минорных аллелей MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G на переносимость аугментации фолатами антипсихотической терапии шизофрении (n=22).

В базе данных были отобраны 9 пациентов, которые были обследованы на уровень гомоцистеина плазмы методом иммуноферментного анализа для оценки ассоциации носительства генетических маркеров нарушений обмена фолатов с выраженностью наиболее показательного биохимического маркера нарушений фолатного метаболизма – гипергомоцистеинемии.

Статистический анализ осуществлялся на базе MS Excel и Statistica 6,0. Оценка нормальности распределения данных производилась с помощью критерия Шапиро-Вилка (W-тест Shapiro-Wilk). В связи с тем, что распределение отличалось от нормального, применялись непараметрические критерии – Манна-Уитни Ю-тест (далее MWU-test) для 2 групп и тест Крускалла-Уоллиса для 3 групп сравнения. При оценке качественных признаков применялся анализ таблиц сопряженности с использованием критерия Хи-квадрат (далее  $\chi^2$ ), с поправкой Йетса на непрерывность в случае анализа таблиц 2\*2. При проведении множественных сравнений вносилась поправка Бенджамини-Хохберга. Производился расчет отношения шансов (далее OR) нахождения фактора риска в основной и контрольной группах с 95% доверительным интервалом (далее ДИ). За порог статистической значимости полученных результатов был принят стандартный уровень  $p=0,05$ .

Таблица 2

#### Демографическая характеристика участников исследования

Группа обследованных, n	Средний возраст, лет, M±σ	Женщины : мужчины абс. (%)
Пациенты MTRR66A>G, n=229	40,40±13,01	113:116 (49,3:50,7)
Доноры MTRR66A>G, n=217	39,57±11,08	100:117 (46,1:53,9)
Пациенты MTR2756A>G, n=237	40,24±13,11	117:120 (49,4:50,6)
Доноры MTR2756A>G, n=215	39,57±11,17	99:116 (46,0:54,0)

<sup>1</sup> Протокол клинического исследования одобрен Локальным этическим комитетом НижГМА, Локальным этическим комитетом №1 ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России.

## Результаты и их обсуждение

Полученные частоты встречаемости аллелей и генотипов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G в изученных выборках здоровых доноров и пациентов (табл. 3, 4) соответствовало уравнению Харди-Вайнберга.

Таблица 3

**Частоты встречаемости аллелей MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G в изученных выборках**

Локус и аллель	Пациенты	Доноры	Уровень значимости
MTR 2756 A	0,753	0,807	$\chi^2=3,48$ , $p=0,062$ ; OR=1,37, 95%ДИ [0,997; 1,883]
MTR 2756 G	0,247	0,193	
MTRR 66 A	0,430	0,488	$\chi^2=2,83$ , $p=0,093$ ; OR=1,27, 95%ДИ [0,972; 1,647]
MTRR 66 G	0,570	0,512	

Как видно из табл. 4, частоты встречаемости генотипов полиморфизма MTRR 66 A>G достоверно различаются в выборках пациентов и здоровых доноров ( $\chi^2=8,17$ ;  $p=0,017$ ); в результате попарного сравнения частот встречаемости генотипов обнаружено, что среди пациентов достоверно чаще, чем среди здоровых доноров встречается генотип MTRR 66 GG и реже – генотип MTRR 66 AG ( $\chi^2=7,56$ ;  $p=0,006$ ; после внесения поправки Бенджамини-Хохберга  $p=0,018$ ). Полученные данные являются новыми, поскольку в предыдущих двух аналогичных зарубежных исследованиях ассоциации данного генетического фактора с шизофренией были получены отрицательные результаты [12, 18]. При этом частота носительства минорного аллеля (если не брать в расчет тип носительства: гомо- или гетерозиготный) среди пациентов и здоровых доноров практически не различается:  $\chi^2=0,011$ ,  $p=0,92$ ; OR=1,001, 95% ДИ (0,65; 1,53).

