

Церебральная фолатная недостаточность: анализы и дифференциальная диагностика

Simon Pope¹ | Rafael Artuch² | Simon Heales^{1,3,4} | Shamima Rahman^{4,5}

Саймон Поуп, Рафаэль Артач, Саймон Хилс, Шамима Рахман

¹Neurometabolic Unit, National Hospital for Neurology, Queen Square, London, UK (Нейрометаболическое отделение Национального неврологического госпиталя, Квинс-сквер, Лондон, Великобритания)

²Clinical Biochemistry Department, Institut de Recerca Sant Joan de Déu and CIBERER, ISCIII, Barcelona, Spain (Департамент клинической биохимии, Исследовательский институт при больнице Hospital Sant Joan de Déu и исследовательские центры CIBERER и ISCIII, Барселона, Испания)

³Department of Chemical Pathology, Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, London, UK (Департамент химической патологии под управлением организации Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, Лондон, Великобритания)

⁴Mitochondrial Research Group, UCL Great Ormond Street Institute of Child Health, London, UK (Группа исследования митохондриальных функций, Институт детского здоровья UCL Great Ormond Street Institute of Child Health, Лондон, Великобритания)

⁵Department of Metabolic Medicine, Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, London, UK (Департамент метаболической медицины, Целевой фонд Национальной службы здравоохранения Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, Лондон, Великобритания)

Адрес для корреспонденции: Simon Pope, Neurometabolic Unit, National Hospital for Neurology, Queen Square, London, UK. Email: simonpope@nhs.net

Контактный редактор: Matthias Baumgartner (Маттиас Баумгартнер)

Shamima Rahman, Department of Metabolic Medicine, Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, London, UK. (Шамима Рахман, Департамент метаболической медицины, организация Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, Лондон, Великобритания). Email: shamima.rahman@ucl.ac.uk

Информация о финансировании
Lily Foundation; NIHR Great Ormond Street Hospital Biomedical Research Centre; Great Ormond Street Hospital Children's Charity

Аннотация

Церебральной фолатной недостаточностью обычно называют недостаточный уровень 5-метилтетрагидрофолата (5-MTHF), главной формы фолата, в спинномозговой жидкости (СМЖ, ликворе) в сочетании с нормальным общим уровнем фолата в периферической крови. При этом следует отметить, что термин "церебральная фолатная недостаточность" также часто используется в отношении состояний, при которых сниженный уровень 5-MTHF в ликворе сопровождается низким либо неопределенным уровнем фолата в периферической крови. Список известных дефектов переноса фолатов включает недостаточность протон-сопряженного транспортера фолатов, при которой может развиваться как системная, так и церебральная фолатная недостаточность, и недостаточность фолатного рецептора альфа, при которой развивается церебрально локализованная фолатная недостаточность, проявляющаяся некупируемыми эпилептическими приступами, задержкой и/или регрессией психического развития, прогрессирующей атаксией и хореоатетическими двигательными расстройствами. Список врожденных нарушений метаболизма фолатов включает недостаточность ферментов метилентетрагидрофолатредуктазы, дигидрофолатредуктазы и 5,10-метилентетрагидрофолатсинтетазы. Церебральная фолатная недостаточность – состояние, потенциально поддающееся терапии, и поэтому крайне важно вовремя диагностировать соответствующие метаболические сбои и назначить правильное лечение. Вторичная церебральная фолатная недостаточность обнаруживается при иных наследственных метаболических заболеваниях, в том числе при расстройствах митохондриального окислительного фосфорилирования, сериновой недостаточности, и пиридоксин-зависимой эпилепсии. Среди остальных вторичных причин церебральной фолатной недостаточности – прием некоторых лекарственных средств, активация иммунного ответа, токсическое поражение организма, и окислительный стресс. В настоящем обзоре рассматривается процесс усвоения, переноса и метаболизма фолата в организме; аналитические методы измерения уровня фолатов в крови, плазме и ликворе; наследуемые и приобретаемые нарушения, приводящие к церебральной фолатной недостаточности; возможные методы терапии пациентов с церебральной фолатной недостаточностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

5-метилтетрагидрофолат, 5-MTHF, DHFR, фолат, фолиниевая кислота, FOLR1, митохондриальные заболевания, метаболизм одноуглеродных фрагментов, PCFT, витамин B9

1.1 | История фолата

Фолиевая кислота была открыта в 1941 году – её выделили из листьев шпината ("folium" на латыни – "лист"). Было показано, что её наличие необходимо для роста бактерии *Streptococcus lactis*¹. Примерно в то же время, в 1930е и 1940е годы, было обнаружено, что употребление в пищу дрожжей и экстрактов печени, содержащих фолиевую кислоту, либо синтетической фолиевой кислоты, способно предотвратить развитие анемии, вызванной беременностью, целиакией либо неполноценным питанием (см. обзоры по истории исследований фолиевой кислоты за авторством Hoffbrand², Rosenberg³).

Термином "фолаты" описывают группу соединений, содержащих птеридиновое ядро и остатки пара-аминобензойной и глутаминовой кислот (рисунок 1). Фолиевая кислота – распространенная форма фолата, содержащаяся в витаминизированных продуктах питания и включающая в себя полностью окисленное птеридиновое ядро и один остаток глутаминовой кислоты. В природе фолаты встречаются во множестве степеней окисления (дигидро-, тетрагидро- и так далее) и могут содержать более одного остатка глутаминовой кислоты (полиглутаматные формы фолатов). Природные фолаты также часто содержат дополнительную углеродную группу, например, метильную, формильную, метиленовую либо метениловую группу, присоединенную к азоту в позиции N5 или N10 (рисунок 1). Исключительно благодаря наличию этих одноуглеродных групп фолаты играют свою роль в одноуглеродном метаболизме. Например, 5-метилентетрагидрофолат (5-MTHF) играет незаменимую роль в процессе метилирования гомоцистеина, в результате чего образуется метионин (рисунок 1), а общая недостаточность 5-MTHF приводит к повышению уровней гомоцистеина в плазме крови.⁴ S-аденозилметионин (SAM), образующийся из метионина, необходим для осуществления более 100 внутриклеточных реакций метилирования, включая метилирование ДНК, РНК, нейромедиаторов, липидов, гормонов и лекарственных метаболитов.^{5,6}

1.2 | Усвоение и метаболизм фолатов

Усвоение и метаболизм фолатов схематически представлены на рисунках 1 и 2. Фолат, получаемый человеком с пищей, в основном содержится во фруктах и овощах в форме полиглутаматов, которые подвергаются действию фермента фолилполи- γ -глутамат-карбоксипептидазы.⁷ Этот фермент, содержащийся в клетках щеточной каемки кишечника, переводит фолаты в усвояемую форму, катализируя процесс гидролиза, превращающий фолат-полиглутаматы в моноглутаматы.^{8,9} Клетки кишечника экспрессируют два транспортных белка, переносящих фолаты – переносчик восстановленных фолатов (reduced folate carrier, RFC)¹⁰ и протон-сопряженный транспортер фолатов (proton-coupled folate transporter, PCFT).^{11,12} В литературе описаны дефекты гена, кодирующего PCFT (*SLC46A1*) – данные дефекты ассоциированы с системной недостаточностью фолатов, что говорит о ключевой роли белка PCFT в усвоении и переносе фолатов.^{11,13} Не сообщалось об обнаружении дефектов гена, который кодирует отвечающий за кишечный транспорт фолатов белок RFC.

Белок RFC (кодированный геном *SLF19A1*) – антипортер органических ионов, при помощи которого анионы 5-MTHF поступают в клетку "в обмен" на другие анионы (как органические, так и неорганические), покидающие клетку. Он экспрессируется по всему организму и является основным транспортным механизмом, посредством которого клетки захватывают фолаты из системного кровообращения.¹⁰ На некоторых типах клеток присутствуют также специализированные рецепторы фолата (FR) – они образуют более высокоаффинную систему переноса, способную функционировать при наномолярных концентрациях фолата.^{14,15} Продолжаются исследования с целью установить точные функции этих отличных друг от друга систем транспорта фолата, а также их регулировочные механизмы. Захват фолата тканями мозга опосредуется высокоаффинным фолатным рецептором альфа (FR α , кодируется геном *FOLR1*), который в больших количествах содержится на апикальной мембране эпителиальных клеток сосудистого сплетения,¹⁶ а также белком PCFT (см. рисунок 2). Доставка 5-MTHF в паренхиму мозга

осуществляется, судя по всему, экзосомами, внутри которых содержатся молекулы 5-MTHF, связанные с рецепторами FR α . Они пересекают цитозольное пространство эпителиальных клеток сосудистого сплетения в направлении от базолатеральной мембраны к апикальной, после чего высвобождаются в ликвор через апикальную щеточную кайму на поверхности клеток.¹⁶

Метаболизм фолатов – сложный процесс, который, как можно видеть на рисунках 1 и 2, играет незаменимую роль в биосинтезе нуклеиновых кислот, одноуглеродном метаболизме, и метаболизме аминокислот. Фолаты, поступающие в организм с пищей, усваиваются организмом после разбиения на моноглутаматные формы. Считается, что природные источники пищи обычно содержат восстановленные формы фолатов. Синтетические и невосстановленные формы фолата восстанавливаются до дигидрофолата, а затем и до тетрагидрофолата ферментом дигидрофолатредуктазой (DHFR). Тетрагидрофолат преобразуется в 5,10-метилентетрагидрофолат посредством переноса углеродной группы от серина в реакции, катализируемой ферментом серингидрометилтрансферазой (SHMT). В ходе этой реакции также образуется глицин. Образование 5,10-метилентетрагидрофолата также возможно с помощью системы расщепления глицина (glycine cleavage system, GCS).^{17,18} Образовавшийся 5,10-метилентетрагидрофолат преобразуется в 5-метилтетрагидрофолат (5-MTHF) с помощью метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). От фермента MTHFR зависит выработка 5-MTHF, от наличия которого, в свою очередь, зависит процесс реметилирования, преобразующий гомоцистеин в метионин. Продуктом данного цикла является S-аденозилметионин (SAM), участвующий во множестве реакций метилирования, катализируемых метилтрансферазами, в том числе метилирования нуклеиновых кислот, лекарственных метаболитов и нейромедиаторов.¹⁹ Другие формы фолата, такие как 10-формилтетрагидрофолат и 5,10-метилентетрагидрофолат, участвуют в синтезе пурина и пиримидина соответственно.

