

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ И МЕТОДЫ

УДК 616.895.8-092(043.3)

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА ШИЗОФРЕНИИ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ НОСИТЕЛЬСТВА ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЕЙ В 13 ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛОКУСАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА ОБМЕН ПТЕРИНОВ

© 2023 г. Т. В. Жиялева^{1, 2, *}, А. П. Баврина¹, Е. Д. Касьянов², А. С. Благонравова¹, Г. Э. Мазо²

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, 603005 Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии
и неврологии им. В.М. Бехтерева, Санкт-Петербург, 192019 Россия

*e-mail: bizet@inbox.ru

Поступила в редакцию 22.06.2022 г.

После доработки 09.09.2022 г.

Принята к публикации 28.10.2022 г.

Методом ПЦР в режиме реального времени проведен анализ носительства аллелей в 13 генетических локусах, влияющих на обмен птеринов, у 116 пациентов с шизофренией и 62 здоровых добровольцев. Для анализа точности прогнозирования риска шизофрении использовался метод бинарной логистической регрессии с оценкой вклада всех изученных локусов. Разработана математическая модель, которая позволяет спрогнозировать риск развития шизофрении у носителя комбинации генотипов *MTHFD1* 1958CC/*MTRR* 66GG с вероятностью 90.6%, *MTHFD1* 1958CC/*MTRR* 66AG – с вероятностью 81.9%. Применение данной модели целесообразно в рутинной психиатрической практике среди лиц высокого риска развития шизофрении, однако для внедрения полученных данных в практическое здравоохранение необходима репликация в других выборках с большим объемом наблюдений.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, шизофрения, птерины, фолаты, метилирование.

DOI: 10.31857/S0016675823040112, **EDN:** AYENHP

К настоящему времени имеются убедительные данные о том, что нарушения обмена птеринов – дефицит фолатов, тетрагидриобиптерина (ВН4), кобаламина, гипергомоцистеинемия – играют этиопатогенетическую роль в развитии шизофрении [1–6]. Закономерным в связи с этим является поиск генетических предпосылок, обуславливающих эти биохимические нарушения. Существуют мета-анализы, подтверждающие вклад однонуклеотидного полиморфизма (SNP) *MTHFR* 677C>T в риск развития шизофрении [7], ряд публикаций по генетическим локусам кобаламин-зависимых ферментов фолатного обмена [8, 9], противоречивые сведения по SNP фермента синтеза ВН4 ГТФ-циклогидролазы-1 [10], а также отдельные единичные публикации по ряду других генетических локусов, влияющих на фолатный обмен [11].

Согласно имеющимся данным литературы, вклад каждого из изученных генетических локусов в развитие шизофрении слабый, он был доказан на больших выборках [7]. При этом распределение генотипов полиморфизма ферментов фолатного обмена в разных популяциях, занимающих

различные географические территории, зачастую различается [12, 13].

Кроме того, за пределами внимания большинства исследователей остаются другие генетические факторы, влияющие на фолатный обмен, которые стали известны только недавно благодаря GWAS [11, 14]. Оценка вклада ряда SNP в фолатный обмен изучалась либо у здоровых (в общей популяции), либо при других (не психических) расстройствах, и были получены значимые результаты [15]. Их эффект на риск развития шизофрении только начинает изучаться, причем результаты разных авторов противоречат друг другу [8, 16].

Кумулятивный эффект носительства полиморфных аллелей в нескольких локусах, влияющих на обмен фолатов, может оказаться более выраженным, чем влияние одного SNP. К настоящему времени работ, которые бы учитывали влияние нескольких генетических локусов ферментов фолатного обмена на риск развития шизофрении, в доступной нам научной литературе не найдено, хотя есть отдельные работы о кумулятивном влиянии полиморфизма ферментов фолатного обмена

на на выраженность негативных симптомов шизофрении [17].

Кроме проблемы полигенного влияния на обмен фолатов затрудняет изучение вклада полиморфных генетических локусов ферментов фолатного цикла на риск развития шизофрении также то, что не до конца изучена роль молекулярных механизмов влияния отдельных генетических факторов на риск шизофрении. Кроме того, весьма большую роль в развитии нарушений обмена фолатов играют средовые факторы (питание и образ жизни), влияющие на уровень фолатов, кобаламина и пиридоксина сыворотки крови, — все эти витамины являются непосредственными участниками фолатного обмена (субстратами и кофакторами ферментов фолатного обмена).

Цель данной работы — оценка влияния на риск развития шизофрении носительства комплекса генетических маркеров, участвующих в обмене фолатов и тетрагидробиоптерина, и разработка на основе этого математической модели прогнозирования риска шизофрении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Протокол исследования и информированное согласие для участников были одобрены Локальным этическим комитетом № 1 Приволжского исследовательского медицинского университета (протокол № 4 заседания от 13.03.2019). Критерием включения пациентов в исследование было подтверждение диагноза шизофрении на основании интервью с применением опросника Mini International Neuropsychiatric Interview for Diagnostic and Statistical Manual, Version 5 (M.I.N.I. for DSM-5). Критериями включения для контрольной группы были: отсутствие анамнеза психического заболевания и консультаций у специалистов-психиатров в течение жизни, отсутствие социальной дезадаптации (добровольцы имели трудовую или учебную занятость, социализацию) и отсутствие зависимости от психоактивных веществ (ПАВ). Общие критерии включения для обеих групп: добровольное согласие на участие в исследовании; отсутствие хронических заболеваний, связанных с воспалением, выраженными изменениями показателей оксидативного стресса, гипергомоцистеинемией, нарушениями метаболизма фолатов и фенилаланина; отсутствие приема синтетических витаминов, противовоспалительных препаратов и антиоксидантов в течение месяца до включения в исследование. Все участники исследования (116 пациентов с шизофренией и 62 здоровых добровольца) были жителями Нижнего Новгорода или Нижегородской области. Забор венозной крови осуществлялся строго натощак в утренние часы из локтевой вены. Молекулярная диагностика SNP проводилась у всех участников методом полимеразной цеп-