Носительство минорного аллеля G полиморфизма MTR 2756 A>G у больных шизофренией также встречается чаще (99/237; 41,8%), чем у здоровых

доноров (71/215; 33,0%), однако разница не достоверная при имеющемся числе наблюдений ( $p=0,069$ ,  $\chi^2=3,31$ ; OR=1,46, 95%CI (0,99; 2,14)). Учитывая небольшой объем выборки и весомую разницу, приближающуюся к границе статистической значимости, большое значение отношения шансов, можно предположить, что увеличение объема выборки в 1,5–2 раза позволит получить достоверные результаты. Это согласуется с результатами исследования, проведенного в Польше, в котором получена положительная ассоциация с риском шизофрении минорного аллеля полиморфного локуса MTR 2756 A>G (D919G) (rs1805087): 200 пациентов, 300 субъектов здорового контроля, OR=1,556, 95% CI=1,085–2,232;  $p=0,0160$ ; P (corr)=0,032 [11].

Полученные в исследовании частоты встречаемости генотипов MTR2756A>G среди пациентов и здоровых доноров находятся в пределах разброса показателей, полученных в различных географических регионах (табл. 1). Частоты встречаемости генотипов MTRR 66 A>G среди здоровых доноров также находятся в границах разброса данных, полученных в разных регионах (табл. 1), однако среди пациентов чаще, чем в любой из представленных в базе данных <https://www.snpedia.com/index.php/Rs1801394> выборок, встречается гомозиготное носительство минорного аллеля G и реже – дикий генотип AA.

Распространенность минорных аллелей изученных полиморфизмов среди здоровых доноров практически не отличается от распространенности данных аллелей в общей популяции на Российской территории, представленной в литературе. Так, в популяции подростков, обследованных Л.А.Строзенко и соавт., минорный аллель MTR 2756 G встречается в 32,3% случаев (среди доноров в данной работе – в 33,0% случаев), а минорный аллель MTRR 66 G – 72,1% в выборке подростков, обследованных

Таблица 4

**Частоты встречаемости генотипов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G и носительства минорного аллеля в гомо- и гетерозиготной форме в изученных выборках**

	Пациенты		Доноры		Уровень значимости
	Абс.	%	Абс.	%	
MTR 2756 GG	18	7,6	12	5,6	$p=0,16$ , $\chi^2=3,72$
MTR 2756 AG	81	34,2	59	27,4	
MTR 2756 AA	138	58,2	144	67,0	
Носительство минорного аллеля MTR 2756 G (генотипы MTR 2756 AG, GG)	99	41,8	71	33,0	$p=0,069$ , $\chi^2=3,31$ ; OR=1,46, 95%ДИ [0,991; 2,136]
MTR 2756 A в гомозиготной форме («дикий» генотип)	138	58,2	144	67,0	
Всего	237	100	215	100	
MTRR 66 GG	90	39,3	60	27,6	$p=0,017$ , $\chi^2=8,17$
MTRR 66 AG	81	35,4	102	47,0	
MTRR 66 AA	58	25,3	55	25,3	
Носительство минорного аллеля MTRR 66 G (генотипы MTRR 66 AG, GG)	171	74,7	162	74,7	$p=0,92$ , $\chi^2=0,011$ ; OR=1,00, 95%ДИ [0,653; 1,534]
MTRR 66 в гомозиготной форме («дикий» генотип AA)	58	25,3	55	25,3	
Всего	229	100	217	100	

Л.А.Строзенко и соавт., и 74,7% – в обследованной нами выборке здоровых доноров [5].

Полученные данные говорят о том, что генетические полиморфизмы MTRR 66 A>G и MTR 2756 A>G в российской популяции могут играть роль одного из факторов риска шизофрении наряду с полиморфизмом MTHFR 677 C>T. Учитывая, что только в России получена достоверная ассоциация носительства генотипа MTRR 66 GG с шизофренией, проблема дефицита кобаламина при шизофрении в России требует особого внимания.

Как видно из рис. 1, у носителей минорного аллеля G полиморфизма MTR 2756 A>G, обследованных в период стационарного лечения (не менее 10 дней, n=44), все негативные симптомы шизофрении, измеренные с помощью PANSS, более выражены, чем в подгруппе пациентов-носителей дикого генотипа (n=64). Все пациенты были обследованы вслепую к результатам лабораторного анализа на данный полиморфизм. При этом достоверными между подгруппами пациентов были различия по пунктам PANSS: P3 (галлюцинаторное поведение: Z=-2,45, p=0,014), N4 (пассивно-апатическое социальное избегание: Z=-2,32, p=0,021), G16 (активное социальное избегание: Z=-2,59, p=0,0096, U-тест Манна-Уитни).