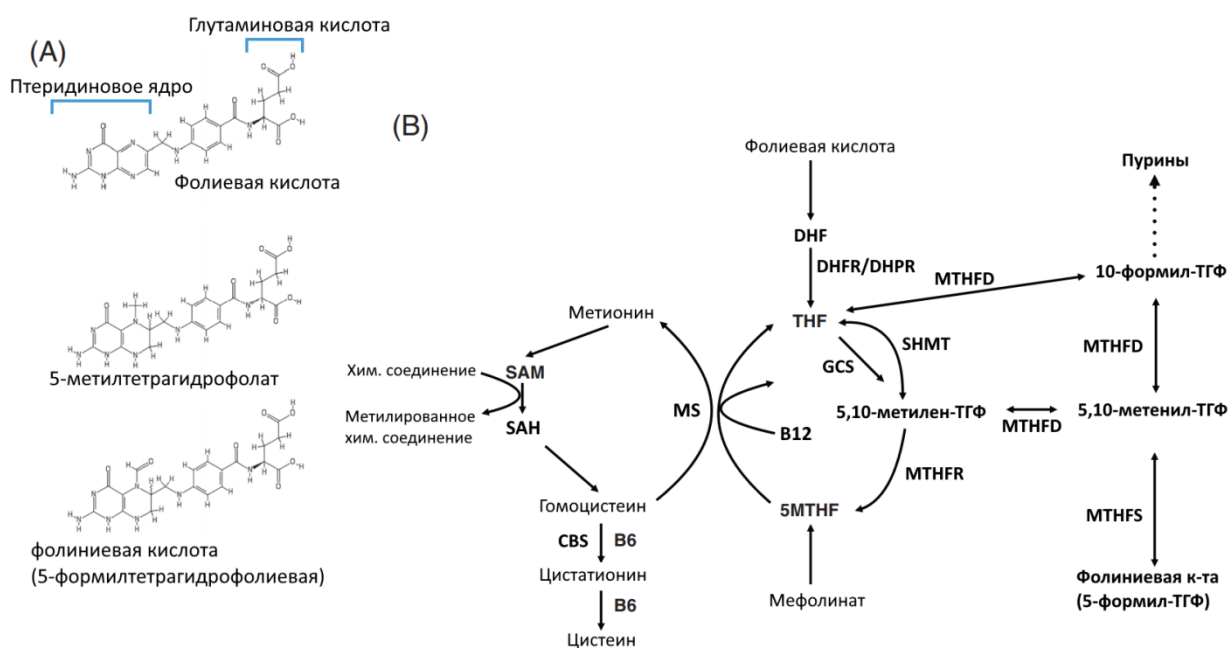


РИСУНОК 1. Структурные формулы фолатов и фолатный/одноуглеродный метаболизм.

Описание дано в тексте статьи. Сокращения: DHF - дигидрофолат; DHFR - дигидрофолатредуктаза; DHPR - дигидроптеридинредуктаза; THF (ТГФ) - тетрагидрофолат; MS - метионинсинтаза; MTHFR - метилентетрагидрофолатредуктаза; 5-MTHF - 5-метилтетрагидрофолат; SAM - S-аденозилметионин; SAH - S-аденозилгомоцистеин; CBS - цистатионин-бета-синтаза; B6 - пиридоксальфосфат-зависимый фермент; B12 - кобаламин-зависимая реакция.

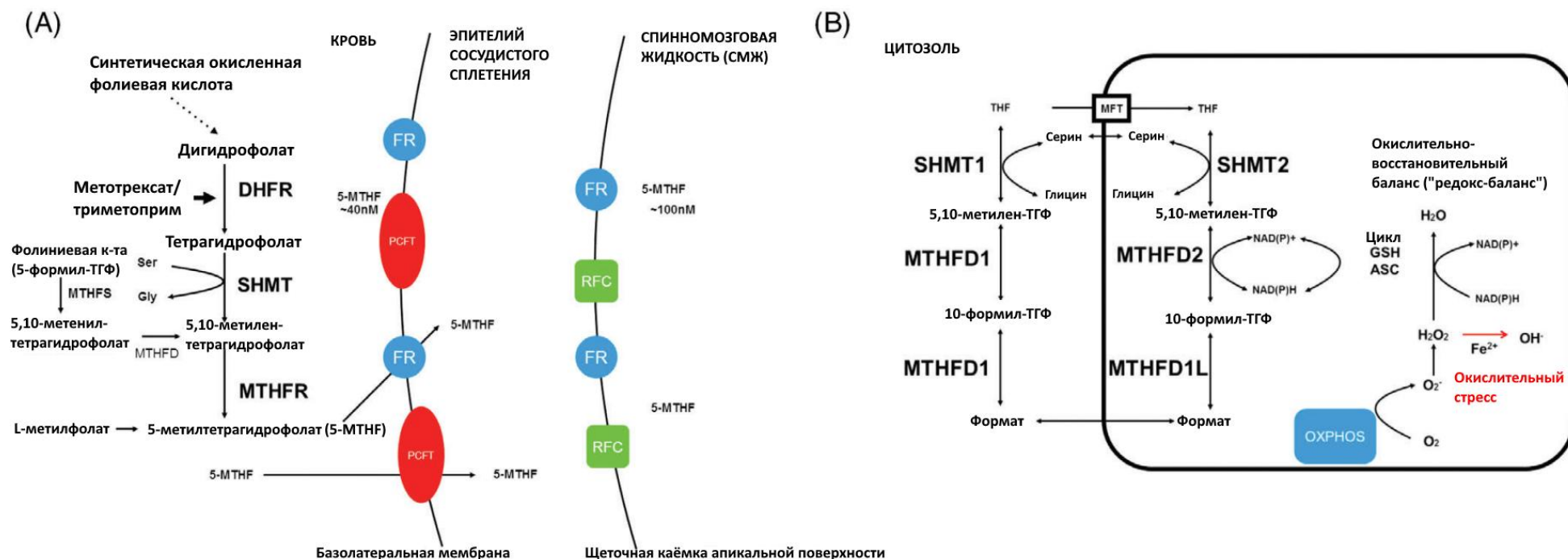


РИСУНОК 2 (А и В) Транспорт фолата, митохондриальный метаболизм и окислительный стресс.

(А) Различные формы фолата всасываются в кишечнике с помощью протон-сопряженного транспортера фолатов (PCFT) и преобразуются в основную форму, используемую для транспорта в организме – 5-MTHF. 5-MTHF преодолевает гематоэнцефалический барьер в сосудистом сплетении. Этот процесс включает как на перенос фолата в везикулах с помощью фолатных рецепторов, так и перенос с помощью PCFT – только в случае функционирования обоих механизмов процесс протекает оптимально. На иллюстрации показаны основные формы фолата, присутствующие в диете и применяемые для терапии, а также препараты, замедляющие синтез фолата, такие как метотрексат и триметоприм. Следует отметить, что факт наличия градиента концентрации 5-MTHF между кровотоком и спинномозговой жидкостью говорит о том, что перенос 5-MTHF в ткани мозга – энергозависимый процесс. Этот вопрос рассмотрен подробнее в тексте статьи.

(В) Окислительный стресс является одной из возможных причин церебральной фолатной недостаточности.³¹ Процесс окислительного фосфорилирования (OXPHOS), происходящий внутри митохондрий, может привести к утечке электронов и производству окисляющих соединений, таких как перекись водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал ($OH^\cdot$). Антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота (ASC) и глутатион (GSH), нейтрализуют оксиданты и защищают компоненты клетки от окисления. Окислительный стресс может

быть результатом повышенной концентрации оксидантов (например, вследствие сбоя окислительного фосфорилирования либо воздействия свободных ионов переходных металлов (Fe^{2+})) или нарушения механизмов антиоксидантной защиты. В условиях окислительного стресса лабильные формы фолата могут подвергнуться окислению, приводя к развитию церебральной фолатной недостаточности.³¹ Следует заметить, что митохондрии используют свои собственные изоформы ферментов на некоторых стадиях фолатного метаболизма, и что NAD(P)H, произведенный в ходе реакций фолатного метаболизма, может использоваться для восстановления аскорбата и глутатиона.

Сокращения: DHFR – дигидрофолатредуктаза; SHMT1 – цитозольная серингидроксиметилтрансфераза; SHMT2 – митохондриальная серингидроксиметилтрансфераза; MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза; MTHFS – метилентетрагидрофолатдегидрогеназа; MTHFD1 – цитозольная метилентетрагидрофолатдегидрогеназа; MTHFD1L – митохондриальный белок, подобный метилентетрагидрофолатдегидрогеназе-1; митохондриальная метилентетрагидрофолатдегидрогеназа 2; FR – фолатный рецептор альфа; PCFT – протон-сопряженный транспортер фолатов; RFC – переносчик восстановленных фолатов.

1.3 | Открытие церебральной фолатной недостаточности

Связь неврологических симптомов с недостаточностью фолата была впервые отмечена Джонатаном Пинкусом (Pincus) с коллегами,²⁰ а о сниженных уровнях фолата в спинномозговой жидкости пациентов было впервые сообщено в 1981 году.²¹ Впоследствии Рамэккерс и Блау (Ramaekers and Blau, 2004)²² определили церебральную фолатную недостаточность как "любой неврологический синдром, при котором наблюдается сниженное содержание 5-MTHF в ликворе при нормальных показателях фолатного метаболизма за пределами нервной системы". При этом следует отметить, что термин "церебральная фолатная недостаточность" часто используется в отношении состояний, при которых отмечается сниженный уровень 5-MTHF в ликворе – независимо от показателей периферического уровня фолата. В литературе описано множество причин церебральной фолатной недостаточности – от врожденных сбоев метаболизма, таких как дефекты метаболического кругооборота (недостаточность DHFR либо MTHFR) и нарушения транспорта фолатов (напр., дефекты генов FOLR1 и PCFT и митохондриальные заболевания, нарушающие транспорт фолатов) до возможных дефектов, приводящих к чрезмерному использованию либо ускоренному разрушению фолатов, например, метилирование леводопы, процессы нейродегенерации. При первичных дефектах транспорта и метаболизма обычно отмечается экстремально низкий уровень 5-MTHF в спинномозговой жидкости – не превышающий 10 нмоль/л до инициации терапии. Обзор состояний, ассоциированных с развитием церебральной фолатной недостаточности, дан в таблице 1.

2 | АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФОЛАТНОГО СТАТУСА

Первоначальная оценка фолатного статуса обычно включает измерение общего фолата в сыворотке либо плазме крови с помощью анализа, основанного на использовании фолат-связывающего белка (обзор методик анализа уровня фолатов приведен в сноске 23). Данный анализ легко автоматизируется, он недорог и прост в проведении, однако полученный результат отражает содержание всех фолатов, в том числе фолиевой кислоты, и, следовательно, не всегда точно отражает уровни активных форм фолата, таких как 5-MTHF. Другие периферические маркеры фолатного статуса, такие как эритроцитарный фолат и общий гомоцистеин плазмы, более специфичны и могут послужить более точным показателем, отражающим "активный" фолатный статус, нежели общий уровень фолата в сыворотке.