ной реакции (ПЦР) с аллель-специфическими праймерами и последующей детекцией в режиме реального времени. Использовали тест-системы для выделения ДНК из лейкоцитов “ДНК-Экспресс кровь” (производство НПП “Литех” Россия) и наборы для определения аллелей производства ООО “ТестГен” (Россия) и НПП “Литех”.

Изученные генетические факторы представлены в табл. 1. У носителей полиморфных аллелей изученных SNP снижается соответствующая функция фермента/белка, что определяет его влияние на различные звенья метаболизма птеринов. На основе обзора литературы [11] были выбраны генетические факторы, которые ранее изучались в контексте нарушений обмена птеринов: влияющие на усвоение фолатов из пищи, их внутриклеточный транспорт, метаболизм в клетке, синтез тетрагидробиоптерина, а также смежные процессы одноуглеродного метаболизма — метилирование и транссульфурацию.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ SPSS Statistics v. 27. Сравнение частот распределения генотипов у пациентов и здоровых добровольцев (табл. 2) проводили с помощью анализа таблиц сопряженности методом χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Для анализа точности прогнозирования риска шизофрении использовали метод бинарной логистической регрессии с оценкой вклада 13 генетических локусов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение генотипов изученных SNP среди пациентов и здоровых добровольцев и соответствие распределения по каждому локусу закону Харди–Вайнберга представлено в табл. 2.

Критический уровень значимости ($p \leq 0.05$) для переменных (13 SNP) в регрессионных уравнениях был преодолен только для двух локусов — rs2236225 (далее *MTHFD1*) и rs1801394 (далее *MTRR*), поэтому в дальнейшем анализе участвовали только SNP *MTHFD1* и *MTRR*. Нормальный (“дикий”) генотип *MTHFD1* CC и полиморфный генотип *MTRR* GG у пациентов встречались чаще, поэтому эти генотипы были обозначены в математической модели как факторы риска шизофрении кодом “2”, соответственно гомозиготные генотипы с альтернативным аллелем — кодом “0”, гетерозиготы — кодом “1”.

При разработке математической модели бинарным событием являлось разделение изученной выборки на две группы: пациенты с установленным диагнозом шизофрения и здоровые добровольцы (болен/здоров). Вероятность наступления события для определенного случая рассчитывается по общей формуле (в данном случае событие —

Таблица 1. Генетические факторы, изученные в рамках данной работы

Номер SNP, другие обозначения при наличии	Название фермента/белка	Функция фермента/белка, роль полиморфизма
rs10137071 (C>T или G>A, далее <i>GCH1-1</i>)	ГТФ-циклогидролаза-1 (<i>GCH1</i>)	Синтез ВН4 (снижение уровня тетрагидробиопте-рина – ВН4 – в сыворотке крови у носителей полиморфных аллелей)
rs8007267 (далее <i>GCH1-2</i>)		
rs202676 (484T>C, далее <i>FOLH1</i>)	Фолатгидролаза-1 (<i>FOLH1</i>), или глутамат карбоксипептидаза-II (<i>GCP-II</i>)	Абсорбция фолатов из кишечника
rs1051266 (Arg27Cys, 80G>A, далее <i>RFC1</i>)	Восстановленный переносчик фолатов (<i>reduced folate carrier-1</i> , <i>RFC1</i>), <i>SLC19A1</i>	Синтез клеточных рецепторов фолатов (трансмем- бранный перенос фолатов внутрь клетки)
rs2618372 (далее <i>DHFR</i>)	Дигидрофолатредуктаза (<i>DHFR</i>)	Внутриклеточный метаболизм фолатов: превраще- ние дигидрофолата (пищи) в метаболически актив- ную форму тетрагидрофолат
rs2236225 (1958G>A, далее <i>MTHFD1</i>)	Метилентетрагидрофолатдегидро- геназа (<i>MTHFD1</i>)	Цитоплазматический метаболизм фолатов: взаимные превращения тетрагидрофолата (ТГФ), 10-формил- ТГФ, 5,10-метенил-ТГФ и 5,10-метилен-ТГФ
rs1801133 (677C>T, Ala222Val, далее <i>MTHFR1</i>)	Метилентетрагидрофолатредук- таза (<i>MTHFR</i>)	Восстановление 5,10-метилен-ТГФ в 5-метил- ТГФ, необходимый для метилирования, в том числе гомоцистеина в метионин
rs1801131 (1298A>C, Glu429Ala, далее <i>MTHFR2</i>)		
rs1805087 (2756A>G, Asp919Gly, далее <i>MTR</i>)	Метионинсинтаза (<i>MTR</i>)	Восстановление гомоцистеина в метионин, кобаламин-зависимая реакция
rs1801394 (66A>G, Ile22Met, далее <i>MTRR</i>)	Редуктаза метионинсинтазы (<i>MTRR</i>)	Восстановление метионинсинтазы для осущест- вления метилирования гомоцистеина в метионин
rs5742905 (T833C/844ins68, далее <i>CBS</i>)	Цистатионин-β-синтаза (<i>CBS</i>)	Первая стадия трансульфурации (превращение гомоцистеина в цистатионин), кофактор — пиридоксальфосфат (витамин В6)
rs4654748 (далее <i>NBPF3</i>)	Neuroblastoma breakpoint family member 3 (<i>NBPF3</i> , русскоязычного перевода не найдено)	Влияет на уровень пиридоксина (В6) в плазме, как следствие — может определять активность <i>CBS</i>
rs4680 (158Val>Met, далее <i>COMT</i>)	Катехол-О-метилтрансфераза (<i>COMT</i>)	Метаболизм (распад) катехоламинов при участии метильной группы из цикла обмена фолатов