Полученные данные в целом согласуются с положительной ассоциацией MTR 2756 A>G (D919G) с тяжестью негативных симптомов, продемонстрированной впервые J.Roffman и соавт. [18], однако, вероятно, требуют подтверждения в более масштабном исследовании для достижения достоверности по остальным пунктам негативной шкалы PANSS, кроме N4.

Аналогичным образом была проанализирована ассоциация носительства минорного аллеля G

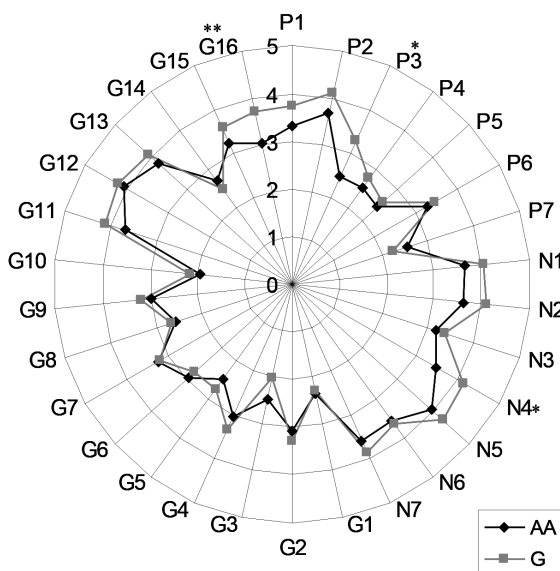


Рис. 1. Средние баллы по отдельным пунктам PANSS в подгруппах пациентов с носительством минорного аллеля MTR 2756 G и дикого генотипа MTR 2756 AA

Примечания: Ряд 1 – носители генотипа AA; Ряд 2 – носители аллеля G (генотипы AG, GG); \* – различия достоверны при p<0,05; \*\* – различия достоверны при p<0,01.

полиморфизма MTRR 66 A>G с выраженностью симптомов (PANSS) у пациентов, обследованных в период стационарного лечения (не менее 10 дней, рис. 2). У пациентов с носительством минорного аллеля (n=44) все негативные симптомы, кроме N6, несколько более выражены, чем в подгруппе пациентов-носителей дикого генотипа (n=64), но не достоверно. При этом достоверными между подгруппами пациентов были различия по пунктам PANSS: G4 (напряжение: Z=2,20, p=0,028) и G13 (волевые нарушения: Z=2,42, p=0,015, U-тест Манна-Уитни).

Можно предположить, что нарушения работы различных ферментов фолатного цикла при носительстве минорных аллелей их генетических полиморфизмов оказывают синергическое действие на биохимический обмен (уровень гомоцистеина, тетрагидрофолата и тетрагидробиоптерина) и соответственно на все последствия нарушений обмена фолатов, в том числе и выраженность различных симптомов шизофрении (преимущественно негативных). В таком случае, учитывая высокую распространенность в выборке пациентов изученных генетических полиморфизмов B<sub>12</sub>-зависимых ферментов, можно ставить вопрос о необходимости аугментации антипсихотической терапии шизофрении не только фолатами, но и кобаламином.

Носительство аллеля G полиморфизма MTRR 66 A>G ассоциировалось, но статистически не достоверно при имеющемся числе наблюдений (n=53, тест Крускала-Уоллиса,  $\chi^2=1,96$ ; p=0,38) с выраженностью кататонических симптомов, измеренных с помощью шкалы Баша-Франсиса (рис. 3). Как видно из диаграммы, чем больше аллелей G в генотипе, тем сильнее выражены кататонические симптомы.

