

УДК 577.21:616.895

ПОИСК ЭТНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИИ У БАШКИР ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА АССОЦИИ

© 2024 г. А. Э. Гареева^{1, 2, 3 *}

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, 450054 Россия

²Кемеровский государственный университет Минобрнауки России, Кемерово, 650000 Россия

³Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, 125993 Россия

*e-mail: annagareeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.07.2023 г.

После доработки 21.08.2023 г.

Принята к публикации 24.08.2023 г.

В настоящее время известно, что шизофренией является многофакторным заболеванием, в развитии которого играют роль как генетические, так и факторы окружающей среды. В последние годы, главным образом благодаря использованию полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), были выявлены многие молекулярно-генетические процессы, повышающие предрасположенность к шизофренией. Целью настоящего исследования явилось изучение генетических факторов риска развития шизофренией при проведении полногеномного анализа ассоциации (GWAS) у башкир из Республики Башкортостан. Исследованная выборка состояла из 139 больных параноидной шизофренией и 204 здоровых индивидов. Полногеномное генотипирование образцов ДНК было проведено на биочипе PsychChip, включавшим 610000 однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП).

Ключевые слова: генетика, шизофренией, полногеномный анализ ассоциаций, этническая принадлежность, этноспецифические маркеры, Республика Башкортостан, международный консорциум по психиатрической генетике PGC.

DOI: 10.31857/S0016675824020103 EDN: DQNDHI

Шизофренией – тяжелейшее психическое заболевание. Распространенность шизофренией в течение жизни в общей популяции составляет примерно 1%. Высокая заболеваемость и смертность делают шизофренией серьезной проблемой для здравоохранения [1]. Коэффициент наследуемости шизофренией составляет 81%, что указывает на важную роль генетической компоненты в патогенезе данного заболевания [1]. Полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) улучшили наше понимание о вкладе специфических генетических факторов в риск развития шизофренией. GWAS предоставили убедительные доказательства важной роли распространенных генетических вариантов в определении индивидуального фона уязвимости к шизофренией [2]. На сегодняшний день было проведено несколько крупномасштабных GWAS в различных популяциях мира, и были идентифицированы сотни полиморфных локусов риска для шизофренией [3–6]. Крупнейший GWAS на сегодняшний день идентифицировал 287 независимых полиморфных локусов риска развития шизофренией [6].

С целью выявления этноспецифических генетических факторов риска развития параноидной шизофренией нами проведен полногеномный анализ ассоциации у башкир из Республики Башкортостан (рис. 1). Объект исследования – 139 пациентов (70 мужчин, 69 женщин) башкирской этнической принадлежности с диагнозом параноидная шизофренией (ПШ) F20.0 согласно с международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10), находящихся на лечении в Республиканской клинической психиатрической больнице № 1 Министерства здравоохранения Республики Башкортостан. Средний возраст больных составил 24.9 ± 8.9 лет. Средний возраст начала заболевания составил 22.4 ± 7.3 лет. Информацию по этнической принадлежности до третьего поколения получали путем опроса.

Контрольная группа, состояла из 204 здоровых индивидов (108 мужчин, 96 женщин) той же возрастной группы, не состоявших на учете у психиатра и нарколога и отрицавшие у себя отя-