Описаны методы измерения уровней отдельных видов фолата в сыворотке, эритроцитах и ликворе, как правило, основанные на использовании жидкостной хроматографии с масс-спектральным детектированием (LS-MS).²⁴⁻²⁹ Врачам, осуществляющим диагностику, такие методы, как правило, недоступны. Метод, наиболее часто используемый для диагностики церебральной фолатной недостаточности (ЦФН) – высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с флуоресцентной либо электрохимической детекцией (ЭХД) уровня 5-MTHF в ликворе.³⁰⁻³⁴ В большинстве методов предусматривается выделение 5-MTHF на ВЭЖХ C18-колонке с последующей ЭХД- или флуоресцентной детекцией. На рисунке 3 представлены ВЭЖХ-хроматограммы определения 5-MTHF в ликворе, записанные в нашей лаборатории.

5-MTHF относительно стабилен в большинстве образцов ликвора^{23,31,34} и обычно не проявляет признаков разложения, будучи оставлен в неохлаждаемом автосемплере до утра (личный опыт авторов). Тем не менее, мы заметили, что время от времени происходит быстрое разложение 5-MTHF в некоторых образцах спинномозговой жидкости. Причина неясна – возможно, это следствие окислительного катаболизма на фоне недостаточности антиоксидантов, таких, как аскорбиновая кислота, и/или усиленная генерация реактивных форм кислорода.³¹ В связи с этим мы рекомендуем подвергать все образцы ликвора, предназначенные для анализа на содержание 5-MTHF, мгновенной заморозке, и хранить при температуре -70°C. Повторный анализ образцов ликвора, в которых был обнаружен сниженный уровень 5-MTHF, должен производиться на свежеразмороженных порциях ликвора, причем анализ следует производить немедленно,

чтобы отличить истинное снижение 5-MTHF от последствий разрушения 5-MTHF *ex vivo* из-за неконтролируемых особенностей конкретного образца.

Судя по всему, в ликворе отсутствует ростокаудальный градиент уровня 5-MTHF, но концентрация MTHF изменяется с возрастом, обычно становясь ниже с течением времени.³⁴ Большинство лабораторий используют разные референсные диапазоны для разных возрастов, и эти нормы приблизительно совпадают в разных лабораториях.^{31,33,34} Может наблюдаться разница между референсными диапазонами, используемыми лабораториями в разных странах, вероятно, из-за различий в характеристиках контрольных групп и из-за иных факторов, например, различий в диете. В связи с этим важной задачей каждой лаборатории является установление собственных референсных диапазонов и использование образцов внутреннего контроля качества. Наша лаборатория изготавливает собственные образцы контроля качества (QC), используя объединенный пул на основе образцов с «нормальными» хроматографическими результатами (не демонстрирующими недостаточность 5-MTHF). У нас также имеется фолат-дефицитный образец контроля качества (QCD), изготовленный на материале пациента с недостаточностью 5,10-MTHFR. Наличие данных образцов позволяет нам контролировать точность измерений с ходом времени и правильность выделения 5-MTHF среди соседних пиков, присутствующих на хроматограмме фолат-дефицитного образца (рисунок 3). В связи с тем, что пробы спинномозговой жидкости используются также и для измерения других аналитов, например, моноаминовых метаболитов и птеринов, целесообразно вести протокол сбора образцов, учитывающий возможное наличие ростокаудального градиента и показатели стабильности каждого из аналитов.³⁵

В будущем в диагностических лабораториях должны стать более доступны методы LC-MS, позволяющие детектировать большое количество форм фолата и за счет этого своевременно и детализировано описывать дефекты фолатного метаболизма и транспорта фолатов.¹¹⁸ Были описаны дополнительные показатели одноуглеродного метаболизма, которые можно исследовать совместно с измерением уровней фолата в ликворе.³⁶ Подобные методы будут особенно полезны при контроле терапии, особенно если дефект метаболизма, имеющийся у пациента, настолько нов, что в сообществе еще не сложилось консенсуса относительно того, в какой форме следует назначать фолат и/или иные добавки (кобаламин, пиридоксин и т.п.) и каков должен быть путь введения.

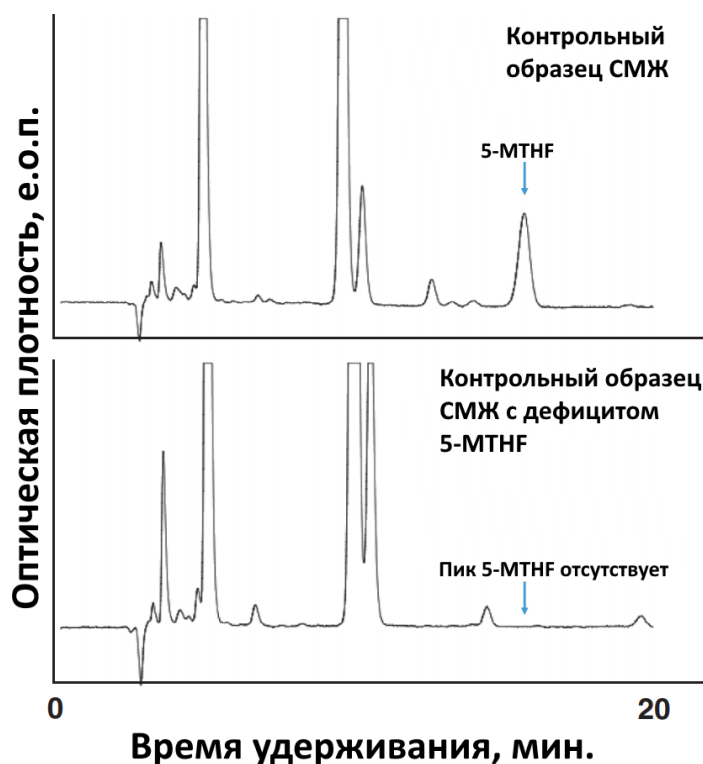


Рисунок 3. Хроматограммы 5-MTHF

Снятые в нашей лаборатории ВЭЖХ-хроматограммы, демонстрирующие заметный и хорошо разрешенный пик 5-MTHF в контрольном образце спинномозговой жидкости (СМЖ) и отсутствие пика в патологическом контрольном образце спинномозговой жидкости, взятом у пациента с недостаточностью MTHFR. Графики подчеркивают важность использования нормальных и патологических контрольных образцов при осуществлении аналитических процедур.

ТАБЛИЦА 1. Обзор состояний, при которых может развиваться церебральная фолатная недостаточность

Дефект	Клинические признаки	Типичные уровни 5-MTHF в СМЖ, иные важные биохим. отклонения	Терапия	Основные публикации
Первичные причины ЦФН				
Недостаточность MTHFR	Мегалобластная анемия либо панцитопения, э/приступы, гидроцефалия, атаксия	Обычно очень низкий (<10 нмоль/л). Повыш. общ. гомоцистеин в плазме и низкий метионин	Бетаин, фолиниевая к-та либо 5-MTHF	Skovby ⁵⁸
Недостаточность DHFR	Мегалобластная анемия либо панцитопения, микроцефалия, э/приступы, изменения в белом в-ве	Обычно очень низкий (<10 нмоль/л). Низкий ВН ₄ в СМЖ и низк./норм. уровни моноамин. метабол-в в СМЖ	Фолиниевая к-та	Banka et al ⁶¹ , Cario et al ⁶²
Недостаточность MTHFS	Эпилепсия, изменения в белом в-ве, микроцефалия	Нижняя граница нормы	5-MTHF и в/м метилкобаламин	Rodan et al ⁶³
Недостаточность FRα	Изменения в белом в-ве, задержка развития	Обычно очень низкий (<10 нмоль/л)	Фолиниевая к-та	Steinfeld et al ⁴⁰ , Perez-Duenas et al ⁴³
Вторичные причины ЦФН				
Митохондриальные заболевания (особ. синдром Кернса-Сейра)	Пигментная ретинопатия, э/приступы, изменения в белом в-ве, атаксия	Варьируют - от крайне низких до нормальных	Фолиниевая к-та	Garcia-Cazorla et al ⁷² , Batllori et al ¹¹⁴
Сериновая недостаточность	Микроцефалия, задержка роста, гипертония, эпилепсия, гипогонадизм	ЦФН легкой или умеренной степени	L-серин перорально	Van der Crebban et al ⁸⁰ , Damseh et al ⁸¹
Недостаточность DHPR	Признаки недостаточности дофамина и серотонина - дистония, туловищная гипотония, лабильность темп. тела, нарушение двиг. функции кишечника	Нижняя граница нормы	Фолиниевая к-та	Irons et al ⁸² , Smith et al ¹¹⁵
Недостаточность AADC	Признаки недостаточности дофамина и серотонина - дистония, туловищная гипотония, лабильность темп. тела, нарушение двиг. функции кишечника	Нижняя граница нормы	Фолиниевая к-та	Wassenberg et al ⁸⁴
Антитела к фолатному рецептору	Шизофрения, расстр. аутистич. спектра	Варьируют от низк. до норм.	Фолиниевая к-та	Ramaekers et al ^{90,119}
Заболевания со снижением 5-MTHF в спинномозговой жидкости (СМЖ) и низкими периферическими уровнями фолата				
Недостаточность RFC1	Изменения в белом веществе, э/приступы, задержка развития, хроническая диарея, гипогаммаглобулинемия, рецидивирующие инфекции, неврологические нарушения	Очень низкие (<10 нмоль/л)	В/м фолиниевая к-та или 5-MTHF	Qiu et al ¹¹
Дефицит, обусловл. диетой	Мегалобластная анемия либо панцитопения	Варьируют	Улучшение питания/фолатные добавки	Daly et al ¹¹⁶
Факторы среды/препараты: метотрексат, L-ДОФА, антифолаты	Разнообразные	Варьируют	Фолиевая либо фолиниевая к-та	Lambie and Johnson ¹⁰³ , Vezmar et al ¹⁰⁴ , Becker et al ¹¹⁷ , Surtees and Hyland ⁹⁹

3 | ВРОЖДЕННЫЕ ДЕФЕКТЫ ТРАНСПОРТА И МЕТАБОЛИЗМА ФОЛАТА

Врожденные дефекты метаболизма и транспорта фолата можно в целом разделить на заболевания, при которых отмечается генерализованная системная фолатная недостаточность, и заболевания, при которых церебральная (центральная) фолатная недостаточность (ЦФН) сочетается с нормальными периферическими уровнями фолатов (см. таблицу 1). Во второй группе заболеваний – дефекты кишечной абсорбции фолатов и дефекты системно экспрессированных ферментов. В случае церебрально локализованной фолатной недостаточности нарушенный перенос фолата через гематоэнцефалический барьер приводит к развитию синдрома ЦФН на фоне нормальных уровней фолата в плазме и эритроцитах. Вдобавок к этому, у пациентов с другими врожденными сбоями метаболизма может отмечаться ЦФН, которая, судя по всему, является вторичной, поскольку патофизиология состояния в этом случае не выяснена. Наиболее многочисленная группа таких заболеваний – первичные митохондриальные заболевания, то есть наследуемые заболевания, напрямую либо косвенно нарушающие работу системы окислительного фосфорилирования (OXPHOS).