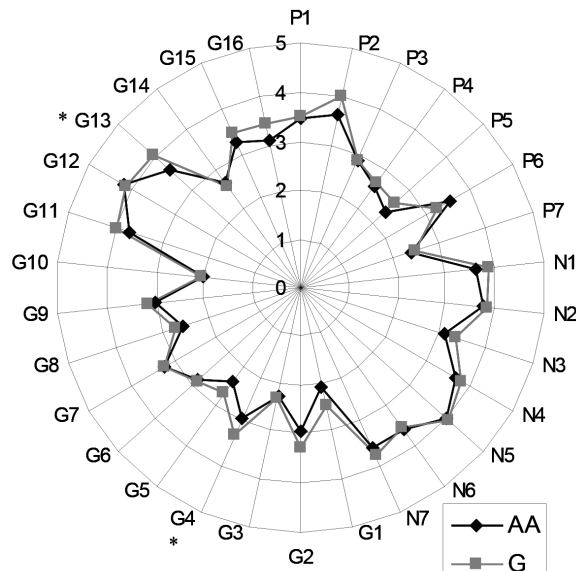


Рис. 2. Средние баллы по отдельным пунктам PANSS в подгруппах пациентов с носительством минорного аллеля MTRR 66 G и дикого генотипа MTRR 66 AA

Примечания: Ряд 1 – носители генотипа AA, Ряд 2 – носители аллеля G (генотипы AG, GG); \* – различия достоверны при p<0,05.

Отсутствие достоверности полученных результатов, вероятно, ассоциировано с малым числом наблюдений в подгруппах (AA: n=13; AG: n=20; GG: n=20). Полученные результаты позволяют сформировать гипотезу, что дефицит витамина B<sub>12</sub> и/или нарушения его обмена (в том числе генетические факторы, влияющие на работу B<sub>12</sub>-зависимых ферментов фолатного цикла) могут играть роль в формировании двигательных (кататонических) нарушений при шизофрении, что требует дальнейшего изучения в специальных исследованиях.

В недавнем исследовании J.Roffman и соавт. [20] коррекции фолатами негативной симптоматики шизофрении было показано, что носительство аллеля G полиморфизма гена фермента MTR 2756 A>G значимо ассоциировалось с терапевтическим ответом на аугментацию L-метилфолатом антипсихотической терапии шизофрении. В проведенном нами исследовании терапию метафолином получали только 8 пациентов с носительством аллеля G MTR 2756 A>G, поэтому получить статистически достоверные результаты не предоставляется возможным. Однако можно отметить, что все 8 пациентов переносили терапию без выраженных побочных эффектов и имели положительную динамику (по оценке общего клинического впечатления). Что нельзя сказать про носителей полиморфного аллеля G MTRR 66A>G. У гомозиготных носителей в ответ на терапию фолатами развивались побочные эффекты, из-за которых пациенты отказывались от приема витаминов: оба пациента с генотипом MTRR 66 GG, которым назначались фолаты, выбыли из исследования из-за непереносимости (отказались от дальнейшей терапии). Также у носителей данного аллеля в гетерозиготной форме на фоне приема фолатов ухудшалось психическое состояние (отмечалось усиление тревоги, усиление продуктивной симптоматики) либо отмечались головные боли (n=6). Абсолютное большинство пациентов, имевших побочные эффекты при применении фолиевой кислоты и метафолина, были носителями одного или двух минорных аллелей G полиморфизма MTRR 66A>G (8 из 10).

Как видно из табл. 5, представленность генотипов полиморфизмов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G у пациенток и пациентов в изученной выборке сопо-

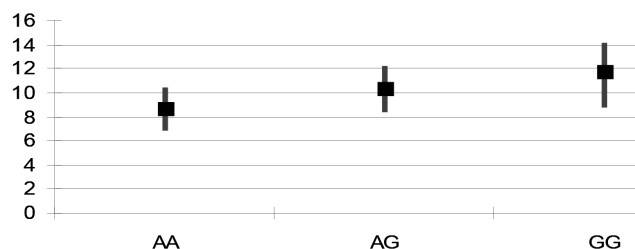


Рис. 3. Средние баллы ± ошибка среднего по результатам обследования пациентов с помощью шкалы Баша-Франсиса в подгруппах пациентов с носительством различных генотипов MTRR 66 A>G

ставима, и различия между мужчинами и женщинами статистически не достоверны ( $\chi^2=0,13$ ,  $p=0,72$  для аллелей MTR 2756 A>G;  $\chi^2=0,12$ ,  $p=0,73$  для аллелей MTRR 66 A>G). Это подтверждает данные, полученные в России по полиморфизму MTHFR677C>T [25], и говорит о том, что в Российской популяции нарушения одноуглеродного метаболизма при шизофрении имеют равноценную значимость у представителей как мужского, так и женского пола.