это установление факта, что участник исследова-
ния болен шизофренией):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}},$$

где $z = bX + a$.

X – значение независимой переменной, b – коэф-

фициент, расчет которого является задачей би-
нарной логистической регрессии, a – константа.

Если для p установлено значение меньше 0.5,
то можно предположить, что событие не наступит
(участник исследования здоров); в противном слу-
чае предполагается наступление события (участник
исследования болен).

Таблица 2. Распределение генотипов изученных SNP среди пациентов и здоровых добровольцев

Ген, генотипы	Пациенты, <i>N</i> (частота); соответствие распределения закону Харди–Вайнберга	Здоровые, <i>N</i> (частота); соответствие распределения закону Харди–Вайнберга	Различия частот между пациентами и здоровыми
<i>GCH1-1</i> <i>CC</i> <i>CT</i> <i>TT</i>	41 (0.36) 17 (0.15) 57 (0.49) $\chi^2 = 56.11; p = 0.000$	28 (0.45) 9 (0.15) 25 (0.40) $\chi^2 = 31.16; p = 0.000$	$\chi^2 = 1.68; p = 0.43$
<i>GCH1-2</i> <i>CC</i> <i>CT</i> <i>TT</i>	82 (0.71) 31 (0.27) 3 (0.026) $\chi^2 = 0.0012; p = 0.99$	44 (0.71) 17 (0.27) 1 (0.016) $\chi^2 = 0.19; p = 0.91$	$\chi^2 = 0.18; p = 0.92$
<i>FOLH1</i> <i>TT</i> <i>TC</i> <i>CC</i>	40 (0.34) 64 (0.55) 12 (0.10) $\chi^2 = 3.42; p = 0.18$	29 (0.47) 29 (0.47) 4 (0.065) $\chi^2 = 0.85; p = 0.65$	$\chi^2 = 2.80; p = 0.25$
<i>RFC1</i> <i>GG</i> <i>GA</i> <i>AA</i>	40 (0.34) 52 (0.45) 24 (0.21) $\chi^2 = 0.86; p = 0.65$	21 (0.34) 27 (0.44) 14 (0.23) $\chi^2 = 0.86; p = 0.65$	$\chi^2 = 0.087; p = 0.96$
<i>DHFR</i> <i>CC</i> <i>CA</i> <i>AA</i>	80 (0.69) 28 (0.24) 8 (0.069) $\chi^2 = 5.35; p = 0.069$	35 (0.56) 22 (0.35) 5 (0.08) $\chi^2 = 0.33; p = 0.85$	$\chi^2 = 2.91; p = 0.23$
<i>MTHFD1</i> <i>CC (GG)</i> <i>CT (GA)</i> <i>TT (AA)</i>	44 (0.38) 43 (0.37) 29 (0.25) $\chi^2 = 7.02; p = 0.030$	13 (0.21) 22 (0.35) 27 (0.44) $\chi^2 = 3.94; p = 0.14$	$\chi^2 = 8.08; p = 0.018$
<i>MTHFR1</i> <i>CC</i> <i>CT</i> <i>TT</i>	68 (0.58) 41 (0.35) 8 (0.068) $\chi^2 = 0.28; p = 0.87$	32 (0.52) 25 (0.40) 5 (0.081) $\chi^2 = 0.0014; p = 0.99$	$\chi^2 = 0.70; p = 0.71$
<i>MTHFR2</i> <i>AA</i> <i>AC</i> <i>CC</i>	54 (0.47) 39 (0.34) 23 (0.20) $\chi^2 = 8.83; p = 0.012$	24 (0.39) 27 (0.44) 11 (0.18) $\chi^2 = 0.49; p = 0.78$	$\chi^2 = 1.73; p = 0.42$
<i>MTR</i> <i>AA</i> <i>AG</i> <i>GG</i>	44 (0.38) 30 (0.26) 42 (0.36) $\chi^2 = 27.0; p = 0.000$	24 (0.39) 21 (0.34) 17 (0.27) $\chi^2 = 6.11; p = 0.047$	$\chi^2 = 1.85; p = 0.40$

