

# Роль процессов метилирования в этиологии и патогенезе шизофрении

А.В. НАУМОВ, Ю.Е. РАЗВОДОВСКИЙ

## The role of methylation processes in etiology and pathogenesis of schizophrenia

A.V. NAUMOV, YU.E. RAZVODOVSKY

Гродненский государственный медицинский университет

Известно, что шизофрения является тяжелым, хронически протекающим заболеванием, приводящим к инвалидности примерно 1% населения [77, 122]. Несмотря на длительную историю ее изучения, этиология и патогенез шизофрении остаются недостаточно ясными.

Анализ работ последних лет [7, 22, 31, 131] позволяет предположить, что нарушения, приводящие к проявлению заболевания, формируются еще при оплодотворении либо в эмбриональный период при формировании эпигенома, и они могут быть связаны с изменениями обменных процессов, в частности процессов метилирования (в том числе с недостатком фолиевой кислоты и высоким уровнем гомоцистеина [52, 97, 105]). В связи с этим напомним, что эпигенетические изменения ДНК<sup>1</sup> — ключевой процесс клеточной дифференцировки и развития организма, включая механизм формирования памяти [13, 76]. Например, голодание (один из важнейших модуляторов эпигенеза) в период оплодотворения и первой половины беременности в 2,5 раза увеличивает риск развития шизофрении, аффективных психозов и некоторых аномалий ЦНС [88, 115]. Имеются также данные [49, 52], свидетельствующие об участии процессов метилирования в патогенезе шизофрении.

Еще в 1978 г. при использовании метил-<sup>14</sup>C-L-метионина было показано, что при шизофрении снижен метаболизм Мет (метил-гомоцистеина), что свидетельствовало о подавлении процессов трансметилирования [60, 77]. Об этом же говорит и присутствие в плазме крови, особенно у больных молодого возраста, большого количества токсического метаболита — гомоцистеина, оказывающего ингибирующее влияние на функциональную активность ключевых метилтрансфераз в ЦНС [2, 53, 86], и в первую очередь — на состоянии процессов метилирования ДНК (формирование эпигенетического кода) в процессе оплодотворения яйцеклетки, что может служить этиологической основой болезни [86]. Было также установлено, что при шизофрении значительно повышен уровень S-аденозилметионина в префронтальной коре головного мозга и эти изменения не зависели от возраста, пола и приема нейролептических препаратов [52].

До недавнего времени наиболее изучаемым разделом в патофизиологии заболевания были метилтрансферазы (МТ), принимающие участие в метаболизме нейромедиаторов — *катехол-О-МТ* (COMT), *гистамин N-МТ* (HNMT), *индолэтиламин N-МТ* (INMT). Например, было установлено, что уровень N-метилгистамина — основного метаболита гистамина в мозге значительно повышен в спинномозговой жидкости больных шизофренией [61]. Эксперименты на животных показали, что образование метилгистамина и активность HNMT и COMT (основной фермент катаболизма дофамина — DA, превращающих DA в 3-метокситирамин и далее в гомованилиновую кислоту) в мозге крыс уменьшается при снижении соотношения S-AM/S-AH (S-аденозингомоцистеин) [110]. Опыты на крысах дали основание рассматривать состояние одноуглеродного обмена как возможный патофизиологический механизм в развитии заболевания у человека. Однако в мозге мышей повышение уровня S-AM существенно

снижало интенсивность превращения гистамина в метилгистамин [109], что ставило под сомнение значимость этого механизма.

В последние годы увеличилось число исследований, указывающих на то, что нарушение процессов метилирования может быть патогенетическим механизмом не только шизофрении, но и других психических заболеваний. В них значительное место отводится гомоцистеину — основному метаболиту процессов трансметилирования [1, 31, 86, 97]. При этом некоторые исследователи [18] допускают, что он не только выступает как нейротоксическая аминокислота, но и, влияя на формирование плаценты, может создавать условия гипоксии для формирующегося мозга.

При шизофрении, депрессии и маниакально-депрессивном психозе исследовали полиморфизм *677C→T-метилен-тетрагидрофолат редуктазы* (MTHFR) — фермента, определяющего синтез N<sup>5</sup>-метил-тетрагидрофолата (N-метил-ТНФ), основного донора метильной группы при реметилировании гомоцистеина [102]. По одним данным [96, 104, 105], связь между полиморфизмом MTHFR и развитием шизофрении не существует, по другим [102] — вариант генотипа ТТ (чувствительный к недостатку потребления фолата) встречается приблизительно у 12% лиц в контрольной группе, у 21–36% больных шизофренией, у 28% больных с тяжелой формой депрессии и у 13% больных МДП, при этом у больных шизофренией, чувствительных к нейролептикам, чаще встречается именно ТТ вариант MTHFR. Снижение уровня потребления фолата приводит к росту концентрации гомоцистеина в сыворотке крови больных шизофренией в большей степени, чем у здоровых людей с адекватной недостаточностью фолата [116]. В эпидемиологических работах было показано, что повышенный уровень гомоцистеина и наличие MTHFR 677ТТ генотипа связаны не только с повышенным риском возникновения шизофрении, но и с выраженностью негативной симптоматики [86, 104]. Некоторые авторы [86] утверждают, что повышение уровня гомоцистеина на 5 мкмоль/л ассоциируется с ростом риска проявления шизофрении на 70%. Более того, недавно полученные данные [18] показали, что повышение уровня гомоци-

<sup>1</sup>Эпигенез — программа реализации генетической информации. И хотя в реализации этого процесса принимают участие метилирование, ацетилирование, убикитилирование, SUMO-илирование гистонов, его базовым механизмом служит специализированное метилирование определенных участков ДНК. Эпигеном определяет профиль экспрессии генов в клетках и является структурой, сформированной из хроматина и определенным образом метилированных участков ДНК, содержащих так называемые «цитидин-фосфат-гуанозин островки» (CpG), а также белков, связанных с метилированными участками ДНК, и специфически метилированных/ацетилированных гистонов [7, 31, 91, 121]. Формирование эпигенома метилированием ДНК начинается при оплодотворении и поддерживается в течение всей жизни за счет динамического равновесия процессов метилирования — деметилирования [120]. Обычно неметилированная ДНК соответствует активному хроматину, тогда как метилированная — неактивному [120]. Таким образом, эпигенетическая «партитура» определяет строго индивидуальную активность генов организма и во многом зависит от действия внешних факторов (вирусные инвазии, питание, стрессы, гипоксии и проч.). Процесс метилирования осуществляют ДНК метилтрансферазы (DNMTs), использующие в реакции активированный метионин или S-аденозилметионин (S-AM). Реакция служит источником токсичной аминокислоты — гомоцистеина (Hcy) [1].

стеина в III триместре беременности является выраженным фактором риска развития шизофрении у взрослых, а введение фолиевой кислоты [77], снижая у некоторых больных концентрацию гомоцистеина в крови, уменьшает частоту обострений заболевания.

Известно, что гомоцистеин является метаболическим предшественником глутатиона (GSH), уровень которого снижен у больных шизофренией в спинномозговой жидкости и тканях префронтальной коры мозга [33]. Предполагается, что это обусловлено, во-первых, необратимой потерей глутатиона в антиоксидантных реакциях или в виде конъюгатов с дофамином (GSH-DA) [50], а во-вторых, вероятно, не существует механизма обратной регуляции ( $[Hcy] \leftrightarrow [GSH]$ ), либо этому снижению способствует подавление энергетической функции митохондрий, связанное с увеличением внутриклеточного уровня кальция  $[Ca^{2+}]_i$  [51] (изменение активности NMDA-рецепторов гомоцистеином [10]), а наблюдаемая у больных гипергомоцистеинемия может быть результатом блокады реакций одного из основных путей метаболизма гомоцистеина — транссульфурирования и последующих реакций, в-третьих, это может свидетельствовать в пользу «вирусной» гипотезы шизофрении, так как показано, что некоторые вирусные инфекции способны подавлять экспрессию генов GSH-синтезирующих ферментов [67]. Например, вирус иммунодефицита человека (HIV) снижает уровень мРНК регуляторной субъединицы  $\gamma$ -глутамилцистеин синтетазы, что приводит к ингибированию продукции глутатиона [25].