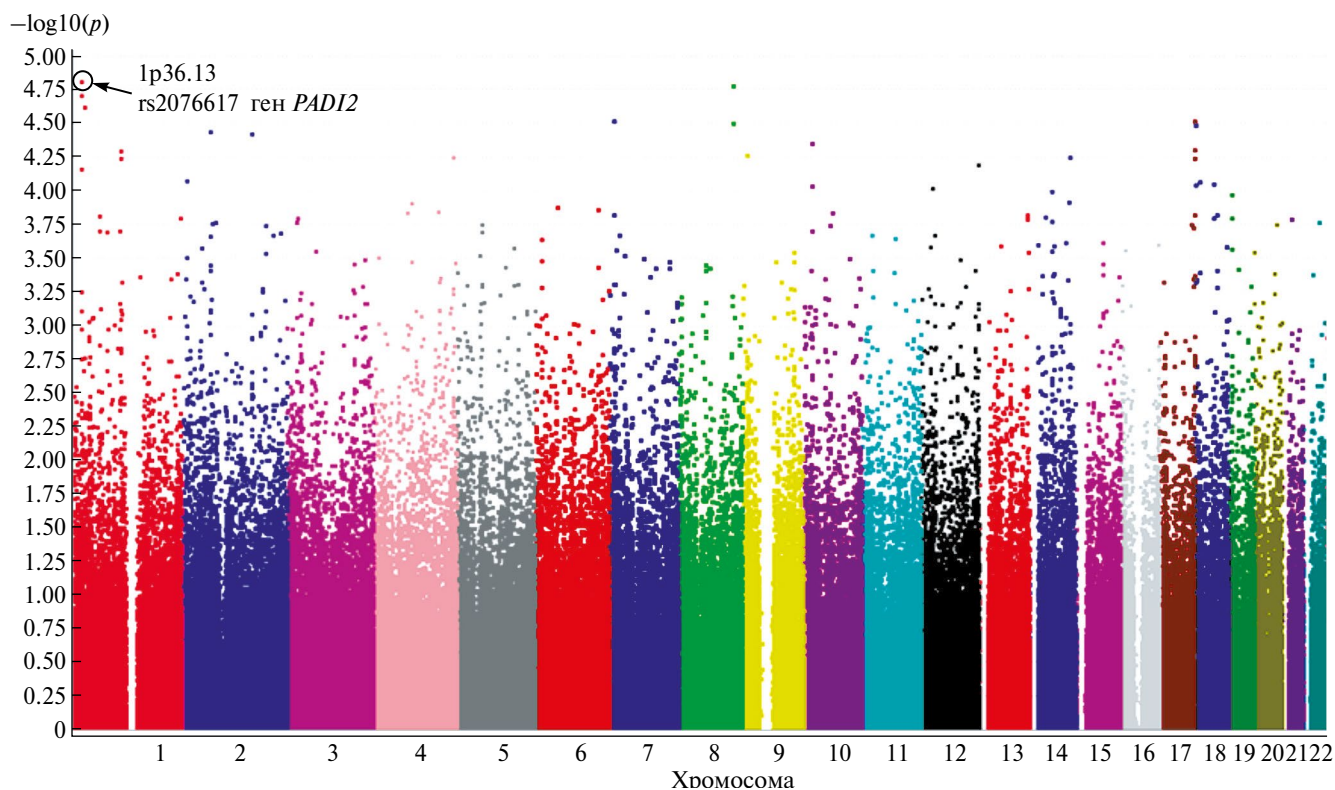


Рис. 1. Графическое изображение результатов полногеномного анализа ассоциации 39582 ОНП с параноидной шизофренией у башкир (Manhattanplot). На оси X указана хромосомная локализация ОНП, на оси Y – значения отрицательного десятичного логарифма уровня значимости p -value.

гощенную наследственность по психическим заболеваниям. Средний возраст здоровых доноров составил 32.4 ± 12.4 года.

Полногеномное генотипирование образцов ДНК было проведено на биочипе IlluminaHuman 610-QuadPsychChip, включавшее 610000 однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП). Полногеномный анализ ассоциации ОНП выполнен с помощью пакета программ PLINK 2.0 [7]. Подробное описание полногеномного ассоциативного анализа было опубликовано ранее [8].

Для снижения ошибки первого рода была применена поправка FDR-BH (FalseDiscoveryRateBenjamini-Hochberg) на число множественных сравнений [9].

9WAS, выполненный у индивидов башкирской этнической принадлежности, выявил наиболее выраженные различия между больными ПШ и контрольной группой по полиморфным локусам, локализованным в области 1p36.13, которая по результатам ряда проведенных полногеномных исследований сцеплена с риском развития шизофрении (рис. 1, табл. 1) [10, 11]. В ряде ранее проведенных исследований была установлена ас-

социация хромосомной области 1p36.13 с развитием шизофрении [10, 11]. Так, анализ сцепления с двенадцатью эндофенотипами в ходе крупномасштабного GWAS выявил ассоциацию хромосомной области 1p36.13 (*PAX7*, *UBR4*, *ALDH4A1*, *NBL1*, *HTR6*, *EPHA8*, *EPHB2*) с тестом распознавания эмоций, достигшую полногеномного уровня значимости с LOD-баллом равным 3.5 (1p36) у 1004 больных шизофренией [12, 13].