Таблица 2. Окончание

Ген, генотипы	Пациенты, N (частота); соответствие распределения закону Харди–Вайнберга	Здоровые, N (частота); соответствие распределения закону Харди–Вайнберга	Различия частот между пациентами и здоровыми
<i>MTRR</i>			
<i>AA</i>	26 (0.23)	10 (0.16)	$\chi^2 = 4.58; p = 0.10$
<i>AG</i>	53 (0.46)	39 (0.63)	
<i>GG</i>	36 (0.31) $\chi^2 = 0.58; p = 0.75$	13 (0.21) $\chi^2 = 4.22; p = 0.12$	
<i>CBS</i>			
<i>TT</i>	65 (0.57)	38 (0.63)	$\chi^2 = 1.33; p = 0.52$
<i>TC</i>	15 (0.13)	9 (0.15)	
<i>CC</i>	34 (0.30) $\chi^2 = 58.41; p = 0.000$	13 (0.22) $\chi^2 = 24.34; p = 0.000$	
<i>NBPF</i>			
<i>TT</i>	89 (0.77)	44 (0.71)	$\chi^2 = 0.87; p = 0.65$
<i>TC</i>	9 (0.078)	5 (0.08)	
<i>CC</i>	18 (0.16) $\chi^2 = 65.58; p = 0.000$	13 (0.21) $\chi^2 = 38.20; p = 0.000$	
<i>COMT</i>			
<i>GG</i>	75 (0.65)	46 (0.74)	$\chi^2 = 1.69; p = 0.43$
<i>GA</i>	5 (0.043)	2 (0.032)	
<i>AA</i>	36 (0.31) $\chi^2 = 94.55; p = 0.000$	14 (0.23) $\chi^2 = 51.57; p = 0.000$	

Примечание. $\chi^2 - \chi^2$.Таблица 3. Классификация модели 1 (*MTHFD1*)

Наблюдаемые		Предсказанные		
		группа		процент корректных
		пациенты	здоровые	
Группа	Пациенты	116	0	100.0
	Здоровые	62	0	0.0
Общий процент				65.2

Таблица 4. Переменные в уравнении модели 1 (*MTHFD1*)

Переменная	Значение	Стандартная ошибка	Уровень значимости
b	1.148	0.414	0.006
a	–1.219	0.316	0.00012

Модель 1 “MTHFD1”

Из табл. 3 следует, что общий процент верно отнесенных к группам “пациент” и “здоровый” с помощью переменной “MTHFD1” составляет 65.2%. Однако обращает на себя внимание факт, что присутствуют 62 ложноположительных прогноза – все здоровые добровольцы были отнесены к группе “пациент”. В то же время в модели отсутствуют лож-

ноотрицательные прогнозы – все лица с диагнозом шизофрения верно отнесены к группе “пациент”.

Несмотря на присутствие довольно большого количества ложноположительных случаев, все переменные в уравнении регрессии оказались статистически значимыми (табл. 4): $a = -1.219$ ($p = 0.00012$) и $b = 1.148$ ($p = 0.006$).

$$z = 1.148X_{\text{MTHFD1}} - 1.219 \text{ (модель 1 “MTHFD1”).}$$

Таблица 5. Переменные в уравнении модели 2 (*MTRR*)

Переменная	Значение	Стандартная ошибка	Уровень значимости
<i>b</i>	0.739	0.385	0.05
<i>a</i>	−1.046	0.322	0.002

Проверка модели 1 “*MTHFD1*”

1. Генотип *TT* (полиморфный гомозиготный) SNP *MTHFD1* (код “0”).

$$z = 1.148 \times 0 - 1.219 = -1.219,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(1.219)}} = 0.228.$$

Модель 1 показала, что участник изученной выборки с генотипом *TT* SNP *MTHFD1* окажется болен с малой вероятностью, равной 22.8%, соответственно здоровым – с вероятностью 77.2%.

2. Гетерозигота *CT* SNP *MTHFD1* (код “1”).

$$z = 1.148 \times 1 - 1.219 = -0.071,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(0.071)}} = 0.482.$$

Гетерозигота гена *MTHFD1* не дает точных указаний на отнесение испытуемого в группу “пациент” или “здоровый”, так как вероятности обоих исходов практически равны.

3. Генотип *CC* SNP *MTHFD1* (код “2”).

$$z = 1.148 \times 2 - 1.219 = 1.077,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(1.077)}} = 0.746.$$

Носительство генотипа *CC* SNP *MTHFD1* свидетельствует о вероятности заболевания шизофренией 74.6%.

Таким образом, исходя из результатов бинарной логистической регрессии (модель 1 “*MTHFD1*”), наличие у испытуемого генотипа *CC* SNP *MTHFD1* свидетельствует о большой вероятности предрасположенности к шизофрении и, напротив, наличие у испытуемого генотипа *TT* SNP *MTHFD1* – об отсутствии риска заболевания.