3.1 | Нарушения транспорта фолатов

3.1.1 | Недостаточность протон-сопряженного транспортера фолатов (PCFT)

Врожденная мальабсорбция фолатов (OMIM #229050) – аутосомно-рецессивное заболевание, вызываемое биаллельными мутациями гена *SLC46A1*, кодирующего протон-сопряженный транспортер фолатов – белок PCFT.^{11,37} Данный транспортный белок жизненно необходим для абсорбции фолатов в кишечнике и переноса фолатов из кровотока в мозг. При недостаточности PCFT различные метаболические цепочки недополучают фолата, и как следствие, в организме снижаются уровни всех форм фолата.¹¹ На данный момент имеются сообщения о 30 случаях данного заболевания.¹³ Младенцы с данным заболеванием обычно поступают на диагностику в возрасте 4 месяцев с симптомами и признаками, которые могут говорить о наличии как системной, так и центральной фолатной недостаточности. Клинические признаки заболевания включают проблемы с приёмом пищи, и, как следствие, задержку прибавки веса; мегалобластическую анемию, нейтропению, тромбоцитопению, иммунодефицит, рецидивирующие инфекции (особенно пневмоцистную пневмонию), диарею и язвы в полости рта.³⁸ Неврологические признаки включают общую задержку развития, эпилептические приступы и нарушения поведения. Сканирование мозга может выявить демиелинизацию и внутримозговые кальцинаты. Биохимический анализ демонстрирует недостаточность фолата и 5-MTHF как в плазме крови, так и в ликворе. Назначение фолиевой кислоты (5-формилтетрагидрофолат, 5-формил-ТГФ) парентерально либо перорально в больших дозах приводит к быстрой нормализации уровней фолата в крови у пациентов с недостаточностью PCFT, но коррекция уровней 5-MTHF в ликворе может оказаться более сложной задачей. В связи с этим у пациентов с недостаточностью PCFT рекомендуется осуществлять мониторинг уровней 5-MTHF в СМЖ.³⁹ Раннее вмешательство дает шанс предотвратить развитие неврологических осложнений.³⁸

3.1.2 | Недостаточность функции фолатного рецептора альфа

Мутации гена *FOLR1* (OMIM #613068), кодирующего фолатный рецептор альфа (FRa), были впервые описаны в 2009 году у трех детей с прогрессирующим двигательным расстройством, регрессией психического развития и эпилептическими приступами, ассоциированными с крайне низкими уровнями 5-MTHF в спинномозговой жидкости на фоне нормальных периферических уровней фолата.⁴⁰ В медицинской литературе описано более 20 пациентов с этим заболеванием – основные клинические признаки детей приведены в сводной таблице № 2. У всех описанных пациентов дебют симптомов был отмечен в возрасте от 6 месяцев до 4.5 лет, медианный возраст дебюта – 2 года. В большинстве случаев дети рождались без видимых патологий, хотя у одного из пациентов была диагностирована врожденная микроцефалия. Дебюту симптомов у таких пациентов обычно предшествует бессимптомный интервал разной длительности, что породило предположение о том, что перенос 5-метилтетрагидрофолата рецептором FRb компенсирует недостаточность рецептора FRa в раннем младенческом возрасте. Типичная клиническая картина при первичном обследовании – тремор, атаксия, гипотония и задержка развития (особенно двигательного и речевого), с последующей регрессией и развитием некупируемых эпилептических приступов. Приступы обычно носят миоклонический характер, но бывает, что у

конкретного пациента отмечаются приступы разных типов, в том числе астатические, тонические, тонико-клонические и атипичные абсансы. У трех детей были отмечены рекуррентные эпизоды эпилептического статуса. Частью клинической картины также являются двигательные расстройства (особенно хорея и атетоз), приобретенная микроцефалия и полинейропатия. При недостаточности FRA наблюдается сильное снижение уровней 5-MTHF в ликворе, которые обычно не превышают 5 нмоль/л. Наивысший уровень в группе из 12 пациентов, по которым имеются данные об абсолютных значениях показателя, был отмечен у одного пациента и составил 11 нмоль/л (таблица №2). Содержание фолата в плазме крови и эритроцитах остается в рамках нормы. При сканировании мозга отмечается гипомиелинизация, особенно сильно сказывающаяся на субкортикальном белом веществе мозга, в сочетании с атрофией мозжечка и/или мозга. Сообщается о снижении тяжести приступов, появлении признаков улучшения на снимках мозга, и повышении уровней 5-MTHF в спинномозговой жидкости у пациентов после назначения фолиевой кислоты перорально (в дозах от 0.5 до 7 мг/кг/сутки; таблица №2). В то же время пациенты реагируют на терапию по-разному, в зависимости от длительности симптоматического периода, прошедшего до начала терапии, и, следовательно, при данном заболевании важна своевременная диагностика и раннее назначение лечения. Из-за слабого терапевтического ответа многих пациентов на пероральную форму фолиевой кислоты недавно было предложено периодически осуществлять внутривенное введение фолиевой кислоты в дополнение к ежедневному приему пероральной формы.⁴⁸ Назначение фолиевой кислоты при данном состоянии противопоказано, поскольку конкуренция фолиевой кислоты за связывание с рецептором FRA еще сильнее нарушает доставку 5-MTHF в мозг.

3.2 | Нарушения метаболизма фолатов

3.2.1 | Недостаточность метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR)

Недостаточность MTHFR (OMIM #236250) – наиболее часто встречающийся врожденный сбой метаболизма фолата: в научной литературе описано более 200 случаев заболевания.⁵⁶ У пациентов с этим заболеванием, наследуемым по аутосомно-рецессивному типу, нарушен синтез 5-MTHF – незаменимого донора метильных групп, необходимого для синтеза метионина посредством реметилирования гомоцистеина.⁵⁷ Характерными биохимическими признаками тяжелой недостаточности MTHFR являются гипергомоцистеинемия, при которой уровень метионина в плазме находится на нижней границе нормы, и ЦФН в сочетании с общим уровнем фолатов в плазме на нижней границе нормы.⁵⁸ Поскольку большинство методик измерения уровня фолата в плазме полагаются на использование иммуноферментного метода, не позволяющего измерять 5-MTHF в отдельности от других форм,²³ при недостаточности MTHFR не всегда отмечается снижение уровней фолата в плазме. Для тяжелой формы недостаточности MTHFR характерно большое разнообразие клинических проявлений – болезнь может дебютировать в первые месяцы жизни такими симптомами, как энцефалопатия, апноэ, эпилептические приступы и гидроцефалия, а может проявиться позже такими симптомами, как ухудшение неврологического статуса, атаксия, эпилептические приступы, атрофия головного мозга и задержка миелинизации. У ребенка более старшего возраста либо у взрослого может наблюдаться окклюзия сосудов, психиатрические симптомы либо патология белого вещества мозга.⁵⁸ Наличие выраженной ЦФН при недостаточности фермента MTHFR можно объяснить тем, что при данном заболевании снижено количество 5-MTHF, доступного для переноса в мозг, а также замедлен синтез 5-MTHF в центральной нервной системе. Распространенная вариация гена MTHFR – замена C>T в позиции c.667, порождает термолabile форму фермента, активность которой снижается с повышением температуры. У лиц, гомозиготных по генотипу c.677 C>T, отмечаются более высокие уровни гомоцистеина и фолата в плазме крови по сравнению с членами контрольной группы,⁵⁷ но при этом у них не развивается ЦФН.⁵⁹ Отмечается ассоциация вариации c.677 C>T с большим количеством патологических процессов, но поскольку данная вариация широко распространена в общей популяции – среди представителей европеоидной расы распространенность достигает 10-15%, среди латиноамериканцев Северной Америки – 25%,⁶⁰ доказательство причинно-следственной связи затруднительно, и очень вероятно, что выявленные ассоциации – случайные совпадения. Некоторые авторы также предполагают наличие ассоциации между полиморфизмами MTHFR, дефектами нервной трубки, и сердечно-сосудистыми заболеваниями,^{19,57} но подробное рассмотрение этого вопроса выходит за рамки нашего обзора.

ТАБЛИЦА 2 Описанные случаи мутаций гена FOLR1

Пациент*	Пол	Национальность	Дебют	Фенотип	Результаты МРТ	5-MTHF в ликворе (нмоль/л)†	Мутации	Схема терапии	Ответ на терапию	Литература
1 (P9 в Grapp et al)	М	Германия	2.5 лет	Тремор, атаксия, общая задержка развития, утрата моторных навыков, гипотония, апатия, аутизм. Миоклонически-астатические приступы с 3.3 лет	Гипомиелинизация, атрофия мозжечка/мозга, диффузная гиперинтенсивность паравентрикулярного и субкортикального белого вещества на T2-взвешенных снимках	1.4 (43-159)	c.352C>T; (p.Gln118*) и c.525C>A; (p.Cys175*)	Фолиниевая к-та: 0.5 мг/кг/сут перорально с повышением до 5 мг/кг/сут	Выраженное улучшение клин. симптоматики (сидит без пост. помощи, ходит с помощью) и ↓частота приступов	Steinfeld et al ⁴⁰ ; Cario et al ⁴¹ ; Grapp et al ⁴²
2 (сиблинг пациента 1, P10 в Grapp et al)	Ж	Германия	2.5 лет	Легкая туловищная атаксия, тремор конечностей, нормальное когнитивное развитие	Легкая атрофия мозжечка	<5 (43-159)	c.352C>T; (p.Gln118*) и c.525C>A; (p.Cys175*)	Фолиниевая к-та: 22.5 мг/кг/сут перорально	Практически полная нормализация неврологических показателей через 6 мес	Steinfeld et al ⁴⁰ ; Cario et al ⁴¹ ; Grapp et al ⁴²
3 (P8 в Grapp et al)	Ж	Италия	2 года	Задержка развития речи, атаксия, тремор, спастичность, регрессия псих. развития, Миоклонически-астатические приступы	Гипомиелинизация, атрофия мозжечка, фокальные T2-гиперинтенсивные очаги в белом веществе	<5 (43-159)	Гомозиготн. c.130_147dup; (p.Lys44_Pro49 dup)	Фолиниевая к-та (перорально, доза не указана)	Клиническое улучшение	Steinfeld et al ⁴⁰ ; Grapp et al ⁴²
4 (P11 в Grapp et al)	М	Гамбия	2-й год жизни	Атаксия, хорей, прогрессирующая миоклоническая эпилепсия	Диффузная аномалия сигнала в белом веществе мозга, атрофия мозжечка	2 (48-127)	Гомозиг. c.313T>C; (p.Cys105Arg)	Фолиниевая к-та: 30 мг/сут перорально	Полный контроль над приступами достигнут в 1-й мес. Жив в 7 лет	Perez-Duenas et al ⁴³ ; Grapp et al ⁴²
5	М	Турция	6 мес	Расстройство развития, тяжелая гипотония, атаксия с 2-х лет, эпилепсия с 6 лет (миоклонические приступы, дроп-атаки), повторяющиеся остановки дыхания в 8 лет; [также синдром LAMM - связь под вопросом]	Аномальная миелинизация во фронтальной и теменных областях	<3 (63-111)	Гомозиг. c.610C>T; (p.Arg204*)	Фолиниевая к-та 3 мг/кг/сут с пиридоксальфосфатом 20 мг/кг/сут	Без судорог на 2х противосудорожных препаратах. Жив в 8.5 лет	Dill et al ⁴⁴