Не исключено, что патогенетическим фактором при шизофрении может выступать также гомоцистеиновая кислота (HCA), образующаяся при окислении гомоцистеина и обладающая возбуждающим/нейротоксическим эффектами [18]. В ЦНС она локализуется исключительно в глиальных клетках префронтальной коры и гипоталамуса и ее высвобождение происходит из астроцитов при стимулировании их ионотропных и метаболитных (в большей степени) глутаматных рецепторов [14]. Именно поэтому некоторые авторы [21, 55, 63] считают, что ведущую роль в патогенезе шизофрении играет гипофункция NMDA-рецепторов, ведущая к снижению ГАМК-ергического подавления и избыточному выбросу глутамата и дофамина в отделах префронтальной коры. Клинические наблюдения [63] показали, что психомиметики (фенциклидин и кетамин), блокирующие нейротрансмиссию на уровне глутаматных (NMDA) рецепторов и провоцирующие вторичную дофаминергическую дисрегуляцию в префронтальной коре головного мозга и стриатума, способны индуцировать когнитивные и психические нарушения, напоминающие симптомы шизофрении. Для больных шизофренией характерны гипоактивность NMDA-рецепторов и низкая активность фермента глутамат карбоксипептидазы II (GCP II), расщепляющего антагонист рецептора — N-ацетиласпартилглутамат (NAAG), присутствующего в мозге человека в миллимолярных концентрациях, до N-ацетил-аспартата и глутамата [15, 28, 47, 93]. Следует подчеркнуть, что этот фермент принимает активное участие в абсорбции фолата в кишечнике [32].

Известно, что гиперактивация постсинаптических глутаматных NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторов гипокампа, провоцируя окислительный стресс, приводит к мобилизации кальция из депо клетки ( $>[Ca^{2+}]_i$ ), подавлению функции митохондрий и апоптозу нервных терминалей (аксонов и дендритов), синапсов и самих нейронов, что может лежать в основе развития депрессии и шизофрении [45]. Важной особенностью этого процесса является то, что Hcy выполняет двойственную функцию — как агониста участка связывания Glu в NMDA-рецепторах при патологически высоком уровне глицина (травма, инсульт, гипоксия), так и частичного антагониста Glu участка, в условиях физиологических концентраций Glu [78]. Показано также, что антагонисты каналов NMDA-рецепторов (фенциклидин, кетамин и дизопиллин (МК-801)) индуцируют развитие шизофреноподобных симптомов, а применяемые для лечения шизофрении лекарственные препараты приводят к их регрессии. Такой же эффект наблюдается при применении агонистов метаболитных глутаматных рецепторов группы II (mGluR2 и mGluR3) в том числе эндогенного пептидного нейротрансмиттера — N-ацетиласпартилглутамата

(NAAG) [93, 117, 128]. Интересно, что ингибирование карбоксипептидазы II подавляет болевые симптомы при моделировании инсульта, воспаления и нейропатии, а также некоторые патологические процессы при травматическом повреждении мозга. Кроме того, эндогенные глицин, D-серии и саркозин (N-метилглицин), присутствующие во внеклеточном пространстве, как и в случае с гомоцистеином, оказывают противоположное NAAG действие на NMDA-рецепторы [15, 73, 87]. На этом эффекте основаны попытки применения Glu в терапии шизофрении [72].

Недавно было показано [24], что один из основных ферментов метаболизма гомоцистеина — цистатионин  $\beta$ -синтаза (CBS, EC 4.2.1.22) катализирует реакцию конденсации L-цистеина и гомоцистеина с образованием цистатионина и  $H_2S$ . Km (CBS человека) для L-цистеина в 3 раза выше, чем для серина, а синтез сероводорода значительно повышается при повышении концентрации цистеина и гомоцистеина [24]. Этот процесс имеет место в тканях мозга животных и человека, в частности в гиппокампе и мозжечке, где особенно высока активность CBS [6, 12]. Если принять во внимание, что даже при физиологических концентрациях  $H_2S$  активирует L-тип  $Ca^{2+}$  каналов и высвобождает депонированный внутриклеточный кальций, доводя его уровень до нейротоксических величин, а также то, что в этом процессе участвуют NMDA-рецепторы астроцитов и клеток микроглии [42, 75], можно предполагать наличие этого механизма при гипергомоцистеинемии. К сожалению, роль  $H_2S$  в этиопатогенезе шизофрении не изучалась, хотя стоит отметить, что аллостерическим активатором CBS является S-аденозилметионин, уровень которого повышается при введении метионина [36].

Было установлено, что гомоцистеин активирует выработку цитокинов [124], в том числе провоспалительного цитокина — TNF- $\alpha$ , который потенцирует экспрессию фермента *индоламин 2,3-диоксигеназы* (IDO), скорость лимитирующего фермента L-триптофан→кинуренинового пути [130]. IDO широко представлен в тканях различных органов, включая мозг, легкие, сердце, почки и кишечник [41]. Индукция этого фермента приводит к снижению концентрации триптофана в плазме крови, а так как субстратами IDO выступают также 5-гидрокситриптофан (5-HTP) и серотонин (5-HT) [118], то соответственно к снижению уровня серотонина в мозге [56] и увеличению соотношения концентраций кинуренин/Trp, что характерно для депрессивных и тревожных состояний [16]. В пользу этого говорит то, что введение животным провоспалительных цитокинов характеризуется возникновением картины, напоминающей симптомы депрессии у человека [130]. Возможно, в этом процессе участвуют нейротоксичные метаболиты кинуренина — 3-гидрокси-кинуренин и хинолиновая кислота, поскольку их концентрация многократно возрастает при многих нейродегенеративных состояниях, в частности при патологическом старении [24], нейроинфекциях [57], ишемии [107], гипоксии новорожденных [68], эпилепсии [56], а также при шизофрении [94].

Есть точка зрения [19, 77], что предрасположенность к развитию шизофрении формируется еще в стадии оплодотворения и эмбрионального развития ЦНС, поэтому постоянно ведется поиск возможных генетических «поломок», приводящих к шизофрении [133]. Так, анализ активности генов в нейронах II слоя коры у больных шизофренией показал, что 2574 (14%) из 18 240 анализируемых генов активированы более чем в 2 раза, а 1565 (9%) — подавлены [54]. Было обнаружено [54] 3-кратное увеличение мРНК некоторых рецепторов серотонина, 2-кратное снижение мРНК  $\beta_2$ -адренергического рецептора, увеличение уровня мРНК субъединицы A $\alpha$  рецептора ГАМК, снижение уровня переносчика ГАМК [132], парвальбумина и NR $_{2a}$  субъединиц NMDA-рецептора [70]. Кроме того, у больных шизофренией отмечали [54] также сниженный уровень мРНК субъединиц Gial G-протеина и повышение субъединиц Gu2 G-протеина, при этом изменения касаются и белков синапсов ( $\gamma$ -адаптина, синаптотагмина-I, -IV, синтаксина, синаптофизина), участвующих в формировании хлорных каналов в мембране нейронов, а также белков плазматической мембраны синапсов — SNAP (synaptic vesicle-associated protein) 23 и 25. Кроме того, у больных шизо-

френией было выявлено [74] снижение уровня мРНК нейротрофического фактора мозга (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), влияющего на функции нейрона и поведение [85] и увеличение в гиппокампе уровня мРНК изоформы I нейрегулина (NRG1) (в литературе он также упоминается как ацетилхолиновый рецептор, индуцирующий активность, херегулин, или фактор *нейродифференцировки*). В связи с этим следует обратить внимание на данные о том, что длительное введение имипрамина при хронической стрессовой ситуации подавляет гиперметилирование локуса гена *BDNF* и восстанавливает уровень белка [95].