Модель 2 “*MTRR*”

Таблица классификации модели 2 “*MTRR*” не отличается от таблицы классификации предыдущей модели. Для модели 2 также обе переменные в уравнении регрессии оказались статистически значимыми (табл. 5): *a* = −1.046 (*p* = 0.002) и *b* = 0.739 (*p* = 0.05).

$$z = 0.739X_{MTRR} - 1.046 \text{ (модель 2 “MTRR”).}$$

Проверка модели 2 “*MTRR*”

1. Генотип *AA* SNP *MTRR* (код “0”).

$$z = 0.739 \times 0 - 1.046 = -1.046,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(1.046)}} = 0.26.$$

Модель 2 показала, что участник выборки с генотипом *AA* SNP *MTRR* окажется больным шизофренией с малой вероятностью, равной 26%, соответственно здоровым – с вероятностью 74%.

2. Гетерозигота *AG* SNP *MTRR* (код “1”).

$$z = 0.739 \times 1 - 1.046 = -0.307,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(0.307)}} = 0.424.$$

Гетерозигота SNP *MTRR* также не дает точных указаний на отнесение испытуемого в группу “пациент” или “здоровый”, так как вероятности обоих исходов практически равны.

3. Генотип *GG* SNP *MTRR* (код “2”).

$$z = 0.739 \times 2 - 1.046 = 0.432,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(0.432)}} = 0.606.$$

Носительство генотипа *GG* SNP *MTRR* свидетельствует, что участник выборки окажется болен с вероятностью 60.6%, величина которой не является основанием для отнесения испытуемого в ту или иную группу.

Таким образом, исходя из результатов бинарной логистической регрессии (модель 2 “*MTRR*”), наличие у испытуемого генотипа *AA* SNP *MTRR* свидетельствует о большой вероятности отсутствия предрасположенности к шизофрении. Однако наличие гетерозиготы и генотипа *GG* не позволяет сделать точный прогноз.

Модель 3 “*MTHFD1* + *MTRR*”

На основании ранее построенных моделей было принято решение использовать в модели 3 сразу две переменные: *MTHFD1* и *MTRR* (табл. 6).

Совместное использование переменных *MTHFD1* и *MTRR* в регрессионном анализе несколько повышает общий процент корректных предсказаний за счет увеличения вероятности отнесения пациентов в группу “здоровых”.

В данной части исследования все переменные также оказались статистически значимыми: *a* = −1.661 (*p* = 0.00014), *b1* = 1.204 (*p* = 0.004) и *b2* = 0.762 (*p* = 0.05) (табл. 7).

$$z = 1.204X_{MTHFD1} + 0.395X_{MTRR} - 1.661 \text{ (модель 3 “MTHFD1 + MTRR”).}$$

Таблица 6. Классификация *MTHFD1* + *MTRR*

Наблюдаемые		Предсказанные		
		группа		процент корректных
		пациенты	здоровые	
Группа	Пациенты	102	13	88.7
	Здоровые	47	15	24.2
Общий процент				66.1

Таблица 7. Переменные в уравнении модели 3 (“*MTHFD1* + *MTRR*”)

Переменная	Значение	Стандартная ошибка	Уровень значимости
<i>b1</i> (для <i>MTHFD1</i>)	1.204	0.422	0.004
<i>b2</i> (для <i>MTRR</i>)	0.762	0.395	0.05
<i>a</i>	−1.661	0.436	0.00014

Проверка модели 3 “MTHFD1 + MTRR”

1. Генотип *TT* SNP *MTHFD1* (код “0”) + генотип *AA* SNP *MTRR* (код “0”).

$$z = 1.204 \times 0 + 0.762 \times 0 - 1.661 = -1.661,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-1.661)}} = 0.16.$$

Модель 3 показала более высокую точность отнесения испытуемого с кодом “0” по обоим генам к группе “здоровых” — 84% (сочетанное носительство генотипов *MTHFD1 TT* и *MTRR AA*).

2. Гетерозигота *CT* SNP *MTHFD1* (код “1”) и гетерозигота *AG* SNP *MTRR* (код “1”).

$$z = 1.204 \times 1 + 0.762 \times 1 - 1.661 = -0.305,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-0.305)}} = 0.575.$$

Как и в предыдущих моделях, гетерозиготы *MTHFD1* и *MTRR* не дают точных указаний на отнесение испытуемого в группу “пациент” или “здоровый”, так как вероятности обоих исходов практически равны.

3. Генотип *CC* SNP *MTHFD1* (код “2”) + генотип *GG* SNP *MTRR* (код “2”).

$$z = 1.204 \times 2 + 0.762 \times 2 - 1.661 = 2.271,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(2.271)}} = 0.906.$$

Совместное определение генотипов с кодом “2” SNP *MTHFD1* и *MTRR* (сочетанное носительство генотипов *MTHFD1 CC* и *MTRR GG*) свидетельствует, что испытуемый окажется болен с вероятностью 90.6% и соответственно здоров — с вероятностью 9.4%.

Однако интерес представляет и оценка вклада в прогноз других комбинаций аллелей генов *MTHFD1* и *MTRR* в генотипе пациента.

4. Генотип *TT* SNP *MTHFD1* (код “0”) + гетерозигота *AG* *MTRR* (код “1”).

$$z = 1.204 \times 0 + 0.762 \times 1 - 1.661 = -0.899,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-0.899)}} = 0.289.$$

Комбинация генотипа *TT* SNP *MTHFD1* и гетерозиготы *AG* SNP *MTRR* свидетельствует о вероятности 71.1% отсутствия шизофрении у испытуемого.