Наиболее высокий уровень ассоциации ПШ обнаружен с полиморфным вариантом rs2076617, расположенным в гене *PADI2* ($p = 1.53E-05$) (табл. 1). Ген *PADI2* кодирует фермент семейства пептидил-аргинин деминазы второго типа и состоит из 16 экзонов, охватывая около 53 тпн геномной ДНК, длина его мРНК составляет 4363 пн [14]. Расщепление аргинина до цитруллина – это процесс, катализируемый ферментом пептидил-аргинин деминазой (*PAD*), при котором аминокислота аргинин преобразуется в цитруллин. В процессе модификации положительно заряженная NH_2 -группа отщепляется с присоединением кислорода. Циклические цитруллинированные белки постоянно обнаруживаются в синовиальной ткани у пациентов с ревматоидным артритом. Ген *PADI2* ши-

Таблица 1. Однонуклеотидные полиморфные варианты, локализованные в области 1р36.13 и ассоциированные с параноидной шизофренией у башкир

Ген	№ rs	ОНП	Аллель 1	Частота аллеля 1 больные, %	Частота аллеля 1 контроль, %	<i>p</i>	OR	<i>p</i> _{fidr}
PADI2	rs2076617	g.17409017G>A	A	0.2662	0.4338	1.53E-05	0.472	0.768
PADI2	rs2016693	g.17397704A>C	A	0.2806	0.4485	1.95E-05	0.484	0.768
PADI2	rs2057096	g.17405809G>A	G	0.3309	0.4902	6.86E-05	0.522	0.806
PADI2	rs2057094	g.17405949C>T	C	0.3309	0.4902	6.86E-05	0.522	0.806
PADI1	rs3003406	g.17557133A>C	C	0.4209	0.2966	5.59E-04	1.833	0.814
PADI2	rs2076598	g.17395521G>A	G	0.3345	0.4681	7.73E-04	0.582	0.814
PADI1	rs11203339	g.17560972C>T	T	0.3669	0.25	1.06E-03	1.774	0.817
PADI1	rs4268393	g.17559196T>C	C	0.2842	0.1814	1.74E-03	1.809	0.824
PADI2	rs2076614	g.17413459G>A	A	0.2482	0.3529	3.69E-03	0.597	0.824
SDHB	rs4920653	g.17366871T>C	C	0.2806	0.3922	3.74E-03	0.618	0.824
PADI1	rs114209578	g.17541929C>A	A	0.2518	0.07108	0.011	0.336	0.849

роко экспрессируется в ЦНС, включая нейроны, глиальные клетки, астроциты, микроглию и олигодендроциты. Дерегулированная экспрессия *PADI2* вызывает aberrантное цитруллинирование глиального фибриллярного кислого белка (**GFAP**) и в конечном итоге приводит к возникновению неврологических заболеваний [14].

В последние годы было обнаружено, что аномальная активация белков семейства PAD является причиной накопления большого количества цитруллинированных белков у больных с различными нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз и болезнь Гентингтона, по предположению, чрезмерное цитруллинирование белков приводит к возникновению и развитию этих [15] и других нейропсихиатрических заболеваний с нейродегенерацией [16]. Цитруллинирование, дезаминирование остатков пептидиларгинина в пептидилцитруллин, вовлечено в этиологию ряда заболеваний. При рассеянном склерозе цитруллинирование является ведущим звеном патогенеза из-за гиперцитруллинирования и дестабилизации миелина. В результате чего, в качестве стратегии терапии рассеянного склероза, было предложено ингибирование цитруллинирования [17]. А.М. Falcao с соавт., напротив, показали, что цитруллинирование пептидил-аргинин дезиминазой 2 (**PADI2**) способствует нормальной дифференцировке олигодендроцитов, миелинизации и двигательной активности. Этой научной группой идентифицировано несколько мишеней для *PADI2*, включая миелин и связанные с хроматином белки, вовлекающие фермент в участие в эпигеномной регуляции. Они также установили,