Однако изучение генетических изменений пока не дало однозначного ответа в отношении возможности существования определенных генетических мутаций, вызывающих шизофрению [27, 71]. Например, изучение кальциневрина/PP2B (protein phosphatase 2B), белка, относящегося к семейству серин/треонин фосфатаз, играющего в ЦНС важнейшую роль в регуляции функции нейронов, миелинизации и апоптозе, показало, что при шизофрении наблюдается изменение уровня его мРНК (и соответственно белка) в дорсолатеральных отделах префронтальной коры мозга и таламуса [51]. Однако это касалось не только кальциневрина (ген *PPP3CC*), но и близко расположенных с ним генов — *EGR*, кодирующих ранние транскрипционные факторы, отвечающие на рост (early growth response (EGR) transcription factor) [133]. Попытки найти единичные точечные мутации, ответственные за подавление экспрессии перечисленных генов не увенчались успехом, что заставляет предполагать участие эпигенетического механизма регуляции, тем более что ранее уже была показана регуляция транскрипции *EGR*-генов путем метилирования островков цитидин-гуанозин в их интроне [125, 134]. Именно многочисленность задействованных генов свидетельствует в пользу участия эпигенетических механизмов регуляции генома в развитии шизофрении, так как для эпигенетической регуляции как раз характерна активация генетических кластеров, отвечающих за активность целых наборов соседствующих генов, как это показано при импринтинге и канцерогенезе [81]. Кроме того, эпигенетический «след» просматривается и при эволюционных преобразованиях, нарушение которых, как показано в последней работе Р. Khaitovich и соавт. [69], также приводит к шизофрении. Существуют эволюционные различия в экспрессии определенных генов, принимающих участие в энергетическом обмене в ткани головного мозга у приматов (шимпанзе) и человека. С помощью магнитно-резонансной спектроскопии были установлены различия в концентрации 21 наиболее значимого метаболита, тогда как у больных шизофренией и здоровых людей различия касались концентрации лишь 9 из них, а по 8 количественные изменения при шизофрении имели тенденцию, противоположную направленную эволюционным изменениям у человека. По мнению указанных авторов, это свидетельствует о некотором энергетическом «недоразвитии» мозга у больных.

Представленные данные — весомый аргумент в пользу эпигенетической гипотезы патогенеза шизофрении. В пользу того, что в данном процессе центральную роль играет нарушение процесса метилирования ДНК говорит то, что активность ключевого фермента — ДНК метилтрансферазы I (DNMT1) и основного донора метильных групп — S-аденозилметионина в мозге больных шизофренией (исследования проводились на аутопсийном материале) значительно повышена [27, 52, 112]. В связи с этим привлекают внимание результаты эпидемиологических исследований [135], в которых была установлена связь между случаями развития шизофрении и дефекта нервной трубки, особенно, если учесть, что в этиологии врожденной аномалии лежит нарушение процессов метилирования [98]. Инициаторами нарушений механизмов эпигенетической регуляции могут служить такие факторы внешней среды, как недостаточность питания, осложнения беременности и родов (особенно гипоксия плода и вирусная инфекция), любые стрессы, в том числе психосоциальные [35, 66, 92].

Слабым местом многих современных теорий развития шизофрении является отсутствие понимания механизмов ее манифестации. Поиски генетической предрасположенности, эпидемиологические исследования и наблюдения за однойцевыми

близнецами позволили сформулировать гипотезу «двойного удара»: при наличии генетической предрасположенности, заболевание проявляется лишь в случае дополнительного негативного воздействия факторов внешней среды [17, 101].

В настоящее время накоплено достаточно данных о существовании некоторых характерных морфологических признаков задолго до проявления болезни, указывающих на наличие специфических системных изменений, — увеличение размеров желудочков мозга с общим уменьшением его объема, в частности гиппокампа, таламуса и лобных долей, латерализация гиппокампа и др. [11]. Гистологическое изучение *post mortem* участков мозга у больных не только подтвердило наличие изменений, но и показало, что нейроны этих участков мозга меньше по размерам, имеют нарушенную ориентацию, разветвление дендритов и формирование синаптических связей, что, возможно, является результатом нарушений синаптогенеза в период эмбриогенеза и/или (с меньшей долей вероятности) сокращения синаптических связей в пубертатный период [19, 45]. Эти аномалии характерны для эпигенетических механизмов.

Дополнительные доказательства ведущей роли эпигенеза при шизофрении были получены при изучении некоторых белков ГАМК-ергических нейронов определенных участков мозга и клеток нейроглии больных [3, 27]. Они позволили не только подтвердить патофизиологические механизмы заболевания, но и сформулировать гипотезу нарушения формирования архитектуры нервной ткани как основы развития шизофрении [34].

Было показано, что гены, отвечающие за миелинизацию нервных волокон, в основном функционируют в олигодендроцитах, а нарушение экспрессии некоторых из них ингибирует функцию этих клеток и формирование нейрональной сети [108], что нередко проявляется шизофреноподобными психозами [59]. Было выдвинуто предположение, что особое значение при этом имеют дефекты миелиногенеза в таламусе [65], а также в префронтальной коре [29], активная миелинизация нервных волокон в которой происходит в период полового созревания, т.е. когда наиболее часто происходит манифестация шизофрении.

Несомненным успехом в изучении роли процессов метилирования и эпигенеза при шизофрении послужили работы последних лет, в которых показано, что для ГАМК-ергических интернейронов мозга больных характерно значительное (до 50%) снижение уровня гликопротеина *рилина* (reelin) и *декарбоксилазы глутаминовой кислоты* (GAD67) (одной из двух синтезирующих ГАМК декарбоксилаз и соответствующих мРНК в области неокортекса и гиппокампа и повышение экспрессии ДНК метилтрансферазы I, основного фермента метилирования ДНК, в I, II и IV слоях коры головного мозга больных [10, 34]. Складывается впечатление, что именно избыточная наработка DNMT1 является патологическим механизмом психоза, тем более что применение некоторых лекарственных препаратов (в том числе вальпроевой кислоты) снижает экспрессию DNMT1 [31]. Более того, последние работы в этом направлении показали, что в мозге больных шизофренией повышенная экспрессия DNMT1 мРНК имеет место в ГАМК-ергических нейронах I, II и III, IV слоев коры головного мозга IX зоны Бродмана (префронтальная кора), хвостатом ядре, и скорлупе, тогда как при маниакально-депрессивном психозе — только в I и II слое коры IX зоны Бродмана [126, 127]. Специфичность зон повреждения и участие в процессе базальных ганглиев объясняет повышение активности симпатической нервной системы у некоторых больных шизофренией, с чем связывают развитие у них диабета, дислипидемии, гипертонии и ожирения (метаболический синдром) [111].

Рилин является относительно крупным белком внеклеточного матрикса. Его молекулярный вес — 420—450 kDa (3461 аминокислота). Синтезируется ГАМК-ергическими нейронами коры, он является высокоафинным (в пикомолярных концентрациях) лигандом некоторых рецепторов (в том числе белка интегрина), запускающего каскад реакций, обеспечивающих образование связей между нейронами (преимущественно между пирамидальными нейронами и ГАМК-ергическими интернейронами коры) и миграцию нейронов из пролиферативной зоны вглубь мозга при кортикогенезе (формирование нейрональной сети индиви-

да) как в эмбриональном периоде (основной этап), так и в последующей жизни [23, 30, 100]. Рилин выполняет множество важных функций в развивающемся мозге — модулирует плотность дендритных шипиков в пирамидальных нейронах коры, регулирует ветвление дендритов и участвует в формировании длительных потенциалов нейронов [129]. Этот процесс интенсивно происходит, как уже отмечалось, в эмбриогенезе. У взрослых рилин принимает участие в развитии ЦНС, формируя структурные изменения, связанные с процессами памяти и репарацией мозга в случаях его повреждения [20, 129].

Механизм действия рилина связан с инициацией сигнального пути клетки путем воздействия на два поверхностных рецептора в области рафтов клеточных мембран — липопротеинов низкой плотности: рецептор липопротеинов очень низкой плотности (VLDLR, very low density lipoprotein receptor) и рецептор аполипопротеина Е типа 2 (ApoER2) (рис. 1). Связываясь с рецепторами, рилин активирует тирозин киназы Fyn и Src, что способствует фосфорилированию Tyr98, Tyr220 и Tyr232 белка Dab1 (disabled) — ключевой реакции, необходимой для активации процессов окончательного позиционирования нейрона [114]. Путем эндоцитоза комплекс погружается в клетку, фосфотирозинсвязывающий домен Dab1 взаимодействует со специфическим участком цитоплазматического «хвоста» рилина — NPXY (N, аспарагин; P, пролин; X, любая аминокислота и Y, тирозин) и регулирует его внутриклеточный маршрут [84], участвует в образовании дендритов [89], модулирует клеточную адгезию и способствует целевой миграции нейронов [100]. Причем белок Dab1 играет ключевую роль в период формирования коры мозга [46, 84]. Мутации генов Reelin, Dab 1 или генов рецепторов VLDLR и ApoER2 в экспериментах на мышах дают одинаковый эффект нарушения архитектоники клеток в слоях коры мозга, что говорит об их принадлежности к одной сигнальной (тирозинкиназной) системе, ведущим звеном которой является рилин [114, 119]. В этом процессе также принимает участие белок LIS1 (lissencephaly-1), отсутствие которого приводит к тяжелой патологии — «гладкому мозгу». Он входит как некаталитическая субъединица в комплекс активируемого тромбоцитами фактора ацетилгидролазы 1В мозга (PAFAN1B, brain platelet-activating factor acetylhydrolase 1b), который в ответ на взаимодействие рилина с рецептором VLDLR связывается с фосфорилированным белком Dab1, выходит из комплекса PAFAN1B и взаимодействует с микротрубулами, являясь, таким образом, необходимым модулятором сигнального каскада рилина для внутриклеточных преобразований, межклеточных взаимодействий и, в конечном итоге, — формирования слоев коры мозга [48, 136].