5. Генотип *CC* SNP *MTHFD1* (код “2”) + гетерозигота *AG* *MTRR* (код “1”).

$$z = 1.204 \times 2 + 0.762 \times 1 - 1.661 = 1.509,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(1.509)}} = 0.819.$$

Комбинация генотипа *CC* SNP *MTHFD1* и гетерозиготы *MTRR* свидетельствует о вероятности шизофрении у испытуемого 81.9%.

6. Генотип *TT* SNP *MTHFD1* (код “0”) + генотип *GG* SNP *MTRR* (код “2”).

$$z = 1.204 \times 0 + 0.762 \times 2 - 1.661 = -0.137,$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-0.137)}} = 0.465.$$

Комбинация генотипа *TT* SNP *MTHFD1* и генотипа *GG* SNP *MTRR* также не дает точных указаний на отнесение испытуемого в группу “пациент” или “здоровый”.

Таким образом, исходя из результатов бинарной логистической регрессии (модель 3 “*MTHFD1* + *MTRR*”), совместное наличие у испытуемого генотипов *TT* *MTHFD1* и *AA* *MTRR*, а также генотипа *TT* *MTHFD1* и гетерозиготы *MTRR* свидетельствует о большой вероятности отсутствия предрасположенности к шизофрении. Напротив, совместное

определение генотипов *CC MTHFD1* и *GG MTRR*, а также генотипа *CC MTHFD1* и гетерозиготы *MTRR* может свидетельствовать о предрасположенности к шизофрении с высокой вероятностью.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным результатам, на основании оценки вклада 13 генетических локусов, влияющих на обмен птеринов, с помощью метода бинарной логистической регрессии было выделено два локуса, оказывающих статистически значимый вклад в риск развития шизофрении, — *MTHFD1* и *MTRR*. При этом наиболее изученный в плане риска развития шизофрении SNP фолатного цикла *MTHFR 677C>T*, исходя из проведенного анализа, не оказывает статистически значимого вклада в риск развития заболевания. На наш взгляд, это обусловлено относительно малым объемом выборки. Тем не менее два из изученных локусов в значительной степени ассоциированы с риском развития изучаемого заболевания в данной выборке, что позволило построить математическую модель для оценки риска шизофрении у носителей различных аллелей данных SNP.

В соответствии с распределением частот генотипов у пациентов и здоровых добровольцев и разработанной математической моделью SNP *MTHFD1* оказывает вклад в риск развития шизофрении, на первый взгляд, парадоксальным образом: у носителей полиморфных (низкофункциональных) аллелей риск шизофрении ниже, чем у носителей нормальных (“диких”) аллелей. Данный парадокс был проанализирован ранее в опубликованной нами статье [16], наиболее вероятным объяснением является то, что у носителей полиморфных аллелей данного SNP уровень 5-метилфолата повышается за счет снижения расхода фолатов в смежном цикле синтеза пуринов, который осуществляется при участии фермента *MTHFD1*. Таким образом снижение функции *MTHFD1* приводит к снижению расхода фолатов на синтез нуклеиновых оснований, повышается уровень 5-метилфолата, необходимого для процессов метилирования. Гипометилирование, в том числе превращение гомоцистеина в метионин, в настоящее время рассматривается как один из наиболее вероятных этиопатогенетических молекулярных механизмов шизофрении при нарушении обмена фолатов [18]. Напротив, повышенный синтез нуклеиновых кислот и снижение уровня 5-MTHF рассматривается как фактор, повышающий риск психоза [18].

Второй из 13 локусов, который включен в разработанную нами математическую модель в связи с наличием статистически значимого вклада в вероятный риск шизофрении, — SNP фермента *MTRR*.

Последний принимает непосредственное участие в метилировании гомоцистеина в метионин, и именно носительство полиморфного аллеля в гомозиготной форме, при котором снижена функция этого фермента, повышает риск шизофрении.

Учитывая, что оба генетических фактора, влияние которых на риск шизофрении оказалось значимым в разработанной модели, гипотетически влияют на один и тот же молекулярный механизм, а именно метилирование, в том числе гомоцистеина в метионин, актуальным представляется дальнейшее изучение роли этого биохимического процесса в этиопатогенезе шизофрении. Роль метилирования в этиопатогенезе шизофрении может быть связана с синтезом и утилизацией моноаминов при участии S-аденозилметионина, с гипометилированием ДНК и эпигенетическими нарушениями, с посттрансляционной модификацией белков и ферментов, что приводит к изменениям их функции. При этом важным с практической точки зрения моментом является возможность восполнения дефицита метильных групп при дефиците метилирования, в том числе генетически обусловленном, с помощью применения метилфолата и/или метилкобаламина.