6 (P1)	Ж	Финл.	1 год	Нарушение развития моторики, регрессия псих. развития, гипотония, атаксия, атетоз, э. приступы (миоклонические, тонические, психомоторные, атипичные абсансы), повторяющиеся эпилептические статусы	Гипомиелинизация, атрофия мозжечка/мозга, T2-гиперинтенсивные области поражения в белом веществе	<40 %	Гомозиг. c.506G>A; (p.Cys169Tyr)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²
7 (P2)	М	Азерб.	22 мес	Общая задержка развития, гипотония, атаксия, миоклонические э.приступы, аутистические черты	Задержка миелинизации, атрофия мозжечка, T2-гиперинтенсивность паравентрикулярного и субкортикального белого в-ва	<40 %	Гомозиг. с. 195C>G; (p.Cys65Trp)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²
8 (P3)	Ж	Финл.	С рождения	Врожденная микроцефалия, атаксия, гипотония, регрессия развития, эпилептические приступы (миоклонические, тонические, тонико-клонические), агрессия	Гипомиелинизация, атрофия мозга/мозжечка	<40 %	Гомозиг. c.506G>A; (p.Cys169Tyr)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²
9 (P4)	Ж	Финл.	В младенчестве	Нистагм, нарушение походки, атаксия, тремор, гипотония, эпилептический статус (2 эпизода), регрессия псих. развития,	Задержка миелинизации, атрофия мозга/мозжечка, T2-гиперинтенсивность кортикоспинальных путей	<40 %	Гомозиг. c.506G>A; (p.Cys169Tyr)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²
10 (P5)	Ж	Финл.	2 года	Атаксия, эпилептические приступы преимущ. миоклонического характера, регрессия псих. развития, агрессия	Неоднородность миелинизации, атрофия мозжечка	<40 %	c.506G>A; (p.Cys169Tyr) и c.665A>G; (p.Asn222Ser)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²
11 (P6)	М	Финл.	1.5 года	Нарушение развития моторики, регрессия псих. развития, эпилептические приступы (миоклонические, тонические, атонические и психомоторные), гипотония, атаксия, атетонидные движения	Гипомиелинизация, атрофия мозжечка, T2-гиперинтенсивные области поражения в белом веществе	<40 %	Гомозиг. c.506G>A; (p.Cys169Tyr)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²

12 (P7)	Ж	Турция	2 года	Общая задержка развития, регрессия, эпистатус, тонико-клонические и короткие миоклонические эпилептические приступы, атаксия, тремор	Гипомиелинизация, атрофия мозга/мозжечка, истончение мозолистого тела	<40 ¥	Гомозиг. g.3576T>G (сплайс)	Не указано	Не указано	Grapp et al ⁴²
13	М	Гана	2.5 лет	Гиперактивность, атаксия, умственная отсталость, эпилептические приступы с 4 лет (миоклонико-тонические дроб-атаки)	Распространенная гипомиелинизация, атрофия мозжечка; билатеральная кальцификация базальных ядер на КТ	Ниже предела обнаружения (41-117)	Гомозиг. c.610C>T; (p.Arg204*)	Фоллиевая к-та: перорально 4.5 мг/кг/сут плюс 9 мг в/в каждые 1-2 нед, с повышением до 5.6 мг/кг/сут перорально плюс 120 мг в/в раз в неделю	Уменьшение раздражительности и стереотипий, улучшение походки, поведения, внимания; миоклонико-тонические дроб-атаки исчезают лишь на максимальной дозе	Toelle et al ⁴⁵
14	М	Сауд. Аравия	4.5 лет	Некупируемые приступы (дроб-атаки, миоклонические подергивания), общая задержка развития, расстройство аутистического спектра	Гипомиелинизация (гиперинтенсивность субкортикального белого в-ва), атрофия мозжечка	7 (40-128)	Гомозиг. c.398C>A; (p.Pro133His)	Фоллиевая к-та: 0.75 мг/кг/сут перорально с нарастанием до 1.7 мг/кг/сут	Без приступов, со значительными улучшениями походки и социальных навыков	Al-Baradie et al ⁴⁶
15 (сиблинг пациента № 14)	Ж	Саудовская Аравия	4 года	Дроб-атаки, общая задержка развития	Гипомиелинизация (субкорт. белого в-ва, базальных ядер, внутренней капсулы), атроф. мозжечка, МРС-скан. без аномалий	11 (40-150)	Гомозиг. c.398C>A; (p.Pro133His)	Фоллиевая к-та: 2 мг/кг/сут перорально	Без приступов, явное улучшение показателей развития	Al-Baradie et al ⁴⁶
16	М	Япония	1 год	Атаксия, интенционный тремор, невнятная речь, общая задержка развития, умственная отсталость	Атрофия мозжечка, атрофия белого в-ва мозга, кальцификация субкортикального белого в-ва	Нет данных	c.374G>T; (p.Arg125Leu) и c.466T>G; (p.Trp156Gly)	Не сообщается	Не сообщается	Ohba et al ⁴⁷
17 (сиблинг пациента № 16)	Ж	Япония	2 года	Атаксия, интенционный тремор, невнятная речь, общая задержка развития, умственная отсталость	Атрофия мозжечка, кальцификация базальных ганглий и субкортикального белого вещества	Нет данных	c.374G>T; (p.Arg125Leu) и c.466T>G; (p.Trp156Gly)	Не сообщается	Не сообщается	Ohba et al ⁴⁷

18	Ж	Бельгия	9 мес	Дебют: общая задержка развития, вызывающее поведение, в 3.5 года: регрессия нервно-псих. развития, атаксия, хорея, тяж. миоклонич. эпилепсия	Диффуз. гипомиелинизация; MRS-скан: ↓ холин в белом в-ве	<1 (53-182)	c.332G>T; (p.Glu108Ter) и c.373C>T; (p.Arg125Cys)	Фолиниевая к-та: перорально 2, затем 5, затем 7 мг/кг/сут, затем в/в 6 мг/кг/сут (24 ч), затем 12 мг/кг/сут (48 ч), затем ежемесячно 20-25 мг/кг в теч. 24 ч.	Клин. состояние стабилизировалось после назначения препарата в/венно: прекратилась регрессия, улучшился зрительный контакт и контроль над эпилептическими приступами	Delmelle et al ⁴⁸
19 (сиблинг пациента № 18)	Ж	Бельгия	<31 мес	Общая задержка, затем остановка развития, миоклонические и тонические эпилептические приступы, атаксия	Гипомиелинизация	<1 (53-182)	c.332G>T; (p.Glu108Ter) и c.373C>T; (p.Arg125Cys)		Разительное улучшение при в/в введении - прекращение приступов, восст. способности ходить, улучш. миелинизации. (MPT)	Delmelle et al ⁴⁸
20	Ж	Италия	22 мес	Миоклонич. эпилептические приступы, атаксия, регрессия псих. развития, затем - генерализов. тонико-клонич. эпилептические приступы	Нет данных	Нет данных	Гомозиг. c.128A>G; (p.His43Arg)	Фолиниевая к-та: 2 мг/кг/сут перорально	Явное улучш. эписимптоматики, ↓ дозы антиэп. препаратов Жив в 33 года	Dyment et al ⁴⁹ ; Ferreira et al ⁵⁰
21 (сиблинг пациента № 20)	Ж	Италия	18 мес	Прогрессирующая атаксия, регрессия псих. развития, миоклон. эпилептические приступы, затем генерализов. тонико-клонич. эпилептические приступы	В 25 лет - обширные изменения в белом в-ве паравентрикулярной области и глубоких областей мозга с атрофией фронтальных долей и мозжечка	<10 (40-120)	Гомозиг. c.128A>G; (p.His43Arg)	Фолиниевая к-та: 2 мг/кг/сут перорально	Явное улучш. эписимптоматики, ↓ дозы антиэп. препаратов Жив в 28 лет	Dyment et al ⁴⁹ ; Ferreira et al ⁵⁰
22	Ж	Россия	1.5 года	Некупируемые эпилептические приступы, регрессия развития, прогрессирующая атаксия, полинейропатия	Симметричная гиперинтенсивность белого в-ва в режиме T2W, атрофия мозжечка; МРС: ↓ фронтального пика холина	0.5 (42-81)	Гомозиг. c.466T>G; (p.Trp156Gly)	Фолиниевая к-та: перорально 2 мг/кг/сут, затем в/мыш 4 мг/кг/сут, затем в/в 4 мг/кг/сут	Ремиссия эпилептических (отмена антиэпил. мед), улучш. показатели развития и белого в-ва (MPT). Жив в 8.5 лет	Kobayashi et al ⁵¹ , Akiyama et al ⁵²
23	Ж	Саудовская Аравия	2 года	Интенционный тремор, задержка развития речи, ум. отсталость	Симметричные области гиперинтенсивности белого в-ва, нормальные результ. МРС-сканирования	Нет данных	Гомозиг. c.665A>G; (p.Asn222Ser)	Фолиниевая к-та перорально 25 мг/сут затем 25 мг 2 p/сут	Без значительного клин. улучшения. Жив в 9.5 лет	Tabassum et al ⁵³

3.2.2 | Недостаточность дигидрофолатредуктазы (DHFR)

Недостаточность DHFR (OMIM #613839) – наследуемое по аутосомно-рецессивному типу расстройство фолатного метаболизма, распространенность которого оценивается как крайне редкая. Мутации гена *DHFR* были впервые выявлены в 2011 году двумя исследовательскими группами, представившими описание 6 пациентов (3 семей), страдавших церебральной фолатной недостаточностью, ассоциированной с мегалобластной анемией.^{61,62} После этого в научной литературе не появлялось сообщений о данном заболевании. Основные клинические признаки, описанные у пациентов – тяжелая мегалобластная анемия либо панцитопения на фоне сложной неврологической картины нарушений, включающей приобретенную микроцефалию, некупируемые эпилептические приступы, умственную отсталость, а также признаки поражения белого вещества и атрофии мозжечка и/или головного мозга на снимках мозга. Показатели в периферической крови (уровни фолата, кобаламина, гомоцистеина) оставались в норме, при этом у каждого из пациентов была выявлена тяжелая ЦФН. После назначения фолиевой кислоты было отмечено повышение уровней 5-MTHF в ликворе, улучшение контроля приступов, ослабление иных неврологических симптомов.^{61,62}

3.2.3 | Недостаточность 5,10-метенилтетрагидрофолатсинтазы (MTHFS)