Кроме того, рилин при участии киназ семейства Src и Dab1 способен регулировать активность NМВА(глутаматных)-рецепторов, потенцируя их пропускную способность для входа ионов кальция в клетку, что приводит к изменению фосфорилирования

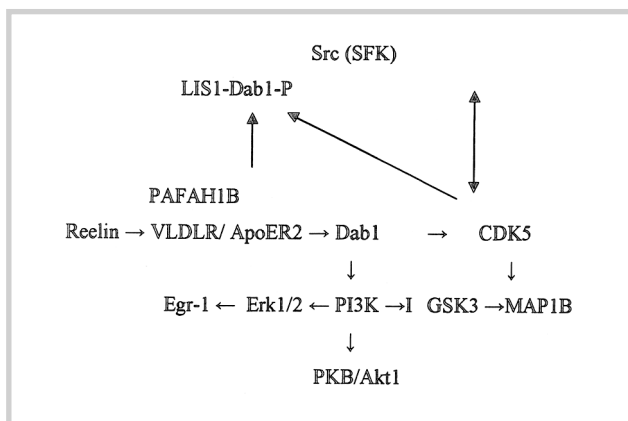


Рис. 1. Схема действия рилина.

Объяснение в тексте.

(Ser 133) и транслокации в ядре фактора транскрипции — цАМФ-зависимого компонента связывания белка (CREB, cAMP-response element binding protein) [43, 113]. Процесс модулирования рилином активности постсинаптических NMDA-рецепторов чрезвычайно важен для формирования синапсов в период развития мозга и их пластичности во взрослом состоянии [48] роста нервных волокон и дендритогенеза, поддержания долговременного потенциала нейронов [79], формирования памяти и запоминания [129].

Изучение влияния процессов метилирования на активность гена и экспрессию рилина в культурах нервных клеток линии NT2 позволило установить, что блокирование ДНК метилтрансфераз и, следствие, гипометилирование ДНК, резко активирует (>20 раз) наработку клетками рилина [90]. Следовательно, основным контролем уровня этого белка является эпигенетическая регуляция гена Reln за счет метилирования CpG островков промотора гена [4]. Определение (методом гибридизации *in situ*) DNMT1 мРНК в различных слоях клеток фронтальной коры мозга человека показало ее повышенный уровень именно в ГАМК-ергических интернейронах слоя I префронтального отдела коры у больных шизофренией и отсутствие разницы в ГАМК-ергических интернейронах слоя V коры [106]. С другой стороны, увеличение наработки DNMT1 мРНК в нейронах приводит к гиперметилированию промоторов гена Reln и снижению уровня рилин-позитивных нейронов [26]. Интересно, что при шизофрении в ГАМК-ергических нейронах мозга увеличена (приблизительно в 2 раза) концентрация S-аденозилметионина [5, 52], что наряду с активацией экспрессии ДНК метилтрансферазы I в I, II и IV слоях коры (содержащие в основном ГАМК-ергические нейроны) способствует гиперметилированию промоторов генов, в том числе рилина, и декарбоксилазы глутаминовой кислоты 67 (GAD67) [52].

Ни рилин, ни DNMT1 мРНК не были обнаружены в пирамидных нейронах коры мозга [106], а у больных шизофренией в I, II, IV и V слоях нейронов коры головного мозга снижен уровень рилин мРНК-положительных клеток, тогда как уровень клеток DNMT1 мРНК-положительных клеток ниже у здоровых [26, 52]. Эти данные позволили сделать вывод о патогенности гиперметилирования промоторов именно гена рилина. Имеются данные об ультраструктурных изменениях олигодендроцитов (уменьшении их плотности и количества) в слое III коры мозга при шизофрении [58].

Еще одна важная деталь — рилин секретируется в виде дисульфидсвязанного димера, и генетическое нарушение олигомеризации делает его неспособным индуцировать Dab1 [4]. Вероятно, избыток гомоцистеина (Hcy) при определенных условиях может нарушать димеризацию белка и делать его функционально неактивным. К сожалению, такой эффект гомоцистеина пока не исследовался.

Кроме генов Reln, у больных шизофренией также найдены изменения метилирования промоторов генов GAD67 (ключевого фермента синтеза тормозного нейротрансмиттера — ГАМК), дофаминового рецептора D2 (DRD2), серотонинового рецептора — HTR2A (5-hydroxytryptamine receptor 2A) и гена мембраносвязанной COMT [3]. Что касается последней, то в нейронах в области левого полушария фронтальной коры мозга у больных шизофренией найдено понижение уровня метилирования промотора гена COMT, в результате чего его экспрессия соответственно повышена [5].

На основании приведенных данных была предложена биохимическая модель формирования картины изменений сети ГАМК-ергических нейронов мозга мышей, соответствующая таковой у больных шизофренией [26, 34]. Она основана на результатах введения метионина (5,2 ммоль/кг подкожно 2 раза в день) Reln±нокаутным мышам в течение 6—15 дней, что снижало уровень мРНК и синтез рилина и некоторых других белков во фронтальной коре и было связано с гиперметилированием промоторов их генов в ГАМК-ергических нейронах [26, 34, 90]. При этом контрольное введение животным других аминокислот, например глицина (13 ммоль/кг 2 раза в день в течение 15 дней), не оказывало эффекта на экспрессию генов и структуру нейросети [34].

Отмена метионина постепенно нормализовала уровень метилирования промоторов и количество рилина в нейронах PFC, а ингибирование ДНК метилтрансферазы 1 прокаиномидом предупреждало гиперметилирование промоторов при нагрузке метионином [34].

Многие фармакологические препараты оказывают влияние на процессы метилирования. Например, введение мышам вальпроата (2 ммоль/кг) (обладающего, по некоторым данным, ДНК-деметиلاзной активностью [34]) резко повышало уровень ацетилированных гистонов H3 в ГАМК-ергических интернейронах мозга и индуцировало деметилирование промоторов генов, в частности рилина и GAD67, что отражалось на связывании с этими участками ДНК специфических белков — MeCP2 и MBD2 (белки, связывающиеся с гиперметилированными CpG-участками ДНК) [34]. Если в норме уровень связывания MBD2 с промоторами генов рилина и GAD67 составляет около 7%, а MeCP2 — около 15%, то после 6 дней введения метионина показатель в промоторе рилина возрастал более чем на 200%, а совместное введение с вальпроатом предупреждало этот эффект. Использование других антиконвульсантов (имидазобензодиазепинов), не оказывавших влияние на процессы метилирования ДНК, не влияло на данный эффект метионина [34]. Внесение доксорубина (ингибитор DNMT1) в культуру клеток предшественников нейронов (NT-2) в течение длительного времени значительно увеличивало экспресс рилина и GAD67 [71]. Эти данные указывают, что гиперметилирование ДНК и сопутствующее этому ремоделирование хроматина могут быть ключевым событием эпигенетического подавления экспрессии рилина и GAD67 в ГАМК-ергических нейронах коры мозга больных шизофренией. Это определяет направление поиска терапевтических средств для лечения этого заболевания.