что ингибирование *PADI2* и его нокаут влияют на доступность хроматина и предотвращают активацию генов дифференцировки олигодендроцитов. Более того, у мышей с недостаточностью *PADI2* наблюдалась двигательная дисфункция и уменьшением количества миелинизированных аксонов мозолистого тела. Исследование А.М. Falcao с соавт. свидетельствует о том, что цитруллинирование способствует правильному образованию олигодендроцитов и миелинизации [17]. На основании этих данных можно предположить, что ген *PADI2* возможно является геном-кандидатом шизофрении, поскольку известно, что дисфункция олигодендроцитов и миелина приводит к изменениям в формировании и функционировании синапсов, что может приводить к когнитивной дисфункции – основному симптому шизофрении [6].

По данным проекта “1000 геномов”, частота встречаемости аллеля *rs2076617*А* в популяциях мира варьирует: 26.3% – у европейцев (CEU), 39.5% – у африканцев (AFR), 57.3% – у китайцев (CHB) генотипов и аллелей по данному полиморфному локусу *rs2016693* оказались статистически не значимыми (табл. 2).

При анализе распределения частот генотипов и аллелей вариантов *rs2057096* и *rs2057094* выявлены идентичные значения частот по этим полиморфным локусам, в связи с чем далее будут подробно изложены результаты анализа ассоциации только по ОНП *rs2057096* (табл. 2). Вариант *rs2057096* в исследуемой нами выборке больных и в контроле у башкир показал высокий уровень ассоциации с ПШ (табл. 1).

Таблица 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов, локализованных в хромосомной области 1р36.13 в выборках больных параноидной шизофренией и в контрольных группах у башкир

Генотип/ Аллель	Больные		Контроль		<i>p</i>	<i>p</i> _{fidr}	OR (CI95%)
	<i>n</i>	<i>p</i> ± spCI (%)	<i>n</i>	<i>p</i> ± sp CI (%)			
rs2076617							
A/A	11	7.91 ± 2.29 4.02–13.72	37	18.14 ± 2.7 13.1–24.12	7.4E-03	0.841	0,39 (0,19–0,79)
A/G	52	37.41 ± 4.1 29.36–46.01	103	50.49 ± 3.5 43.42–57.54	0.017	0.862	0,59 (0,38–0,92)
G/G	76	54.68 ± 4.22 46.02–63.13	64	31.37 ± 3.25 25.07–38.22	1.6E-05	0.752	2,64 (1,69–4,12)
A	74	26.62 ± 2.65 21.52 – 32.23	177	43.38 ± 2.45 38.51–48.35	1.53E-05	0.864	0,47 (0,34–0,65)
G	204	73.38 ± 2.65 67.77–78.48	231	56.62 ± 2.45 51.65–61.49	1.53E-05	0.864	2,11 (1,52–2,94)
rs2016693							
A/A	11	7.91 ± 2.29 4.02–13.72	42	20.59 ± 2.83 15.26–26.79	1.4E-05	0.988	0,33 (0,16–0,67)
A/C	56	40.29 ± 4.16 32.06–48.94	99	48.53 ± 3.5 41.49–55.61	0.132	0.931	
C/C	72	51.8 ± 4.24 43.17–60.35	63	30.88 ± 3.23 24.62–37.71	9.9E-05	0.822	2.41 (1.54–3.76)
A	78	28.06 ± 2.69 22.86–33.73	183	44.85 ± 2.46 39.96–49.82	1.95E-05	0.689	0.48 (0.35–0.67)
C	200	71.94 ± 2.69 66.27–77.14	225	55.15 ± 2.46 50.18–60.04	1.95E-05	0.689	2.09 (1.51–2.9)
rs2057096							
G/G	16	11.51 ± 2.71 6.72–18.02	50	24.51 ± 3.01 18.77–31	2.7E-03	0.838	0.4 (0.22–0.74)
G/A	60	43.17 ± 4.2 34.8–51.83	100	49.02 ± 3.5 41.97–56.1	0.286	0.969	
A/A	63	45.32 ± 4.22 36.87–53.98	54	26.47 ± 3.09 20.55–33.08	3.0E-04	0.803	2.3 (1.46–3.63)
G	92	33.09 ± 2.82 27.59–38.96	200	49.02 ± 2.47 44.07–53.98	6.86E-05	0.744	0,51 (0,37–0,7)
A	186	66.91 ± 2.82 61.04–72.41	208	50.98 ± 2.47 46.02–55.93	6.86E-05	0.744	1.94 (1.41–2.66)
rs2057094							
C/C	16	11.51 ± 2.71 6.72–18.02	50	24.51 ± 3.01 18.77–31	2.7E-03	0.837	0.4 (0,22–0,74)
C/T	60	43.17 ± 4.2 34.8–51.83	100	49.02 ± 3.5 41.97–56.1	0.286	0.969	
T/T	63	45.32 ± 4.22 36.87–53.98	54	26.47 ± 3.09 20.55–33.08	3.0E-04	0.822	2.3 (1.46–3.63)
C	92	33.09 ± 2.82 27.59–38.96	200	49.02 ± 2.47 44.07–53.98	6.86E-05	0.717	0.51 (0.37–0.7)
T	186	66.91 ± 2.82 61.04–72.41	208	50.98 ± 2.47 46.02–55.93	6.86E-05	0.717	1.94 (1.41–2.66)