Недостаточность MTHFS – генетически обусловленное расстройство метаболизма фолатов, открытое последним. MTHFS (OMIM *604197) – фермент, участвующий в преобразовании фолиевой кислоты (5-формил-ТГФ) в 5,10-метенилтетрагидрофолат (рисунок 1). 5,10-метенилтетрагидрофолат, в свою очередь, преобразуется в 5,10-метилентетрагидрофолат, являющийся прекурсором 5-MTHF, или 10-формилтетрагидрофолат, играющий важную роль в метаболизме пуринов. Группой исследователей Rodan et al.⁶³ были недавно описаны два пациента с биаллельными мутациями гена *MTHFS*. У пациентов, один из которых подвергся первичному обследованию после родов, а другой – в возрасте 3 месяцев, была выявлена микроцефалия, общая задержка развития и гипомиелинизация в тканях мозга. Уровни 5-MTHF в спинномозговой жидкости пациентов были на нижней границе нормы (~40-50 нмоль/л, референсный диапазон: 40-150). Анализ ферментной активности в культуре дермальных фибробластов одного из пациентов выявил сбой активности MTHFS и крайне высокие уровни 5-формил-ТГФ – вещества, являющегося субстратом для данного фермента. Остаются неотвеченными вопросы относительно патофизиологии данного заболевания, поскольку при нем не наблюдается снижения концентрации 5-MTHF в ликворе до уровней, свойственных родственным расстройствам фолатного метаболизма со схожим клиническим фенотипом. Rodan et al. выдвинули предположение, что, несмотря на нормальные внеклеточные уровни 5-MTHF, у пациентов у них может наблюдаться недостаток 5-MTHF внутри клеток: возможно, полиглутаматные формы 5-формил-ТГФ, скапливающиеся в клетках, ингибируют синтез 5,10-метилентетрагидрофолата ферментом SHMT (серингидроксиметилтрансферазой), что, в свою очередь, ингибирует производство 5-MTHF. Один пациент с подозрением на недостаточность MTHFS был описан ранее в публикации Scaglia и Blau⁶⁴, но авторы не привели результатов развернутого молекулярного исследования. У пациентов, описанных группой Rodan et al., было отмечено ухудшение состояния, несмотря на прием фолиевой либо фолиновой кислоты, но у одного из пациентов были отмечены признаки улучшения после назначения 5-MTHF перорально и метилкобаламина внутримышечно. Витамин B12 был назначен для того, чтобы противостоять истощению запасов метильных групп, используемых при эндогенном синтезе метилкобаламина.

3.2.4 | Недостаточность метилентетрагидрофолатдегидрогеназы (MTHFD1)

Недостаточность MTHFD1 (OMIM #617780) – редкое врожденное расстройство фолатного метаболизма, описанное на данный момент у 7 человек в 4 семьях.^{55,65,66} Клинические признаки заболевания включают мегалобластную анемию, атипичный гемолитико-уремический синдром, и тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), сопровождающиеся эпилептическими приступами, расстройством интеллекта и, в некоторых случаях, признаками нарушений на снимках мозга. Биохимические признаки включают повышение уровней гомоцистеина и метилмалоновой кислоты в тканях мозга,⁶⁵ а у некоторых из пациентов – снижение уровней 5-MTHF в ликворе.⁵⁵ У всех пациентов с этим отклонением были обнаружены биаллельные мутации гена *MTHFD1*, кодирующего трифункциональный белок, участвующий в клеточном метаболизме фолатов. Трифункциональный белок MTHFD1 выполняет роли трех ферментов, катализирующих разные реакции. Эти ферменты носят названия 5,10-

метилентетрагидрофлатдегидрогеназа, 5,10-метенилтетрагидрофлатциклогидролаза и 10-формилтетрагидрофлатсинтаза – последний фермент конденсирует формиат с тетрагидрофлатом и тем самым играет роль первичной "точки вхождения" одноуглеродных фрагментов в процесс одноуглеродного метаболизма в цитозоли клетки.^{55,67} Считается, что как мегалобластная анемия, так и тяжелый комбинированный иммунодефицит при недостаточности MTHFD1 вызываются нарушенным ядерным *de novo*- биосинтезом дезокситимидинмонофосфата (дТМФ).⁶⁷ При назначении фолиниевой кислоты (в дополнение к в/м уколам гидроксокобаламина, бетаина и профилактического назначения антибиотиков) было отмечено улучшение клинической симптоматики, в том числе, у двух пациентов, ремиссия анемии и улучшение функции лимфоцитов.^{55,66}

3.3 | Генетические заболевания, ассоциированные с ЦФН

3.3.1 | Митохондриальные заболевания

Термином "первичное митохондриальное заболевание" принято обозначать обширную группу гетерогенных врожденных нарушений метаболизма, напрямую либо косвенно нарушающих целостность либо функциональную активность митохондрий, особенно работу системы окислительного фосфорилирования.⁶⁸ Развитие ЦФН на фоне имевшегося митохондриального заболевания было впервые отмечено в 1983 году у женщины с синдромом Кернса — Сейра (KSS, OMIM #530000), при котором отмечается миопатия с разорванными красными волокнами, прогрессирующее ухудшение неврологического статуса и картина кальцификации базальных ядер на КТ-снимках мозга.⁶⁹ В последующие 35 лет было установлено, что ЦФН относительно часто встречается при первичных митохондриальных заболеваниях, хотя точные показатели распространенности неясны.⁷⁰ Наиболее часто ЦФН отмечается у пациентов с синдромом Кернса-Сейра, вызванным единичными крупными делециями в митохондриальной ДНК,⁷¹⁻⁷⁴ но обнаруживается и у пациентов с другими митохондриальными заболеваниями, в том числе с недостаточностью митохондриального комплекса I (без установленной генетической причины)^{72,75} и синдромом Альперса, вызываемым биаллельными мутациями гена *POLG*.⁷⁶ У пациентов могут наблюдаться эпилептические приступы, но при синдроме Кернса-Сейра они не являются частью типичной клинической картины, в отличие от первичных форм синдрома ЦФН, связанных с недостаточностью функции FRA или DHFR. Механизмы развития ЦФН при митохондриальных заболеваниях остаются нераскрытыми, но вряд ли причиной является исключительно сбой биоэнергетических функций, поскольку ЦФН сопровождает не все митохондриальные заболевания. Согласно одной правдоподобной гипотезе, при синдроме Кернса-Сейра накопление делеций мтДНК в клетках сосудистого сплетения приводит к потере целостности сплетения и тем самым затрудняет перенос 5-MTHF в ткани мозга.^{77,78} В недавнем исследовании у 9 пациентов была выявлена корреляция между уровнями FRA в ликворе и уровнями 5-MTHF – данный результат говорит в пользу вышеупомянутой гипотезы.¹⁶ У пациентов с синдромом Кернса-Сейра отмечен ответ на терапию фолиниевой кислотой.^{73,79} С другой стороны, несмотря на сообщения о коррекции уровней 5-MTHF в ликворе и ремиссии повреждений белого вещества, назначение фолиниевой кислоты, судя по всему, не способно прервать процесс неизбежного поражения множества систем организма при данном заболевании.⁷¹

3.3.2 | Недостаточность серина

Известно три врожденных нарушения биосинтеза L-серина – недостаточность 3-фосфоглицератдегидрогеназы (OMIM #601815), фосфосериаминотрансферазы (OMIM #610992) и фосфосеринфосфатазы (OMIM #614023).⁸⁰ Вдобавок к этому в популяции евреев-ашкеназов выявлена мутация основателя в гене *SLC1A4* (OMIM #616657), нарушающая перенос серина в ткани мозга.⁸¹ Основные клинические признаки недостаточности серина – врожденная микроцефалия, задержка послеродового роста, гипертонус (прогрессирующая спастическая тетраплегия), задержка психомоторного развития, эпилепсия и гипогонадизм. Сериновую и фолатную недостаточность связывает тот факт, что серин преобразуется в глицин ферментом SHMT2 в ходе реакции, добавляющей метиленовую группу к ТГФ, в результате чего получается 5,10-метилен-ТГФ. Данная реакция - основной источник одноуглеродных групп в процессе фолатного метаболизма. Таким образом, недостаточность серина вызывает ЦФН легкой либо умеренной степени тяжести, и при дифференциальной диагностике причин ЦФН следует учитывать возможное наличие дефектов биосинтеза либо транспорта серина.

Назначение серина совместно с глицином обычно улучшает контроль над эпилептическими приступами, но не сказывается на показателях психомоторного развития.

3.3.3 | Недостаточность дигидроптеридинредуктазы (DHPR)

Дигидроптеридинредуктаза (DHPR) - фермент, участвующий в переработке/восстановлении дигидробиоптерина в тетрагидробиоптерин - активный кофактор гидроксилаз ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина и триптофана) и синтазы азотной кислоты. DHPR также способен восстанавливать схожий по структуре дигидрофолат до тетрагидрофолата. Недостаточность DHPR (OMIM #261630) выявляется, если при неонатальном скрининге обнаруживается гиперфенилаланинемия на фоне нормального уровня птеринов и сниженной активности DHPR в сухих каплях крови. Если пациенту назначается лишь диета с ограничением фенилаланина, у него развиваются неврологические симптомы (крупноамплитудный тремор, ригидность, слюнотечение и прогрессирующее снижение когнитивных и двигательных функций) из-за нейромедиаторной недостаточности. В связи с этим терапевтическая схема, помимо диеты с ограничением фенилаланина, включает назначение леводопы, карбидопы (периферического ингибитора декарбоксилазы) и 5-гидрокситриптофана. У пациентов с недостаточностью DHPR и вторичным синдромом церебральной фолатной недостаточности отмечалась прогрессирующая кальцификация вещества головного мозга, затрагивающая базальные ядра и белое вещество. Кальцификацию можно предотвратить назначением фолиниевой кислоты.^{82,83} Гипотетической причиной развития ЦФН при этом заболевании является вероятная переориентация фермента MTHFR с производства 5-MTHF на производство BH_4 из qBH_2 в условиях недостаточности DHPR: известно, что показатели K_m фермента MTHFR одинаковы в отношении его естественного субстрата 5,10-метилентетрагидрофолата и в отношении qBH_2 .⁸²

3.3.4 | Недостаточность декарбоксилазы ароматических L-аминокислот (AADC)

При недостаточности AADC (OMIM #608643) также может развиваться вторичная ЦФН.⁸⁴ У пациентов с недостаточностью AADC отмечается выраженная сочетанная недостаточность серотонина, дофамина, норадреналина и адреналина. Согласно описаниям в научной литературе, в которой представлено более 100 случаев заболевания, обычно наступающего в младенческом возрасте, его клинические признаки включают гипотонию, общую задержку развития, двигательные расстройства (окулогирный криз, дистонию и гипокинезию) и симптомы дисфункции автономной нервной системы.⁸⁴ Недостаточность фермента нарушает процесс конверсии леводопы в дофамин, создавая избыток леводопы и приводя к повышенному задействованию фолата для метилирования леводопы. В связи с этим при низких уровнях 5-MTHF в ликворе пациентам с недостаточностью AADC рекомендуется назначать фолиниевую кислоту.⁸⁴