Интересно, например, что повышение экспрессии гена рилина происходит при активации *in vitro* ретиноевой кислотой дифференцировки предшественников нейронов (культура клеток N12), что также связано со снижением уровня метилирования промотора гена. Внесение в среду трихостатина А (trichostatin A) — ингибитора гистон деацетилазы (HDAC) значительно повышало уровень рилина мРНК, что говорит о тесной связи процессов метилирования ДНК и ацетилирования/метилирования гистонов [8]. Было показано, что способностью ингибировать HDAC обладает вальпроат [86]. Вероятно, этот эффект лежит в основе его способности активировать деметилирование промотора и усиливать экспрессию рилина [23]. Стоит отметить, что вальпроат, благодаря своему свойству репрограммировать эпигеном, используется как противовирусный и противораковый препарат [44].

В последнее время были получены дополнительные данные о важной роли эпигенеза нейроглии (астроциты, олигодендроциты и микроглия) в развитии предрасположенности к шизофрении [82]. Для заболевания, помимо рилина и GAD67, характерно подавление активности многих генов и снижение интенсивности синтеза соответствующих белков в олигодендроцитах, участвующих в формировании архитектоники коры мозга и подкорковых структур [40]. Например, гена SOX10 [83], кодирующего специфический фактор транскрипции олигодендроцитов (контролирует активность многих генов дифференцировки и миелинизации [8]). Показано, что у больных шизофренией подавление экспрессии гена коррелирует с уровнем метилирования островков цитидин-гуанозин (CpG) ДНК в районе его локализации [62], тогда как генетические мутации SOX10 — не влияют ни на экспрессию гена, ни на уровень метилирования ДНК. Более того, установлено, что уровень метилирования SOX10 связан с уровнем экспрессии других генов, например фактора транскрипции дифференцировки олигодендроцита 1 и 2 (OLIG 1,2, oligodendrocyte lineage transcription factor) и основного белка олигодендроцитов, связанного с миелином (MOBP, myelin-associated oligodendrocyte basic protein), экспрессия которых также подавлена при шизофрении [8]. Кроме того, как показали исследования на клеточных культурах — процессы метилирования не влияли на экспрессию этих генов. Следовательно, как это и характерно для эпигенеза, метилирование SOX10 служит «кластерным» сигналом

ответа определенного набора генов, приводящего к неадекватному ответу олигодендроцитов [62].

Считается, что в формировании эпигенома принимают участие гистоны и, хотя этот вопрос стал изучаться недавно, было установлено, что при шизофрении имеет место изменение процессов их метилирования. Например, в клетках префронтальной коры мозга больных значительно увеличивается (>30%) уровень метилированного гистона H3 (метил-аргинин 17, H3meR17), что ведет к изменению активности некоторых генов, в том числе активации гена фактора транскрипции — фактора ядра каппа Б (NF-κB), что характерно для воспалительных и антиапоптозных процессов [10]. Показана достоверная обратная корреляция между повышением метилирования H3R17 и снижением уровня мРНК генов, участвующих в синтезе полиаминов, митохондриальной цепи транспорта электронов и цикла трикарбоновых кислот [9].

Такая «неспецифичность» эпигенетических изменений дает повод предполагать, что они могут являться следствием внешних воздействий. Эпигенез очень чувствителен к действию факторов внешнего окружения. Изучение процессов метилирования при шизофрении показало, что у больных значительно повышен уровень основного донора метильных групп — S-аденозилметионина, гомоцистеина и метионина (в спинномозговой жидкости) и полиаминов (S-AM — ключевой субстрат их синтеза) [39, 52]. Однако механизм, способствующий накоплению S-AM у больных шизофренией, до настоящего времени неизвестен.

В последние годы появились новые данные в пользу вирусной гипотезы этиологии шизофрении. Приводятся доказательства роли цитомегаловируса в развитии болезни [123]. Обнаружено много примеров взаимосвязи вирусной инвазии с процессами внутриклеточного метилирования. Так, было показано, что вирус гриппа, введенный беременным мышам, благодаря подавлению экспрессии рилина [38] нарушает миграцию нейронов гиппокампа и коры у плода, тогда как активность других генов, например нейрональной NO-синтазы (nNOS) или кальретицина, при этом повышается [37]. Найдено изменение экспрессии небольшого кислого фибриллярного белка глии (GFAP, glial fibrillary acidic protein; 50 kDa) — маркера глиоза и ответа астроцитов на повреждения ЦНС [38]. Последний интересен тем, что астроциты, продуцирующие GFAP, также принимают участие в регуляции миграции нейронов, синтезе белков внеклеточного матрикса и молекул адгезии, синтезе глутатиона и др. [83]. Кроме вируса гриппа человека, подобную реакцию вызывают вирусы герпеса, свинки, краснухи, болезни Борна, лейкемии (LP-VM<sub>2</sub>), гепатита (A59) и HIV [24, 50, 68]. Интересно, что белок GFAP у человека исчезает в период полового созревания и авторы считают, что это связано опять же с активностью гена рилина [79]. Глиоз и повышенное содержание GFAP иногда находят у больных шизофренией [80]. Морфологические изменения некоторых отделов мозга (дорсолатеральной префронтальной коры), вызван-

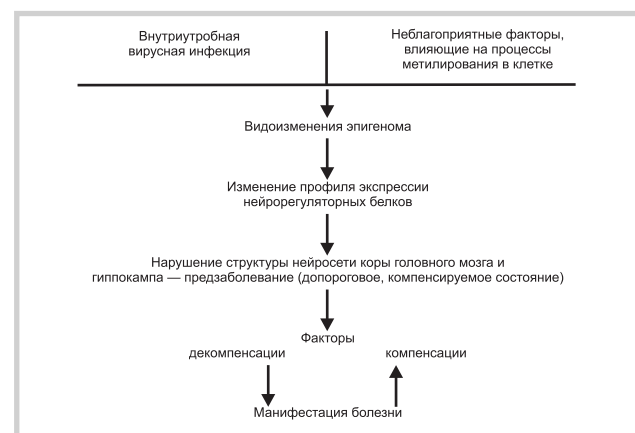


Рис. 2. Схема этиологии и патогенеза шизофрении.

ные простейшим вирусом герпеса 1 (HSV1, herpes simplex virus 1), напоминают аналогичные изменения у больных шизофренией, тем более что у этих больных отмечается повышенный уровень антител к вирусу (HSV1 IgG) по сравнению со здоровыми [99]. Следует отметить, что X-протеин вируса гепатита В (HBx) активирует экспрессию ДНК метилтрансферазы — DNMT1 с последующим гиперметилированием ДНК в участках промоторов генов [64] — эффект, напоминающий увеличение уровня DNMT1 мРНК в ГАМК-ергических нейронах при шизофрении [52].

Эти данные говорят о возможном вмешательстве вирусов в эпигеном «вирусовосприимчивых» клеток, что служит основой патогенеза многих заболеваний. Интересно, что в пользу вирусного эпигенетического «дирижера» говорят и многочисленные данные последних лет о влиянии вирусов на процесс метилирования ДНК [44]. Дальнейшие исследования в этом направлении являются перспективными в изучении патобиохимии шизофрении.

На основании приведенных результатов можно считать, что шизофрения, как и многие другие психические заболевания, не является следствием мутаций одного либо нескольких генов, а связана, скорее всего, с дефектом/нарушением механизмов эпигенетической регуляции генома, большую роль в которых играют процессы метилирования [5, 27]. Инициатором эпигенетических нарушений могут быть неблагоприятные факторы внешней среды и/или вирусная инфекция. В этом случае изменения уровня нейромедиаторов являются всего лишь «эхом» эпигенетических событий, а этиология и патогенез заболевания могут быть представлены в виде схемы, которая приведена на рис. 2.