У больных параноидной шизофренией частота гомозиготного генотипа *rs2057096*G/G* (11.51%) была значительно ниже таковой в контрольной группе (24.51%) (*p* = 2.7E-03, OR = 0.41, CI95% 0.22–0.74). Генотип *rs2057096*A/A* чаще встречался у больных ПШ – 45.32%, чем в контроле (26.47%) (*p* = 3.0E-04, OR = 2.3, CI95%

1.46–3.63). Частота аллеля *rs2057096*G* в группе здоровых была значительно выше (49.02%), чем у больных (33.09%) (*p* = 6.86E-05, OR = 0.51, CI95% 0.37–0.7). Частота аллеля *rs2057096*A* у больных ПШ (66.91%) превышала его частоту в контрольной группе, где составила 50.98% (OR = 1.94, CI95% 1.41–2.66). Однако при введении

поправки FDR-BH отличия в распределении частот генотипов и аллелей по полиморфному локусу rs2057096 оказались статистически не значимыми (табл. 2).

Таким образом, проведенный полногеномный анализ ассоциации показал отсутствие ассоциации параноидной шизофрении у индивидов башкирской этнической принадлежности с ОНП rs2076617 гена *PADI2*, расположенного в области 1p36.13, несмотря на имеющиеся литературные данные, демонстрирующие ассоциацию хромосомной области 1p36.13 [10–13] и гена *PADI2* [16] с развитием шизофрении в различных популяциях. Данные различия могут быть связаны как с недостаточной численностью выборки для подобного рода исследований, так и свидетельствовать о межпопуляционных различиях в формировании наследственной предрасположенности к параноидной шизофрении. 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.

Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

Автор выражает огромную благодарность сотрудникам Департамента психиатрической медицины и клинических нейронаук Кардиффского университета г. Кардифф (Великобритания) М. О'Donovan, V. Escott-Price, М. Owen, G. Leonenko за советы по генерации и анализу данных и участию в проекте.