Шизофрения является мультифакториальным полигенным расстройством, и вклад отдельных генетических факторов чаще всего является небольшим (в отдельных случаях размер эффекта может составлять 1,1–1,5), однако если несколько генетических локусов имеют общие биохимические и соответственно этиопатогенетические последствия, небольшой вклад каждого из этих факторов, очевидно, должен оцениваться не независимо, а в комбинации. Вероятно, это справедливо и в отношении изучаемых генетических полиморфизмов ключевых ферментов фолатного цикла. Как видно из табл. 6, уровень гомоцистеина у пациентов варьирует значительно как у носителей одинаковых генотипов по исследуемым полиморфизмам, так и у носителей одинакового суммарного количества минорных аллелей всех изучаемых полиморфизмов, при этом имеется тенденция в сторону большего уровня гомоцистеина у носителей большего количества минорных аллелей. Корреляция Спирмена уровня гомоцистеина с «нагрузкой» минорными аллелями прямая, умеренная, но статистически не достоверная:  $\rho=0,333$ ;  $\rho$  Крит.=0,738,  $p>0,05$ . С одной стороны отсутствие достоверности корреляции

Таблица 5

**Частоты встречаемости различных генотипов MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G среди мужчин и женщин в группах пациентов и доноров**

Генотипы и аллели полиморфизмов	Пациенты				Доноры			
	Женщины		Мужчины		Женщины		Мужчины	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
MTR 2756 GG	11	9,4	7	5,8	6	6,1	6	5,2
MTR 2756 AG	36	30,8	45	37,5	24	24,2	35	30,2
MTR 2756 AA	70	59,8	68	56,7	69	69,7	75	64,6
Всего	117	100	120	100	99	100	116	100
MTRR 66 GG	42	37,2	48	41,4	28	28	32	27,4
MTRR 66 AG	44	38,9	37	31,9	50	50	52	44,4
MTRR 66 AA	27	23,9	31	26,7	22	22	33	28,2
Всего	113	100	116	100	100	100	117	100

может отражать малый объем выборки пациентов, обследованных на гомоцистеин, но с другой стороны это может быть связано со средовыми факторами (характером питания, временем года обследования пациентов, которое не бралось в расчет), а также с носительством других, не изученных в данной работе генетических факторов, влияющих на уровень гомоцистеина.

Таблица 6

**Уровень гомоцистеина у пациентов с различными генотипами изученных генетических локусов**

Номер пациента в исследовании	Количество минорных аллелей	Генотипы MTHFR, MTRR, MTR соответственно	Уровень гомоцистеина плазмы, мкмоль/л
20	4	ТТ, GG, AA	166
44	не менее 2	ТТ, не известно, не известно	28
1	4	СТ, AG, GG	23,14
198	2	CC, GG, AA	12,89
53	2	CC, AG, AG	12,53
8	1	CC, AA, AG	11,02
145	4	ТТ, AG, AG	9,06
35	2	CC, GG, AA	8,65
4	3	СТ, AG, AG	8,14

Среди тех пациентов, кто был обследован на носительство аллелей всех трех генетических полиморфизмов фолатного цикла (MTHFR677C>T, MTR 2756 A>G и MTRR 66 A>G) (n=223), только у 15,2% (n=34) не были выявлены минорные аллели полиморфизмов B<sub>12</sub>-зависимых ферментов фолатного цикла. А среди тех пациентов, кто может нуждаться в фолатной аугментации в связи с носительством Т-аллеля MTHFR677C>T (n=114), доля носителей нормальных («диких») генотипов в полиморфных локусах B<sub>12</sub>-зависимых ферментов (MTR 2756 AA, MTRR 66 AA) еще меньше – 13,2% (n=15). Это говорит о том, что аугментация антипсихотической терапии кобаламином в Российской популяции больных шизофренией может быть не менее актуальной, чем аугментация фолатами, а для усиления клинического эффекта фолатов, оптимально всем пациентам, нуждающимся в терапии фолатами,

назначать комбинированную терапию - с кобаламином в профилактических дозах.