Таким образом, исследования последних лет, в которых показана важность процессов трансметилирования и механизмов эпигенеза в этиологии шизофрении, проливают свет на некоторые механизмы развития шизофрении, открывая тем самым перспективы для разработки новых лекарственных препаратов и оптимизации терапевтических воздействий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Наумов А.В. Роль нарушений процессов метилирования и обмена метионина в патогенезе заболеваний человека. Журнал ГрГМУ 2007; 1: 4—7.
2. Наумов А.В., Разводковский Ю.Е. Роль процессов метилирования в этиологии и патогенезе болезни Альцгеймера. Журн неврол и психиат 2008; 108: 5: 99—104
3. Abdolmaleky H.M., Smith C.L., Faraone S.V. et al. Methyloomics in psychiatry: Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation. Am J Med Genet B Neuropsychiat Genet 2004; 127: 1: 51—59.
4. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Russo A. et al. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: a preliminary report. Am J Med Genet B Neuropsychiat Genet 2005; 134: 60—66.
5. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Faraone S.V. et al. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. Hum Mol Genet 2006; 15: 21: 3132—3145.
6. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. J Neurosci 1996; 16: 3: 1066—1071.
7. Abel T., Zukin R.S. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. Curr Opin Pharmacol 2008; 8: 1: 57—64.
8. Aberg K., Saetre P., Jareborg N. et al. A potential regulator of mRNA expression of human oligodendrocyte-related genes involved in schizophrenia. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 19: 7482—7487.
9. Akbarian S., Ruelhl M.G., Bliven E. et al. Chromatin alterations associated with down-regulated metabolic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Arch Gen Psychiat 2005; 62: 8: 829—840.
10. Akbarian S., Huang H.S. Molecular and cellular mechanisms of altered GAD1/GAD67 expression in schizophrenia and related disorders. Brain Res Rev 2006; 52: 2: 293—304.
11. Antonova E., Sharma T., Morris R., Kumari V. The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: a selective review. Schizophr Res 2004; 70: 2—3: 117—145.
12. Awata S., Nakayama K., Suzuki I. et al. Changes in cystathionine gamma-lyase in various regions of rat brain during development. Biochem Mol Biol Int 1995; 35: 6: 1331—1338.
13. Barrett R.M., Wood M.A. Beyond transcription factors: the role of chromatin modifying enzymes in regulating transcription required for memory. Learn Mem 2008; 15: 7: 460—467.
14. Benz B., Grima G., Do K.Q. Glutamate-induced homocysteine acid release from astrocytes: possible implication in glia-neuron signaling. Neuroscience 2004; 4: 2: 377—386.
15. Bergeron R., Imamura Y., Frangioni J.V. et al. Endogenous N-acetylaspartylglutamate reduced NMDA receptor-dependent current neurotransmission in the CA1 area of the hippocampus. J Neurochem 2007; 100: 2: 346—357.
16. Bonaccorso S., Marino V., Puzella A. et al. Increased depressive ratings in patients with hepatitis C receiving interferon-alpha-based immunotherapy are related to interferon-alpha-induced changes in the serotonergic system. J Clin Psychopharmacol 2002; 22: 1: 86—90.
17. Boog G. Obstetrical complications and subsequent schizophrenia in adolescent and young adult offspring: is there a relationship? Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 114: 2: 130—136.
18. Brown A.S., Bottiglieri T., Schaefer C.A. et al. Elevated prenatal homocysteine levels as a risk factor for schizophrenia. Arch Gen Psychiat 2007; 64: 1: 31—39.
19. Cannon M., Jones P.B., Murray R.M. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. Am J Psychiat 2002; 159: 7: 56—35.
20. Carboni G., Tueting P., Tremolizzo L. et al. Enhanced dizocilpine efficacy in heterozygous reeler mice relates to GABA turnover downregulation. Neuropharmacology 2004; 46: 8: 1070—1081.
21. Carlsson A. The neurochemical circuitry of schizophrenia. Pharmacopsychiatry 2006; 39: Suppl: S10—14.
22. Carr O.B., Sesack S.R. Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. J Neurosci 2000; 20: 10: 3864—3873.
23. Carancho H.J., Dopeso-Reyes I.G., Loza M.X., Rodriguez M.A. GABA, reelin, and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. Crit Rev Neurobiol 2004; 16: 1—2: 25—32.
24. Chen X., Jhee K.H., Kruger W.D. Production of the neuromodulator H2S by cystathionine beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine. J Biol Chem 2004; 279: 50: 52082—52086.
25. Choi J., Liu R.M., Kundu R.K. et al. Molecular mechanism of decreased glutathione content in human immunodeficiency virus type 1 Tat-transgenic mice. J Biol Chem 2000; 275: 5: 3693—3698.
26. Costa E., Chen Y., Davis J. et al. REELIN and Schizophrenia: A Disease at the Interface of the Genome and the Epigenome. Mol Interv 2002; 2: 1: 47—57.
27. Costa E., Dong E., Grayson B.R. et al. A. Epigenetic targets in GABAergic neurons to treat schizophrenia. Adv Pharmacol 2006; 54: 95—117.
28. Coyle J.T. The nagging question of the function of N-acetylaspartylglutamate. Neurobiol Dis 1997; 4: 3—4: 231—238.
29. Cunningham M.G., Bhattacharyya S., Benes F.M. Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: implications for the development of normal and abnormal function during adolescence. J Comp Neurol 2002; 453: 2: 116—130.
30. D'Arcangelo G., Miao G.G., Chen S.C. et al. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. Nature 1995; 374: 6524: 719—723.
31. Deutsch S.I., Rosse R.B., Mastropalo J. et al. Epigenetic therapeutic strategies for the treatment of neuropsychiatric disorders: ready for prime time? Clin Neuropharmacol 2008; 31: 2: 104—119.
32. Devlin A.M., Ling E.H., Peerson J.M. et al. Glutamate carboxypeptidase II: a polymorphism associated with lower levels of serum folate and hyperhomocysteinemia. Hum Mol Genet 2000; 9: 19: 2837—2844.
33. Do K.Q., Trabesinger A.H., Kirsten-Kruger M. et al. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. Eur J Neurosci 2000; 12: 10: 3721—3728.
34. Dong E., Agis-Balboa R.C., Simonini M.V. et al. Reelin and glutamic acid decarboxylase67 promoter remodeling in an epigenetic methionine-induced mouse model of schizophrenia. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 35: 12578—12583.