3.3.5 | Пиридоксин-зависимая эпилепсия

Пиридоксин-зависимая эпилепсия (ПЗЭ, OMIM #266100) возникает наиболее часто из-за мутаций гена *ALDH7A1*, кодирующего антиквитин (дегидрогеназу полуальдегида альфа-аминоадипиновой кислоты) – фермент, участвующий в цепочке реакций деградации лизина (см. обзор в Wilson et al 2019 в текущем номере *Journal of Inherited Metabolic Disease*).⁸⁵ Недостаточность антиквитина приводит к накоплению α -аминоадипин-полуальдегида (AASA) и пиперидин-6-карбоксилата (P6C). P6C вступает в реакцию конденсации с пиридоксальфосфатом, деактивируя эту активную форму витамина B6.⁸⁶ В большинстве случаев удается достичь полного контроля над приступами с помощью монотерапии пиридоксином, первая доза которого вводится в условиях доступности вспомогательной вентиляции легких, поскольку у пациентов, чувствительных к B6, может развиваться остановка дыхания. Наличие когнитивных нарушений у значительного большинства пациентов с пиридоксин-зависимой эпилепсией даже при адекватном контроле приступов, возможно, связано с накоплением токсичных промежуточных продуктов, образуемых в реакциях деградации лизина.⁸⁷ Современные терапевтические протоколы рекомендуют назначение диеты с ограничением лизина и приемом аргинина, который соревнуется с лизином за захват клетками, и витамина B6 в дозировке не более 300 мг/сутки (чтобы избежать развития периферической невропатии и других токсических эффектов B6). Было показано, что заболевание, которое изначально описывалось как "эпилепсия с ответом на фолиниевую кислоту", связано с той же аллелью, что и пиридоксин-зависимая эпилепсия – оба заболевания вызываются биаллельными мутациями гена *ALDH7A1*.⁸⁸ Остается неясным, как именно фолиниевая кислота снижает частоту приступов у таких

пациентов. Обычно таким пациентам назначают как пиридоксин, так и фолиевую кислоту, и у них редко измеряют уровни 5-MTHF в ликворе до начала терапии.⁸⁹ Мы, однако, отметили, что у некоторых пациентов старшего возраста с пиридоксин-зависимой эпилепсией уровни 5-MTHF в ликворе могут опускаться ниже границ референсных значений (неопубликованные данные нашей лаборатории – у двух сиблингов подросткового возраста с подтвержденным диагнозом ПЗЭ уровни 5-MTHF в ликворе достигали примерно половины от нижней границы референсного диапазона), следовательно, необходимо уделять внимание контролю уровней 5-MTHF и по необходимости назначать фолиевую кислоту.

4 | ПРИОБРЕТЕННАЯ ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ ФОЛАТНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

4.1 | Факторы среды и неизвестные факторы

Вероятно, список известных нам неврологических состояний, приводящих к ЦФН, пока еще неполон, поскольку у некоторых пациентов очень низкие уровни 5-MTHF в ликворе отмечаются в отсутствие какого-либо генетического диагноза. Утверждается, что аутоантитела к фолатному рецептору в ликворе пациента способны приводить к развитию ЦФН при множестве состояний – от синдрома ЦФН с дебютом в младенческом возрасте⁹⁰ до шизофрении, расстройств аутистического спектра и синдрома Ретта.⁹¹⁻⁹⁵ Результаты, на которых основываются эти утверждения, пока что не были реплицированы в независимых лабораториях. Возможно, что при некоторых неврологических состояниях небольшое снижение уровней 5-MTHF является эпифеноменом, не имеющим патофизиологической значимости. Исходя из опыта авторов, относительно часто слабовыраженный либо умеренно выраженный синдром ЦФН возникает в связи с субоптимальным уровнем фолата в крови на фоне недостатка фолатов в диете.⁹⁶ При диагностике ЦФН следует в первую очередь исключить данное распространенное состояние. Например, недостаточное потребление фолата связано с целым рядом нейropsychиатрических заболеваний,⁹⁷ а фолатная недостаточность и гипергомоцистеинемия часто отмечаются у пожилых пациентов с психическими расстройствами.

4.2 | Лекарства и ЦФН

В некоторых случаях ЦФН может развиваться в результате приема лекарственных средств. Многие лекарства в ходе естественного процесса их обезвреживания подвергаются метилированию⁹⁸, и это может послужить причиной вторичного истощения запасов фолата. 5-MTHF необходим для производства SAM (S-аденозилметионина), который используется метилтрансферазами для метилирования целого ряда субстратов, включая леводопу – препарат, применяемый при недостаточности дофамина. Долговременная терапия леводопой/карбидопой может привести к развитию вторичной фолатной недостаточности, поэтому рекомендуется назначение пациентам фолиевой кислоты.⁹⁹ При подозрении на фолатную недостаточность следует контролировать уровни 5-MTHF в ликворе. Некоторые антиэпилептические препараты, такие как фенитоин, карбамазепин, барбитураты и вальпроевая кислота, способны снижать уровни фолата¹⁰⁰⁻¹⁰² – это необходимо учитывать при назначении антиэпилептических средств для коррекции приступов при церебральной фолатной недостаточности.

Уровни фолата также могут снижать анти-фолатные онкопрепараты, например, метотрексат (ингибирует DHFR)^{103,104} и некоторые антибиотики, такие как триметоприм, оказывающий свое действие посредством ингибирования бактериального фермента DHFR.¹⁰³ Оксид азота (I) ("веселящий газ"), используемый в анестезии, также используется в рекреационных целях. Длительное либо избыточное применение препарата может привести к ингибированию фермента метионинсинтазы через деактивацию кобаламинового кофактора, вследствие чего фолат во внутриклеточном пространстве не преобразуется из формы 5-MTHF в другие формы, в соответствии с "гипотезой фолатной ловушки".¹⁰⁵ Несмотря на нормальные или даже повышенные уровни 5-MTHF, фолат при этом остается "в ловушке" вследствие неактивности метионинсинтазы и ингибирования последующих реакций, осуществление которых требует наличия разных форм фолата.

4.3 | Окислительный стресс и токсические поражения, вызывающие ЦФН

Aylett et al³¹ продемонстрировали позитивную корреляцию между уровнями 5-MTHF в СМЖ и уровнями аскорбиновой кислоты (витамин С) в ликворе. Была выдвинута гипотеза, согласно которой аскорбиновая

кислота и другие антиоксиданты защищают 5-MTHF в ликворе от распада, и, следовательно, в некоторых случаях причиной ЦФН является недостаток подобной антиоксидантной защиты и/или усиление окислительного стресса/токсичных воздействий (см. рисунок 2B). Одной из возможных причин усиления окислительного стресса является хроническая активация иммунного ответа – в связи с этим любопытно наличие сообщений об ассоциации ЦФН с повышенными уровнями неоптерина, который является маркером активации иммунного ответа.^{76,106,107} В нашей лаборатории мы отметили, что в некоторых образцах ликвора 5-MTHF быстро разлагается в ВЭЖХ-автосемплере (неопубликованные данные), несмотря на то, что 5-MTHF, содержащийся в биологических образцах, обычно считается довольно стабильным соединением.³⁴ Возможно, в некоторых образцах нарушены механизмы антиоксидантной защиты и/или в ликворе присутствуют окисляющие соединения. Такие находки могут иметь клиническое значение.

5 | АСПЕКТЫ ТЕРАПИИ: РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ И СПОСОБЫ ВВЕДЕНИЯ ФОЛАТА

5.1 | Фолат, фолиевая кислота и 5-метилтетрагидрофолат

"Фолат" – общий термин, используемый в отношении нескольких соединений, включая 5-MTHF, 5-формил-ТГФ (фолиевая кислота), 10-формил-ТГФ, 5,10-метилтен-ТГФ и ТГФ.¹⁰⁸ Следует отметить, что существующие на рынке препараты (фолиевая кислота, фолиевая кислота и 5-MTHF) различаются по своим свойствам.¹⁰⁸ В большинстве исследований терапии ЦФН была использована фолиевая кислота (во многих случаях с хорошим результатом) – на том основании, что способность тканей мозга восстанавливать фолиевую кислоту ограничена. Фолиевая кислота остается физиологически неактивной до своего преобразования в метаболически активные формы в ходе нескольких метаболических реакций, в том числе восстановления ферментом DHFR.^{108,109} Генетически обусловленные либо приобретенные отклонения в уровнях доступности фолатов могут приводить к снижению синтеза активных витамеров, вследствие чего предпочтение отдается активным формам фолата.

Фолиевая кислота преобразуется в ТГФ без помощи фермента DHFR.¹¹⁰ 5-MTHF, составляющий >90% от общего фолата плазмы,¹⁰⁸ имеет важные преимущества перед другими формами фолата, поскольку он хорошо всасывается в кишечнике и на его биодоступности не сказывается недостаточность DHFR либо MTHFR. Использование 5-MTHF также позволяет избежать возможного негативного воздействия неконвертированной фолиевой кислоты на мозг. Назначение 5-MTHF считается наиболее эффективным способом восстановления концентрации 5-MTHF в спинномозговой жидкости.¹¹¹

5.2 | Способы введения

В предыдущих разделах описаны терапевтические подходы при каждом из заболеваний фолатного транспорта и метаболизма. Приведенные данные демонстрируют широкое применение фолатной терапии при ЦФН, дающее различные результаты. Показатели неврологического развития пациентов были неудовлетворительны, за исключением случаев, в которых терапия была начата очень рано (лучшие результаты были отмечены у сиблингов, терапия которых была начата до наступления симптомов либо на ранней симптоматической стадии), в связи с чем недавно было выдвинуто предположение, что назначение фолиевой кислоты либо 5-MTHF парентерально (внутримышечно либо внутривенно) может улучшить клинический исход при лечении пациентов с различными формами ЦФН. Хотя накопленный к настоящему моменту опыт ограничен ввиду редкости генетических расстройств, приводящих к ЦФН, были получены многообещающие предварительные результаты, подчеркивающие необходимость проведения клинических исследований для оценки альтернативных путей введения фолата.^{39,48,112}

5.3 | Нежелательные явления

Насколько нам известно, на данный момент в литературе нет сообщений о развитии нежелательных явлений у пациентов с первичной церебральной фолатной недостаточностью, получавших фолиевую кислоту либо 5-MTHF, за исключением единичных наблюдений в малочисленных группах пациентов.¹¹³ С другой стороны, важно учитывать возможность развития нежелательных явлений у пациентов с описанными выше заболеваниями, получающих фолатную терапию, и осуществлять корректный мониторинг возможных симптомов токсичности. Например, фолиевая кислота, назначенная в избытке,