Также выражаю благодарность директору ИБГ УФИЦ РАН проф. Хуснутдиновой Э.К. за научное консультирование.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang J., Liu J., Li S. et al. Genetic regulatory and biological implications of the 10q24.32 schizophrenia risk locus // *Brain*. 2023. V. 146. № 4. P. 1403–1419. <https://doi.org/10.1093/brain/awac352>
2. Dennison C.A., Legge S.E., Pardiñas A.F., Walters J. Genome-wide association studies in schizophrenia: Recent advances, challenges and future perspective // *Schizophr. Res.* 2020. V. 217. P. 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.10.048>
3. O'Donovan M.C., Craddock N., Norton N. et al. Molecular genetics of schizophrenia collaboration. identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up // *Nat. Genet.* 2008. V. 40. № 9. P. 1053–1055. <https://doi.org/10.1038/ng.201. PMID: 18677311>
4. Ripke S., Neale B.M., Corvin A. et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci // *Nature*. 2014. V. 511. № 7510. P. 421–427. <https://doi.org/10.1038/nature13595>
5. Lam M., Chen C.Y., Li Z. et al. Comparative genetic architectures of schizophrenia in East Asian and European populations // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 12. P. 1670–1678. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0512-x>
6. Trubetskoy V., Pardiñas A.F., Qi T. et al. Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia // *Nature*. 2022. V. 604. № 7906. P. 502–508. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04434-5>
7. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: A toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. V. 81. № 3. P. 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
8. Гареева А.Э. Полногеномное ассоциативное исследование риска развития шизофрении в Республике Башкортостан // *Генетика*. 2023. Т. 59. № 8. С. 954–963. <https://doi.org/10.31857/S0016675823080076>
9. Benjamini Y., Drai D., Elmer G., Kafkafi N., Golani I. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research // *Behav. Brain Res.* 2001. V. 125. № 1-2. P. 279–284. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00297-2](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00297-2)
10. Abecasis G.R., Burt R.A., Hall D. et al. Genomewide scan in families with schizophrenia from the founder population of Afrikaners reveals evidence for linkage and uniparental disomy on chromosome 1 // *Am. J. Hum. Genet.* 2004. V. 74. № 3. P. 403–417. <https://doi.org/10.1086/381713>
11. Escamilla M.A., Ontiveros A., Nicolini H. et al. A genome-wide scan for schizophrenia and psychosis susceptibility loci in families of Mexican and Central American ancestry // *Am. J. Med. Genet.* 2007. V. 144B. № 2. P. 193–199. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30411>
12. Greenwood T.A., Swerdlow N.R., Gur R.E. et al. Genome-wide linkage analyses of 12 endophenotypes for schizophrenia from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia // *Am. J. Psychiatry*. 2013. V. 170. № 5. P. 521–532. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12020186>
13. Greenwood T.A., Lazzeroni L.C., Calkins M.E. et al. Genetic assessment of additional endophenotypes from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia Family Study // *Schizophr. Res.* 2016. V. 170. № 1. P. 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2015.11.008>
14. Wang L., Chen H., Tang J. et al. Peptidylarginine deiminase and Alzheimer's disease // *J. Alzheimers Dis.* 2022. V. 85. № 2. P. 473–484. <https://doi.org/10.3233/JAD-215302>
15. Bradford C.M., Ramos I., Cross A.K. et al. Localisation of citrullinated proteins in normal appearing white matter and lesions in the central nervous system in multiple sclerosis // *J. Neuroimmunol.* 2014. V. 273. № 1-2. P. 85–95. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.05.007>
16. Watanabe Y., Nunokawa A., Kaneko N. et al. A two-stage

case-control association study of PADI2 with schizophrenia // *J. Hum. Genet.* 2009. V. 54. № 7. P. 430–432. <https://doi.org/10.1038/jhg.2009.52>
17. Falcão A.M., Meijer M., Scaglione A. et al. PAD2-Medi-

ated citrullination contributes to efficient oligodendrocyte differentiation and myelination // *Cell Rep.* 2019. V. 27. № 4. P. 1090–1102. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.108>

SEARCH FOR ETHNOSPECIFIC RISK MARKERS FOR THE DEVELOPMENT OF PARANOID SCHIZOPHRENIA IN BASHKIRS BASED ON THE RESULTS OF A GENOME-WIDE ASSOCIATION ANALYSIS

E. Gareeva^{1, 2, *}

¹*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*

²*Kemerovo State University, Kemerovo, 650000 Russia*

³*Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia, Moscow, 125993 Russia*

**e-mail: annagareeva@yandex.ru*

Schizophrenia is now known to be a multifactorial disease in which both genetic and environmental factors play a role. In recent years, mainly through the use of genome-wide association studies (GWAS), many molecular genetic processes have been identified that increase susceptibility to schizophrenia. The aim of this study was to study genetic risk factors for the development of schizophrenia in a genome-wide association analysis (GWAS) in Bashkirs from the Republic of Bashkortostan. The studied sample consisted of 139 patients with paranoid schizophrenia and 204 healthy individuals. Whole genome genotyping of DNA samples was carried out on the PsychChip biochip, which included 610,000 single nucleotide polymorphic variants (SNPs).

Keywords: genetics, schizophrenia, genome-wide association analysis, ethnicity, ethnospecific markers, Republic of Bashkortostan, international consortium for psychiatric genetics PGC.