35. *El-Khodor B.F., Flores G., Srivastava L.K., Boksa P.* Effects of birth insult and stress at adulthood on excitatory amino acid receptors in adult rat brain. *Synapse* 2004; 54: 3: 138–146.
36. *Eto K., Kimura H.* The production of hydrogen sulfide is regulated by testosterone and S-adenosyl-L-methionine in mouse brain. *J Neurochem* 2005; 93: 6: 1633.
37. *Fatemi S.H., Emamian E.S., Kist D. et al.* Defective corticogenesis and reduction in Reelin immunoreactivity in cortex and hippocampus of prenatally infected neonatal mice. *Mol Psychiat* 1999; 4: 2: 145–154.
38. *Fatemi S.H., Emamian E.S., Sidwell R.W. et al.* Human influenza viral infection in utero alters glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the developing brains of neonatal mice. *Mol Psychiat* 2002; 7: 633–640.
39. *Fiori L.M., Turecki G.* Implication of the polyamine system in mental disorders. *J Psychiat Neurosci* 2008; 33: 2: 102–110.
40. *Flynn S.W., Lang D.J., Mackay A.L. et al.* Abnormalities of myelination in schizophrenia detected in vivo with MRI, and post-mortem with analysis of oligodendrocyte proteins. *Mol Psychiat* 2003; 8: 811–820.
41. *Fujigaki S., Saito K., Sekikawa K. et al.* Lipopolysaccharide induction of indoleamine 2,3-dioxygenase is mediated dominantly by an IFN-gamma-independent mechanism. *Eur J Immunol* 2001; 31: 8: 2313–2318.
42. *Garcia-Bereguain M.A., Samhan-Arias A.K., Martin-Romero F.J., Gutiérrez-Merino C.* Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca<sup>2+</sup> channels. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10: 1: 31–42.
43. *Ghosh A., Greenberg M.E.* Calcium signaling in neurons: molecular mechanisms and cellular consequences. *Science* 1995; 268: 239–247.
44. *Gillet N., Florins A., Boxus M. et al.* Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology* 2007; 6: 4: 18–49.
45. *Glantz L.A., Gilmore J.H., Lieberman J.A., Jarskog L.F.* Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 81: 1: 47–63.
46. *Gleeson J.G., Walsh C.A.* Neuronal migration disorders: from genetic diseases to developmental mechanisms. *Trends Neurosci* 2000; 23: 8: 352–359.
47. *Goff D.C., Coyle J.T.* The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiat* 2001; 158: 9: 1367–1377.
48. *Gonzalez-Billault C., Del Rio J.A., Urena J.M. et al.* A role of MAP1B in Reelin-dependent neuronal migration. *Cereb Cortex* 2005; 15: 1134–1145.
49. *Grayson D.R., Chen Y., Costa E. et al.* The human reelin gene: transcription factors (+), repressors (–) and the methylation switch (+/–) in schizophrenia. *Pharmacol Ther* 2006; 111: 1: 272–286.
50. *Grima G., Benz B., Parpura V. et al.* Dopamine-induced oxidative stress in neurons with glutathione deficit: implication for schizophrenia. *Schizophr Res* 2003; 62: 3: 213–224.
51. *Groth R.O., Dunbar R.L., Mermelstein P.G.* Calcineurin regulation of neuronal plasticity. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 4: 1159–1171.
52. *Guidotti A., Ruzicka W., Grayson B.R. et al.* S-adenosyl methionine and DNA methyltransferase-1 mRNA overexpression in psychosis. *Neuroreport* 2007; 18: 1: 57–60.
53. *Haidemenos A., Kontis O., Gazi A. et al.* Plasma homocysteine, folate and B12 in chronic schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat* 2007; 31: 6: 1289–1296.
54. *Hemby S.E., Ginsberg S.D., Brunk B. et al.* Gene expression profile for schizophrenia: discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex. *Arch Gen Psychiat* 2002; 59: 7: 631–640.
55. *Heresco-Levy U., Bar G., Levin R. et al.* High glycine levels are associated with prepulse inhibition deficits in chronic schizophrenia patients. *Schizophr Res* 2007; 91: 1–3: 14–21.
56. *Heyes M.P., Saito K., Crowley J.S. et al.* Quinolinic acid and kynurenic pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease. *Brain* 1992; 115: 5: 1249–1273.
57. *Heyes M.P., Saito K., Milstien S., Schiff S.J.* Quinolinic acid in tumors, hemorrhage and bacterial infections of the central nervous system in children. *J Neurol Sci* 1995; 133: 1–2: 112–118.
58. *Hof P.R., Haroutunian V., Friedrich V.L. et al.* Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. *Biol Psychiat* 2003; 53: 1075–1085.
59. *Hyde T.M., Ziegler J.C., Weinberger D.R.* Psychiatric disturbances in megalochromic leukodystrophy. Insights into the neurobiology of psychosis. *Arch Neurol* 1992; 49: 4: 401–406.
60. *Ismail L., Sargent T., Dobson E.L., Polycove M.* Altered metabolism of the methionine methyl group in the leukocytes of patients with schizophrenia. *Biol Psychiat* 1978; 13: 6: 649–660.
61. *Ito C.* The role of the central histaminergic system on schizophrenia. *Drug News Perspect* 2004; 17: 6: 383–387.
62. *Iwamoto K., Bundo M., Yamada K. et al.* DNA methylation status of SGX10 correlates with its downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J Neurosci* 2005; 25: 22: 5376–5381.
63. *Javitt D.C.* Glutamate and Schizophrenia: Phencyclidine, N-Methyl-D-Aspartate Receptors, and Dopamine-Glutamate Interactions. *Int Rev Neurobiol* 2007; 78: 69–108.
64. *Jung J.K., Arora P., Pagano J.S., Jang K.L.* Expression of DNA methyltransferase 1 is activated by hepatitis B virus X protein via a regulatory circuit involving the p16INK4a-cyclin B1-CBK. 4/6-pRb-E2F1 pathway. *Cancer Res* 2007; 67: 12: 5771–5778.
65. *Kaifu T., Nakahara J., Inui M. et al.* Osteopetrosis and thalamic hypomyelination with synaptic degeneration in DAPI2-deficient mice. *J Clin Invest* 2003; 111: 323–332.
66. *Kamoi K., Yamamoto K., Misawa A. et al.* SUV39H1 interacts with HTLV-1 Tax and abrogates Tax transactivation of HTLV-1 LTR. *Retrovirology* 2006; 3: 5–18.
67. *Karlsson H., Schroder J., Bachmann S. et al.* HERV-W-related RNA detected in plasma from individuals with recent-onset schizophrenia or schizoaffective disorder. *Mol Psychiat* 2004; 9: 1: 12–23.
68. *Kazda H., Taylor N., Healy B., Walker D.* Maternal, umbilical, and amniotic fluid concentrations of tryptophan and kynurenic acid after labor or cesarean section. *Pediat Res* 1998; 44: 3: 368–373.
69. *Khaitovich P., Lockstone H.E., Wayland M.T. et al.* Metabolic changes in schizophrenia and human brain evolution. *Genome Biol* 2008; 9: 8: R124.
70. *Kristiansen L.V., Huerta I., Beneyto M., Meador-Woodruff J.H.* NMBA receptors and schizophrenia. *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7: 1: 48–55.
71. *Kundakov M., Chen Y., Costa E., Grayson B.R.* BNA methyltransferase inhibitors coordinately induce expression of the human reelin and glutamic acid decarboxylase 67 genes. *Mol Pharmacol* 2007; 71: 3: 644–653.
72. *Lakhan S.E., Vieira K.F.* Nutritional therapies for mental disorders. *Nutr J* 2008; 7: 2–7.
73. *Lane H.Y., Liu Y.C., Huang C.L. et al.* Sarcosine (N-methylglycine) treatment for acute schizophrenia: a randomized, double-blind study. *Biol Psychiat* 2008; 63: 1: 9–12.
74. *Law A.J., Lipska B.K., Weickert C.S. et al.* Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 17: 6747–6752.
75. *Lee S.W., Hu Y.S., Hu L.F. et al.* Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells. *Glia* 2006; 54: 2: 116–124.
76. *Levenson J.M., Sweatt J.D.* Epigenetic mechanisms: a common theme in vertebrate and invertebrate memory formation. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 9: 1009–1016.
77. *Lewis D.A., Lieberman J.A.* Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron* 2000; 28: 2: 325–334.
78. *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; 94: 11: 5923–5938.
79. *Malenka R.C.* The long-term potential of LTP. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 923–926.
80. *Markova E., Markov I., Revishchin A. et al.* 3B Golgi and image analysis of the olfactory tubercle in schizophrenia. *Anal Quant Cytol Histol* 2000; 22: 178–182.
81. *Mertens B., Wolf S., Tschuch C. et al.* Allelic silencing at the tumor-suppressor locus 13q14.3 suggests an epigenetic tumor-suppressor mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 20: 7741–7746.
82. *Moises H.W., Zoega T., Gottesman I.I.* The glial growth factors deficiency and synaptic destabilization hypothesis of schizophrenia. *BMC Psychiat* 2002; 2: 8–21.
83. *Montgomery B.L.* Astrocytes: form, functions, and roles in disease. *Vet Pathol* 1994; 31: 145–167.
84. *Morimura T., Hattori M., Ogawa M., Mikoshiba K.* Disabled1 regulates the intracellular trafficking of reelin receptors. *J Biol Chem* 2005; 280: 17: 16901–16908.
85. *Muglia P., Vicente A.M., Verga M. et al.* Association between the BDNF gene and schizophrenia. *Mol Psychiat* 2003; 8: 2: 146–147.
86. *Munfjewerff J.W., Kahn R.S., Blom H.J., den Heijer M.* Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. *Mol Psychiat* 2006; 11: 2: 143–149.
87. *Neale J.H., Olszewski R.T., Gehl L.M. et al.* The neurotransmitter N-acetylaspartylglutamate in models of pain, ALS, diabetic neuropathy, CNS injury and schizophrenia. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 9: 477–484.
88. *Neugebauer R., Hoek H.W., Susser E.* Prenatal exposure to wartime famine and development of antisocial personality disorder in early adulthood. *JAMA* 1999; 282: 5: 455–462.