**Заключение**

Таким образом, в результате исследования показано, что в Нижегородском регионе России среди больных шизофренией достоверно чаще, чем среди здоровых доноров крови, встречается носительство гомозиготного генотипа GG генетического полиморфизма MTRR 66 A>G, а также чаще, но не достоверно – минорного аллеля полиморфизма MTR 2756 A>G (независимо от пола).

У носителей минорного аллеля G полиморфизма MTR 2756 A>G достоверно более, чем у пациентов с диким генотипом MTR 2756 AA выражены галлюцинаторное поведение (PANSS P3: Z=-2,45, p=0,014), пассивно-апатическое социальное избегание (N4: Z=-2,32, p=0,021) и активное социальное избегание (G16: Z=-2,59, p=0,0096, U-тест Манна-Уитни). У носителей минорного аллеля G полиморфизма MTRR 66 A>G достоверно более, чем у пациентов с диким генотипом MTRR 66 AA, выражены напряжение (G4: Z=2,20, p=0,028) и волевые нарушения (G13: Z=2,42, p=0,015, U-тест Манна-Уитни). Практически все негативные симптомы шизофрении, измеренные с помощью PANSS вслепую к результатам генетического тестирования, более выражены у носителей минорных аллелей обоих изученных полиморфизмов, но не достоверно при имеющемся числе наблюдений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что генетические полиморфизмы B<sub>12</sub>-зависимых ферментов фолатного цикла могут играть роль фактора риска заболевания, его тяжести и неблагоприятного прогноза.

Носительство минорного аллеля G полиморфизма MTRR 66A>G может обуславливать развитие побочных эффектов при применении фолатов в виде монотерапии. Доля пациентов с носительством нормальных («диких») генотипов полиморфизмов B<sub>12</sub>-зависимых ферментов низка (15,2% во всей выборке и 13,2% среди носителей дефектного аллеля Т MTHFR677C>Т), что ставит вопрос о необходимости дополнения схем аугментации фолатами терапии шизофрении кобаламином.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Арзумян Е.С., Степанова М.С. Механизмы токсического действия гомоцистеиновой кислоты на нейрональные клетки // Нейрохимия. 2010. Т. 27. № 3. С. 251–256.
- Жиляева Т.В., Сергеева А.В., Благодарова А.С., Касимова Л.Н. Психопатологическая характеристика и особенности социального функционирования больных шизофренией с носительством Т-аллеля в полиморфном локусе гена обмена фолатов MTHFR677C>Т // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2016. Т. 116. № 11. С. 5–11.
- Жиляева Т.В., Ларионова В.И., Мазо Г.Э. Птерины как потенциальные средства преодоления терапевтической резистентности при шизофрении // Современная терапия психических расстройств. 2018. № 1. С. 2–10.
- Жиляева Т.В., Сергеева А.В., Касимова Л.Н., Благодарова А.С. Динамика когнитивных функций на фоне аугментации терапии фолатами у пациентов с шизофренией, носителей полиморфизма гена MTHFR677C>Т: Пилотное исследование // Современные технологии в медицине. 2015. Т. 7. № 4. С. 147–153.
- Строзенко Л.А., Гордеев В.В., Лобанов Ю.Ф. и соавт. Распределение генов фолатного цикла в популяции подростков г. Барнаула Алтайского края // Мать и дитя в Кузбассе. 2015. № 1. С. 29–34.
- Andrew T., Gill R., Gillham-Naseny I., Ahmadi K.R. Unravelling the basis of variability in cobalamin levels in the general population // Br. J. Nutr. 2013. Vol. 110. N 09. P. 1672–1679.
- Boldyrev A.A. Molecular mechanisms of homocysteine toxicity // Biochemistry (Moscow). 2009. Vol. 74. N 6. P. 589–598.
- Brown H.E., Roffman J.L. Vitamin Supplementation in the Treatment of Schizophrenia // CNS Drugs. 2014. Vol. 28. N 7. P. 611–622.
- Goff D. C., Bottiglieri T., Arning E. et al. Folate, Homocysteine, and Negative Symptoms in Schizophrenia // Am. J. Psychiatry. 2004. Vol.