Разработанная модель построена на относительно малой выборке пациентов и здоровых добровольцев из одного региона России, что ограничивает возможность ее широкого применения. На наш взгляд, модель, построенная только на двух полиморфных локусах, не может применяться для прогнозирования риска шизофрении у субъектов из общей популяции, и тем более не может применяться для диагностики шизофрении — полигенного расстройства со сложными механизмами патогенеза, единственно верным способом диагностики которого на данный момент времени является клинический психопатологический метод. Однако разработанная модель может иметь ценность при применении в клинике первого психотического эпизода, а также у пациентов с состояниями высокого риска по развитию шизофрении. Значимость данной модели заключается не только в оценке риска развития шизофрении при наличии аллелей/генотипов риска, а в возможности следующим этапом провести оценку биохимических показателей фолатного обмена (уровня фолатов, гомоцистеина плазмы) и провести персонализированную коррекцию биохимических нарушений фолатного обмена. Подходы с применением фолатов уже изучались ранее при шизофрении: продемонстрирован их эффект в коррекции негативных симптомов и когнитивных нарушений при шизофрении [19, 20]. Преимущества оценки генетических маркеров методом ПЦР заключаются, во-первых, в дешевизне метода по сравнению с био-

химическим скринингом, а во-вторых, в стабильности изучаемых показателей. Уровни фолатов/гомоцистеина плазмы/сыворотки крови являются нестабильными биохимическими показателями, которые в значительной степени колеблются под влиянием диеты, приема витаминов, антиоксидантов, сезона года, курения, употребления алкоголя, кофеина и множества других факторов образа жизни. Генетические маркеры являются надежными переменными, которые не меняются у носителя под влиянием внешних обстоятельств. Возможность снижения риска развития шизофрении у субъектов высокого риска путем персонифицированной коррекции биохимических нарушений на основе генетического скрининга до настоящего времени не изучалась, в связи с чем является актуальной задачей следующего этапа данного исследования.

Ограничения исследования

Данная математическая модель построена на анализе статистики распределения аллелей изученных локусов среди пациентов с шизофренией и здоровых добровольцев, что является весьма механистическим подходом, не учитывающим возможный компенсирующий/декомпенсирующий эффект ряда сочетаний полиморфизма ферментов фолатного обмена на функциональном уровне (комплементарности, эпистаза, полимерии), что требует дополнительного анализа [21]. Оценка взаимодействия генетических факторов фолатного обмена требует дополнительного анализа их суммарного влияния на биохимические показатели, что позволит выявить эффекты взаимодействия генов, что будет выполнено на дальнейших этапах исследования.

Ограничением данного исследования является также то, что изучены только 13 локусов, при том что к настоящему времени по результатам GWAS число SNP, влияющих на фолатный обмен, гораздо больше [11]. По отдельным из изученных локусов распределение аллелей и генотипов не соответствует закону Харди–Вайнберга, что может рассматриваться как признак нарушений генотипирования. Однако закон Харди–Вайнберга действует в идеальной бесконечно большой популяции, не подвергающейся отбору, что не применимо к изученной малой выборке [22]. Наконец, малый объем изученной выборки возможно не позволил выявить статистически значимые различия в частотах аллелей/генотипов между пациентами и здоровыми по другим локусам, кроме двух, включенных в модель. Тем не менее это не отменяет возможность использования разработанной модели, которую можно дополнять генотипирова-

нием локуса *MTHFR 677C>T*, по обширным данным литературы также влияющего на риск шизофрении за счет снижения метилирования, что может являться дополнительным аргументом в пользу применения метилфолата среди субъектов высокого риска по развитию шизофрении.

Перспективы дальнейших исследований

Дальнейшим этапом данного исследования могло бы стать тестирование разработанной модели в популяции высокого риска по развитию шизофрении, однако из-за этических соображений это не представляется возможным (субъектам высокого риска по данной модели назначение фолатов, особенно метилфолата, может дать протективный эффект в отношении заболевания шизофренией, поэтому оставлять их без коррекции нарушений фолатного обмена неэтично). Целесообразной представляется дальнейшая апробация разработанной модели в популяции лиц высокого риска по развитию шизофрении совместно с биохимическим скринингом и коррекцией биохимических нарушений для снижения риска развития у участников исследования манифестной формы шизофрении.