89. Niu S., Renfro A., Quattrocchi C.C. et al. Reelin promotes hippocampal dendrite development through the VLBRL/ApoER2-Bab 1 pathway. *Neuron* 2004; 41: 71–84.
90. Noh J.S., Sharma R.P., Veldic M. et al. DNA methyltransferase 1 regulates reelin mRNA expression in mouse primary cortical cultures. *PNAS* 2005; 102: 5: 1749–1754.
91. Nuyt A.M., Szyf M. Developmental programming through epigenetic changes. *Circulat Res* 2007; 100: 4: 452–455.
92. Oberlander T.F., Weinberg J., Papsdorf M. et al. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics* 2008; 3: 2: 97–106.
93. Olszewski R.T., Wegorzewska M.M., Monteiro A.C. et al. Phencyclidine and dizocilpine induced behaviors reduced by N-acetylaspartylglutamate peptidase inhibition via metabotropic glutamate receptors. *Biol Psychiat* 2008; 63: 1: 86–91.
94. Orlikov A.B., Prakhya I.B., Ryzov I.V. Kynurenine in blood plasma and BST in patients with endogenous anxiety and endogenous depression. *Biol Psychiat* 1994; 36: 2: 97–102.
95. Peng C.H., Chiou S.H., Chen S.J. et al. Neuroprotection by Imipramine against lipopolysaccharide-induced apoptosis in hippocampus-derived neural stem cells mediated by activation of BDNF and the MAPK pathway. *Eur Neuropsychopharmacol* 2008; 18: 2: 128–140.
96. Philibert R., Gunter T., Hollenbeck N. et al. No association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism with schizophrenia. *Psychiat Genet* 2006; 16: 5: 221–223.
97. Picker J.D., Coyle J.T. Do maternal folate and homocysteine levels play a role in neurodevelopmental processes that increase risk for schizophrenia? *Harv Rev Psychiat* 2005; 13: 4: 197–205.
98. Plotski A.R., Naumov A.V., Doroshenko Y.M. Plasma homocystein and birth defects. *Acta Biochem Polonica* 2007; 54: Suppl 4: 15.
99. Prasad K.M., Shirts B.H., Yolken R.H. et al. Brain morphological changes associated with exposure to HSV1 in first-episode schizophrenia. *Mol Psychiat* 2007; 12: 1: 105–113.
100. Qiu S., Weeber E.J. Reelin signaling facilitates maturation of CA1 glutamatergic synapses. *J Neurophysiol* 2007; 97: 3: 2312–2321.
101. Rakic P., Caviness V.S. Cortical development: view from neurological mutants two decades later. *Neuron* 1995; 14: 6: 1101–1104.
102. Regland B. Schizophrenia and single-carbon metabolism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat* 2005; 29: 7: 1124–1132.
103. Roessmann U., Velasco M.L., Sindley S.D. et al. Glial fibrillary acidic protein in ependymal cells during development. An immunocytochemical study. *Brain Res* 1980; 200: 13–21.
104. Roffman J.L., Weiss A.P., Deckersbach T. et al. Interactive effects of COMT Val158Met and MTHFR C677T on executive function in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiat Genet* 2008; 147: 6: 990–995.
105. Roffman J.L., Weiss A.P., Purcell S. et al. Contribution of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms to negative symptoms in schizophrenia. *Biol Psychiat* 2008; 63: 1: 42–48.
106. Ruzicka W.B., Zhubi A., Veldic M. et al. Selective epigenetic alteration of layer I GABAergic neurons isolated from prefrontal cortex of schizophrenia patients using laser-assisted microdissection. *Mol Psychiat* 2007; 12: 385–397.
107. Saito K., Nowak T.S., Markey S.P., Heyes M.P. Mechanism of delayed increases in kynurenine pathway metabolism in damaged brain regions following transient cerebral ischemia. *J Neurochem* 1993; 60: 1: 180–192.
108. Schachner M., Bartsch U. Multiple functions of the myelin-associated glycoprotein MAG (siglec-4a) in formation and maintenance of myelin. *Glia* 2000; 29: 2: 154–165.
109. Schatz R.A., Stramentinoli G., Sellinger O.Z. Decreased cerebral catabolism of [3H]histamine in vivo after S-adenosylmethionine administration. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 216: 1: 118–124.
110. Schatz R.A., Wilens T.E., Sellinger G.Z. Decreased transmethylation of biogenic amines after in vivo elevation of brain S-adenosyl-1-homocysteine. *J Neurochem* 1981; 36: 5: 1739–1748.
111. Scigliano G., Ronchetti G., Girotti F. Autonomic nervous system and risk factors for vascular disease. Effects of autonomic imbalance in schizophrenia and Parkinson's disease. *Neurol Sci* 2008; 29: 1: 15–21.
112. Sharma R.P. Schizophrenia, epigenetics and ligand-activated nuclear receptors: a framework for chromatin therapeutics. *Schizophr Res* 2005; 72: 2–3: 79–90.
113. Shaywitz A.J., Greenberg M.E. CREB: a stimulus-induced transcription factor activated by a diverse array of extracellular signals. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 821–861.
114. Simo S., Pujadas L., Segura M.F. et al. Reelin induces the detachment of postnatal subventricular zone cells and the expression of the Egr-1 through Erk1/2 activation. *Cerebral Cortex* 2007; 17: 294–303.
115. St Clair D., Xu M., Wang P. et al. Rates of adult schizophrenia following prenatal exposure to the Chinese famine of 1959–1961. *JAMA* 2005; 294: 5: 557–562.
116. Stahl Z., Belniaker R.H., Friger M., Levine J. Nutritional and life style determinants of plasma homocysteine in schizophrenia patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 2005; 15: 3: 291–295.
117. Stone J.M., Morrison P.D., Pilowsky L.S. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia—a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol* 2007; 21: 4: 440–452.
118. Stone T.W., Darlington L.G. Endogenous kynurenes as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1: 8: 609–620.
119. Strasser V., Fasching B., Hauser C. et al. Receptor clustering is involved in Reelin signaling. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 3: 1378–1386.
120. Szyf M. Towards a pharmacology of DNA methylation. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 7: 350–354.
121. Szyf M. DNA Methylation and demethylation as targets for anticancer therapy. *Biochemistry* 2005; 70: 5: 533–549.
122. Tandon R., Keshavan M.S., Nasrallah H.A. Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res* 2008; 102: 1–3: 1–18.
123. Torrey E.F., Leweke M.F., Schwarz M.J. et al. Cytomegalovirus and schizophrenia. *CNS Drugs* 2006; 20: 11: 879–885.
124. Ungvari Z., Csiszar A., Edwards J.G. et al. Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor-alpha, NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2003; 23: 3: 418–424.
125. Unoki M., Nakamura Y. Methylation at CpG islands in intron 1 of EGR2 confers enhancer-like activity. *FEBS Lett* 2003; 554: 1–2: 67–72.
126. Veldic M., Kadriu B., Maloku E. et al. Epigenetic mechanisms expressed in basal ganglia GABAergic neurons differentiate schizophrenia from bipolar disorder. *Schizophr Res* 2007; 91: 1–3: 51–61.
127. Volk D.W., Austin M.C., Pierri J.N. et al. Decreased glutamic acid decarboxylase67 messenger RNA expression in a subset of prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid neurons in subjects with schizophrenia. *Arch Gen Psychiat* 2000; 57: 3: 237–245.
128. Wang C., Anastasio N., Popov V. et al. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors by phencyclidine causes the loss of corticostriatal neurons. *Neuroscience* 2004; 125: 2: 473–483.
129. Weeber E.J., Beffert U., Jones C. et al. Reelin and ApoE receptors cooperate to enhance hippocampal synaptic plasticity and learning. *J Biol Chem* 2002; 277: 42: 39944–39952.
130. Wichers M.C., Maes M. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon-alpha-induced depression. *J Psychiat Neurosci* 2004; 29: 1: 11–17.
131. Winterer G., Musso F., Beckmann C. et al. Instability of prefrontal signal processing in schizophrenia. *Am J Psychiat* 2006; 163: 11: 1960–1968.
132. Woo T.U., Walsh J.P., Benes F.M. Density of glutamic acid decarboxylase 67 messenger RNA-containing neurons that express the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A in the anterior cingulate cortex in schizophrenia and bipolar disorder. *Arch Gen Psychiat* 2004; 61: 7: 649–657.
133. Yamada K., Gerber D.J., Iwayama Y. et al. Genetic analysis of the calcineurin pathway identifies members of the EGR gene family, specifically EGR3, as potential susceptibility candidates in schizophrenia. *PNAS* 2007; 104: 8: 2815–2820.
134. Yasunaga J., Taniguchi Y., Nosaka K. et al. Identification of aberrantly methylated genes in association with adult T-cell leukemia. *Cancer Res* 2004; 64: 17: 6002–6009.
135. Zammit S., Lewis S., Gunnell D., Smith G.D. Schizophrenia and neural tube defects: comparisons from an epidemiological perspective. *Schizophr Bull* 2007; 33: 4: 853–858.
136. Zhang G., Assadi A.H., McNeil R.S. et al. The Pafah 1b Complex Interacts with the Reelin Receptor VLDLR. *Gastroenterology* 2007; 132: 4: 1476–1494.