161. N 9. P. 1705–1708.
10. Imamura K., Takeshima T., Nakaso K., Nakashima K. Homocysteine is toxic for dopaminergic neurons in primary mesencephalic culture // *Neuroreport*. 2007. Vol. 18. N 13. P. 1319–1322.
  11. Kempisty B., Sikora J., Lianeri M. et al. MTHFD 1958G>A and MTR 2756A>G polymorphisms are associated with bipolar disorder and schizophrenia // *Psychiatr. Genet*. 2007. Vol. 17. N 3. P. 177–181.
  12. Lajin B., Alhaj Sakur A., Michati R., Alachkar A. Association between MTHFR C677T and A1298C, and MTRR A66G polymorphisms and susceptibility to schizophrenia in a Syrian study cohort // *Asian J. Psychiatry*. 2012. Vol. 5. N 2. P. 144–149.
  13. Levine J., Sela B.A., Osher Y., Belmaker R.H. High homocysteine serum levels in young male schizophrenia and bipolar patients and in an animal model // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2005. Vol. 29. N 7. P. 1181–1191.
  14. Linnebank M., Lutz H., Jarre E. et al. Binding of copper is a mechanism of homocysteine toxicity leading to COX deficiency and apoptosis in primary neurons, PC12 and SHSY-5Y cells // *Neurobiol. Dis*. 2006. Vol. 23. N 3. P. 725–730.
  15. Lipton S.A., Kim W.K., Choi Y.B. et al. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 5923–5928.
  16. Mudd S.H., Freeman J.M. N-5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and schizophrenia: a working hypothesis // *J. Psychiatr. Res*. 1974. N 11. P. 259–262.
  17. Nishi A., Numata S., Tajima A. et al. Meta-analyses of blood homocysteine levels for gender and genetic association studies of the MTHFR C677T polymorphism in schizophrenia // *Schizophr. Bull*. 2014. Vol. 40. N 5. P. 1154–1163.
  18. Roffman J.L., Brohawn D.G., Nitenson A.Z. et al. Genetic Variation Throughout the Folate Metabolic Pathway Influences Negative Symptom Severity in Schizophrenia // *Schizophr. Bull*. 2011. Vol. 39. N 2. P. 330–338.
  19. Roffman J.L., Lambert J.S., Achtyes E. et al. Randomized Multicenter Investigation of Folate Plus Vitamin B 12 Supplementation in Schizophrenia // *JAMA Psychiatry*. 2013. Vol. 70. N 5. P. 481.
  20. Roffman J.L., Petrucci L.J., Tanner A.S. et al. Biochemical, physiological and clinical effects of l-methylfolate in schizophrenia: a randomized controlled trial // *Mol. Psychiatry*. - 2017. - Vol. 23. - №2. - P. 316–322.
  21. Shi Q., Savage J.E., Hufeisen S.J. et al. l-Homocysteine Sulfinic Acid and Other Acidic Homocysteine Derivatives Are Potent and Selective Metabotropic Glutamate Receptor Agonists // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2003. Vol. 305. P. 131–142.
  22. Wang D., Zhai J.-X., Liu D.-W. Serum folate levels in schizophrenia: A meta-analysis // *Psychiatr. Res*. 2016. Vol. 235. P. 83–89.
  23. Yadav U., Kumar P., Gupta S., Rai V. Role of MTHFR C677T gene polymorphism in the susceptibility of schizophrenia: An updated meta-analysis // *Asian J. Psychiatr*. 2016. Vol. 20. P. 41–51.
  24. Zhang Y., Hodgson N.W., Trivedi M.S. et al. Decreased brain levels of vitamin B<sub>12</sub> in aging, autism and schizophrenia // *PLoS One*. 2016. Vol. 11. N 1. P. e0146797.
  25. Zhilyaeva T.V., Sergeeva A.V., Blagonravova A.S. et al. Association study of methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism 677C>T with schizophrenia in hospitalized patients in population of European Russia // *Asian J. Psychiatr*. 2018. Vol. 32. P. 29–33.

## АССОЦИАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В<sub>12</sub>-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА С ШИЗОФРЕНИЕЙ И ЕЕ СИМПТОМАМИ В НИЖЕГОРОДСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

Т.В. Жилиева, О.Г. Македонская, М.Э. Чумаков, А.С. Благодрава, Г.Э. Мазо

Согласно ряду исследований при шизофрении чаще, чем в общей популяции выявляются нарушения обмена фолатов. Последние могут повышать риск развития заболевания, либо ассоциированы с развитием отдельных кластеров симптомов (в частности негативных). На метаболизм фолатов и возможность коррекции симптомов заболевания витаминами могут влиять однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в генах кобаламинзависимых ферментов – метионинсинтазы (MTR 2756A>G) и метионинсинтазыредуктазы (MTRR 66A>G), что к настоящему времени изучено недостаточно. Целью данного исследования было оценить ассоциацию MTR 2756A>G и MTRR 66A>G с шизофренией и тяжестью ее симптомов в популяции Нижегородского региона России. Методом ПЦР были обследованы пациенты с шизофренией и сопоста-

вимые им по возрасту и полу здоровые доноры крови, часть пациентов обследованы с помощью стандартизированных психометрических шкал. Среди пациентов с шизофренией достоверно чаще, чем среди здоровых доноров выявлялось носительство генотипа MTRR 66GG. У носителей минорных G-аллелей MTR 2756A>G и MTRR 66A>G отдельные симптомы шизофрении достоверно более выражены, чем у пациентов с дикими генотипами. Полученные результаты говорят об актуальности дальнейших исследований роли SNP кобаламинзависимых ферментов и дефицита витамина В<sub>12</sub> в развитии шизофрении и ее симптомов.

**Ключевые слова:** шизофрения, кобаламин, фолаты, метионинсинтаза, метионинсинтазаредуктаза.

## ASSOCIATION BETWEEN GENETIC POLYMORPHISMS OF B12-DEPENDENT FOLATE RECYCLING ENZYMES AND SCHIZOPHRENIA AND ITS SYMPTOMS IN THE NIZHNY NOVGOROD DISTRICT OF RUSSIA

T.V. Zhilyaeva, O.G. Makedonskaya, M.E. Chumakov, A.S. Blagonravova, G.E. Mazo

According to research, folic acid metabolism abnormalities are more common in schizophrenia patients than in general population. These abnormalities may increase the risk of disease or may be associated with development of specific symptom clusters, including negative ones. Folate metabolism and improvement of symptoms via vitamin intake could be influenced by single-nucleotide polymorphisms (SNP) in cobalamin-dependent enzymes genes – specifically, methionine synthase (MTR 2756A>G) and methionine synthase reductase (MTRR 6A>G) genes though it has not been properly investigated. The aim of this investigation was to study the association between the MTR 2756A>G and MTRR 66A>G and schizophrenia and severity of its symptoms in the population of the Nizhny Novgorod District of Russia. Schizophrenic patients and

age- and gender matched healthy blood donors were investigated by means of Polymerase Chain Reaction (PCR) method, and a number of patients were investigated with standardised psychometric scales. In schizophrenic patients, the MTRR 66GG genotype was significantly more common than in healthy donors. In carriers on minor G-alleles MTR 2756A>G and MTRR 66A>G, individual symptoms of schizophrenia were significantly more prevalent than in patients with wild genotypes. Results emphasize the importance of further research on the role of SNP cobalamin-dependent enzymes and lack of vitamin B12 in development of schizophrenia and its symptoms.

**Key words:** schizophrenia, cobalamin, folates, methionine synthase, methionine synthase reductase

**Жилиева Татьяна Владимировна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры психиатрии и медицинской психологии Приволжского исследовательского медицинского университета (ПИМУ), Нижний Новгород; e-mail: bizet@inbox.ru

**Македонская Ольга Геннадьевна** – кандидат медицинских наук, главный врач Мордовской республиканской станции переливания крови, главный внештатный трансфузиолог Минздрава Республики Мордовия, Саранск.

**Чумаков Михаил Эдуардович** – кандидат медицинских наук, врач-эпидемиолог Мордовской республиканской станции переливания крови, главный внештатный эпидемиолог Минздрава Республики Мордовия, Саранск.

**Благодрава Анна Сергеевна** – доктор медицинских наук, директор НИИ профилактической медицины ПИМУ, Нижний Новгород; e-mail: a.blagonravova@mail.ru

**Мазо Галина Эльвна** – доктор медицинских наук, ученый секретарь Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева, Санкт-Петербург; e-mail: galina-mazo@yandex.ru