В рамках проведенного исследования разработанная математическая модель прогнозирования риска развития шизофрении на основе оценки носительства аллелей двух генетических локусов, влияющих на фолатный обмен. Применение данной модели целесообразно в рутинной психиатрической практике среди лиц высокого риска по развитию шизофрении. Для подтверждения возможности снижения риска развития шизофрении с помощью биохимической коррекции нарушений обмена фолатов у носителей генотипов высокого риска по изученным локусам требуются дальнейшие исследования.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00301_А.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang D., Zhai J.X., Liu D.W. Serum folate levels in schizophrenia: a meta-analysis // *Psych. Res.* 2016. V. 235. P. 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.11.045>
2. Ayesa-Arriola R., Pérez-Iglesias R., Rodríguez-Sánchez J.M. et al. Homocysteine and cognition in first-episode psychosis patients // *Eur. Arch. Psych. Clin. Neurosci.* 2012. V. 262. № 7. P. 557–564. <https://doi.org/10.1007/s00406-012-0302-2>
3. Numata S., Kinoshita M., Tajima A. et al. Evaluation of an association between plasma total homocysteine and schizophrenia by a Mendelian randomization analysis // *BMC Med. Genet.* 2015. V. 16. № 1. P. 54. <https://doi.org/10.1186/s12881-015-0197-7>
4. 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 // *Schizophrenia Bull.* 2014. V. 40. № 5. P. 1154–1163. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbt154>
5. Zhang Y., Hodgson N.W., Trivedi M.S. et al. Decreased brain levels of vitamin B12 in aging, autism and schizophrenia // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 1. P. E0146797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146797>
6. Klaus F., Guetter K., Schlegel R. et al. Peripheral biotin and neopterin in schizophrenia and depression // *Psych. Res.* 2021. V. 297. P. 113745. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2021.113745>
7. Yadav U., Kumar P., Gupta S., Rai V. Role of MTHFR C677T gene polymorphism in the susceptibility of schizophrenia: An updated meta-analysis // *As. J. Psych.* 2016. V. 20. P. 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.02.002>
8. Kempisty B., Sikora J., Lianeri M. et al. MTHFD 1958G>A and MTR 2756A>G polymorphisms are associated with bipolar disorder and schizophrenia // *Psych. Genet.* 2007. V. 17. № 3. P. 177–181. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e328029826f>
9. 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 // *As. J. Psych.* 2012. V. 5. № 2. P. 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2012.03.002>
10. Clelland J.D., Read L.L., Smeed J., Clelland C.L. Regulation of cortical and peripheral GCH1 expression and biotin levels in schizophrenia-spectrum disorders // *Psych. Res.* 2018. V. 262. P. 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.02.020>
11. Жилыева Т.В., Сергеева А.В., Благодравова А.С. и др. Нарушения одноуглеродного метаболизма при шизофрении: генетические и терапевтические аспекты // *Нейрохимия.* 2019. Т. 36. № 2. С. 91–100. <https://doi.org/10.1134/S1027813319020158>
12. Yang B., Liu Y., Li Y. et al. Geographical distribution of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in China: Findings from 15357 adults of Han nationality // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 3. P. E57917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057917>
13. Binia A., Contreras A.V., Canizales-Quinteros S. et al. Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism // *Genes & Nutr.* 2014. V. 9. № 5. P. 421. <https://doi.org/10.1007/s12263-014-0421-7>
14. Yao X., Glessner J.T., Li J. et al. Integrative analysis of genome-wide association studies identifies novel loci associated with neuropsychiatric disorders // *Transl. Psych.* 2021. V. 11. № 1. P. 69. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01195-5>
15. Moruzzi S., Guarini P., Udali S. et al. One-carbon genetic variants and the role of MTHFD1 1958G>A in liver and colon cancer risk according to global DNA methylation // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 10. P. e0185792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185792>
16. Zhilyaeva T.V., Chekanina O.M., Blagoravova A.S. et al. Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-1 (MTHFD1) 1958G>A genetic polymorphism (rs2236225) is associated with lower schizophrenia risk: Preliminary study // *Gene Rep.* 2022. V. 27. P. 101625. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101625>
17. Roffman J.L., Brohawn D.G., Nitenson A.Z. et al. Genetic variation throughout the folate metabolic pathway influences negative symptom severity in schizophrenia // *Schiz. Bull.* 2011. V. 39. № 2. P. 330–338. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbr150>
18. Wan L., Li Y., Zhang Z. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase and psychiatric diseases // *Transl. Psych.* 2018. V. 8. № 1. P. 242. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0276-6>
19. Roffman J.L., Lamberti J.S., Achtyes E. et al. Randomized multicenter investigation of folate plus vitamin B12 supplementation in schizophrenia // *Jama Psych.* 2013. V. 70. № 5. P. 481. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.900>
20. Жилыева Т.В., Благодравова А.С., Мазо Г.Э. Влияние разных форм фолатов на когнитивные функции у больных хронической шизофренией // *Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020. Т. 120. № 9. С. 87–92. <https://doi.org/10.17116/jnevro202012009187>
21. Htun N.C., Miyaki K., Zhao C. et al. Epistasis effects of COMT and MTHFR on inter-individual differences in mental health: Under the inverted U-shaped prefrontal dopamine model // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014. V. 451. № 4. P. 574–579. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.08.023>
22. Галинская Т.В., Щенетов Д.М., Лысенков С.Н. Предубеждения о микросателлитных исследованиях и как им противостоять // *Генетика.* 2019. Т. 55. № 6. С. 617–632. <https://doi.org/10.1134/S0016675819060043>

Mathematical Model Development for Schizophrenia Risk Prediction Based on Assessment of Polymorphic Alleles Carriage in 13 Genetic Loci Affecting Pterin Metabolism

T. V. Zhilyaeva^{a, b, *}, A. P. Bavrina^a, E. D. Kasyanov^b, A. S. Blagonravova^a, and G. E. Mazo^b

^aPrivolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, 603005 Russia

^bBekhterev National Research Medical Center Psychiatry and Neurology, St. Petersburg, 192019 Russia

*e-mail: bizet@inbox.ru

Real-time PCR was used to analyze the carriage of alleles in 13 genetic loci that affect pterin metabolism in 116 patients with schizophrenia and 62 healthy volunteers. To analyze the accuracy of predicting the risk of schizophrenia, we used the binary logistic regression method with the assessment of the contribution of all studied loci. Results: A mathematical model was developed that makes it possible to predict the risk of schizophrenia manifestation in a carrier of the combination of genotypes *MTHFD1* 1958CC/*MTRR* 66GG with a probability of 90.6%, *MTHFD1* 1958CC/*MTRR*66AG with a probability of 81.9%. The use of this model is expedient in routine psychiatric practice among individuals at high risk of schizophrenia manifestation after replication in other samples and obtaining a larger volume of observations.

Keywords: single nucleotide polymorphism, schizophrenia, pterins, folates, methylation.