может действовать как конкурентный ингибитор фермента DHFR.¹¹³ Следует также учесть, что фолат в высоких дозах может вызвать значительное возбуждение нейронов.¹⁰⁰

6 | ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из настоящего обзора, различные формы фолата жизненно необходимы для осуществления множества метаболических реакций. Концентрация 5-MTHF в спинномозговой жидкости выше, чем в плазме, что говорит о важности данной формы фолата для функционирования мозга. К развитию ЦФН могут привести первичные сбои в механизмах, обеспечивающих метаболизм либо транспорт фолатов. В то же время усиливается понимание того, что ЦФН может развиваться как вторичное состояние при многих других нарушениях метаболизма, а также вследствие токсического поражения или приема лекарств. С одной стороны, длительно протекающая ЦФН может вызвать целый ряд клинических симптомов, например, аномалии белого вещества на МРТ-снимках, вызванные нарушением миелинизации, а также задержку развития и эпилептические приступы, с другой стороны, это состояние в принципе поддается терапии. В связи с этим следует подчеркнуть, что измерение уровней 5-MTHF в ликворе целесообразно при целом ряде заболеваний – с целью мониторинга состояния пациента, лучшего понимания этиологии заболевания (окислительный стресс, нарушение транспорта, нарушения одноуглеродного метаболизма, избыточная утилизация 5-MTHF организмом) и контроля фолатной терапии с использованием таких средств, как фолиниевая кислота и 5-MTHF.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы сообщают о получении грантов на исследование от детской благотворительной организации Great Ormond Street Hospital Children's Charity, исследовательского центра NIHR Great Ormond Street Hospital Biomedical Research Centre и фонда Lily Foundation.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор S.R. является редактором журналов "*Journal of Inherited Disease*" и "*JIMD Reports*".

ORCID

Simon Pope <https://orcid.org/0000-0002-2991-3722>

Shamima Rahman <https://orcid.org/0000-0003-2088-730X>

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitchell HK, Snell EE, Williams RJ. The concentration of folic acid. *J Am Chem Soc.* 1941;63:2284.
2. Hoffbrand AV. Historical review—the history of folic acid. *Br J Haematol.* 2001;113:579-589.
3. Rosenberg IH. A history of the isolation and identification of folic acid (folate). *Ann Nutr Metab.* 2012;61(3):231-235.
4. Freeman JM, Finkelstein JD, Mudd SH. Folate-responsive homocystinuria and schizophrenia. A defect in methylation due to deficient 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity. *N Engl J Med.* 1975;292(10):491-496.
5. Bottiglieri T. Folate, vitamin B12, and S-adenosylmethionine. *Psychiatr Clin North Am.* 2013;36(1):1-13.
6. Bottiglieri T. S-Adenosyl-L-methionine (SAME): from the bench to the bedside—molecular basis of a pleiotropic molecule. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(5):1151S-1157S.
7. Visentin M, Diop-Bove N, Zhao R, Goldman ID. The intestinal absorption of folates. *Annu Rev Physiol.* 2014;76:251-274.
8. Darcy-Vrillon B, Selhub J, Rosenberg IH. Analysis of sequential events in intestinal absorption of folylpolyglutamate. *Am J Physiol.* 1988;255:G361-G366.

9. Halsted CH, Ling EH, Luthi-Carter R, Villanueva JA, Gardner JM, Coyle JT. Folylpoly-gamma-glutamate carboxypeptidase from pig jejunum. Molecular characterization and relation to glutamate carboxypeptidase II. *J Biol Chem*. 1998;273(32): 20417-20424.
10. Matherly LH, Hou Z. Structure and function of the reduced folate carrier a paradigm of a major facilitator superfamily mammalian nutrient transporter. *Vitam Horm*. 2008;79:145-184.
11. Qiu A, Jansen M, Sakaris A et al (2006) Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell*;127(5):917-28.
12. Zhao R, Goldman ID. Folate and thiamine transporters mediated by facilitative carriers (SLC19A1-3 and SLC46A1) and folate receptors. *Mol Aspects Med*. 2013;34(2-3):373-385.
13. Zhao R, Aluri S, Goldman ID. The proton-coupled folate transporter (PCFT-SLC46A1) and the syndrome of systemic and cerebral folate deficiency of infancy: hereditary folate malabsorption. *Mol Aspects Med*. 2017;53:57-72.
14. Chen C, Ke J, Zhou XE, et al. Structural basis for molecular recognition of folic acid by folate receptors. *Nature*. 2013;500 (7463):486-489.
15. Zhao R, Diop-Bove N, Visentin M, et al. Mechanisms of membrane transport of folates into cells and across epithelia. *Annu Rev Nutr*. 2011;31:177-201.
16. Grapp M, Wrede A, Schweizer M, et al. Choroid plexus transcytosis and exosome shuttling deliver folate into brain parenchyma. *Nat Commun*. 2013;4:2123.
17. Kikuchi G, Motokawa Y, Yoshida T, et al. Glycine cleavage system: reaction mechanism, physiological significance, and hyperglycinemia. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2008;84 (7):246-263.
18. Pai YJ, Leung KY, Savery D, et al. Glycine decarboxylase deficiency causes neural tube defects and features of non-ketotic hyperglycinemia in mice. *Nat Commun*. 2015;6:6388.
19. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inherit Metab Dis*. 2011;34(1):75-81.
20. Reynolds EH, Rothfeld P, Pincus JH (1973) Neurological disease associated with folate deficiency. *2(5863):398-400*.
21. Botez MI, Bachevalier J. The blood-brain barrier and folate deficiency. *Am J Clin Nutr*. 1981;34(9):1725-1730.
22. Ramaekers VT, Blau N. Cerebral folate deficiency. *Dev Med Child Neurol*. 2004;46(12):843-851.
23. Sobczyk nska-Malefora A, Harrington DJ. Laboratory assessment of folate (vitamin B(9)) status. *J Clin Pathol*. 2018;71(11): 949-956.
24. Arning E, Bottiglieri T. Quantitation of 5-Methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol*. 2016;1378: 175-182.
25. Asante I, Pei H, Zhou E, et al. Simultaneous quantitation of folates, flavins and B(6) metabolites in human plasma by LCMS/MS assay: applications in colorectal cancer. *J Pharm Biomed Anal*. 2018;158:66-73.
26. Kiekens F, Van Daele J, Blancquaert D, et al. A validated ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the selective analysis of free and total folate in plasma and red blood cells. *J Chromatogr A*. 2015;1398:20-28.
27. Meadows S. Multiplex measurement of serum folate Vitamers by UPLC-MS/MS. *Methods Mol Biol*. 2017;1546:245-256.
28. Nandania J, Kokkonen M, Euro L, Velagapudi V. Simultaneous measurement of folate cycle intermediates in different biological matrices using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018;1092: 168-178.
29. Schittmayer M, Birner-Gruenberger R, Zamboni N. Quantification of cellular folate species by LC-MS after stabilization by derivatization. *Anal Chem*. 2018;90(12):7349-7356.

30. Akiyama T, Tada H, Shiokawa T, et al. Total folate and 5-methyltetrahydrofolate in the cerebrospinal fluid of children: correlation and reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53 (12):2009-2014.
31. Aylett SB, Neergheen V, Hargreaves IP, et al. Levels of 5-methyltetrahydrofolate and ascorbic acid in cerebrospinal fluid are correlated: implications for the accelerated degradation of folate by reactive oxygen species. *Neurochem Int*. 2013;63(8): 750-755.
32. Opladen T, Ramaekers VT, Heimann G, Blau N. Analysis of 5-methyltetrahydrofolate in serum of healthy children. *Mol Genet Metab*. 2006;87(1):61-65.
33. Ormazabal A, García-Cazorla A, Pérez-Dueñas B, et al. Determination of 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid of paediatric patients: reference values for a paediatric population. *Clin Chim Acta*. 2006;371(1-2):159-162.
34. Verbeek MM, Blom AM, Wevers RA, Lagerwerf AJ, van de Geer J, Willemsen MAAP. Technical and biochemical factors affecting cerebrospinal fluid 5-MTHF, biopterin and neopterin concentrations. *Mol Genet Metab*. 2008;95(3):127-132.
35. Batllori M, Molero-Luis M, Ormazabal A, et al. Analysis of human cerebrospinal fluid monoamines and their cofactors by HPLC. *Nat Protoc*. 2017;12(11):2359-2375.
36. Smith DE, Smulders YM, Blom HJ, et al. Determinants of the essential one-carbon metabolism metabolites, homocysteine, Sadenosylmethionine, S-adenosylhomocysteine and folate, in cerebrospinal fluid. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(9):1641-1647.
37. Wolf G. Identification of proton-coupled high-affinity human intestinal folate transporter mutated in human hereditary familial folate malabsorption. *Nutr Rev*. 2007;65(12 Pt 1): 554-557.
38. Kronn D, Goldman ID. Hereditary folate malabsorption. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle, WA: University of Washington; 2017.
39. Manea E, Gissen P, Pope S, Heales SJ, Batzios S. Role of intramuscular levofolate administration in the treatment of hereditary folate malabsorption: report of three cases. *JIMD Rep*. 2018; 39:7-12
40. Steinfeld R, Grapp M, Kraetzner R, et al. Folate receptor alpha defect causes cerebral folate transport deficiency: a treatable neurodegenerative disorder associated with disturbed myelin metabolism. *Am J Hum Genet*. 2009;85(3):354-363.
41. Cario H, Bode H, Debatin KM, et al. Congenital null mutations of the FOLR1 gene: a progressive neurologic disease and its treatment. *Neurology*. 2009;73(24):2127-2129.
42. Grapp M, Just IA, Linnankivi T, et al. Molecular characterization of folate receptor 1 mutations delineates cerebral folate transport deficiency. *Brain*. 2012;135(Pt 7):2022-2031.
43. Pérez-Dueñas B, Toma C, Ormazábal A, et al. Progressive ataxia and myoclonic epilepsy in a patient with a homozygous mutation in the FOLR1 gene. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(6):795-802.
44. Dill P, Schneider J, Weber P, et al. Pyridoxal phosphateresponsive seizures in a patient with cerebral folate deficiency (CFD) and congenital deafness with labyrinthine aplasia, microtia and microdontia (LAMM). *Mol Genet Metab*. 2011;104(3): 362-368.
45. Toelle SP, Wille D, Schmitt B, et al. Sensory stimulus-sensitive drop attacks and basal ganglia calcification: new findings in a patient with FOLR1 deficiency. *Epileptic Disord*. 2014;16(1): 88-92.
46. Al-Baradie RS, Chaudhary MW. Diagnosis and management of cerebral folate deficiency. A form of folinic acid-responsive seizures. *Neurosciences (Riyadh)*. 2014;19(4):312-316.
47. Ohba C, Osaka H, Iai M, et al. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. *Neurogenetics*. 2014;14(3-4):225-232.

48. Delmelle F, Thöny B, Clapuyt P, Blau N, Nassogne MC. Neurological improvement following intravenous high-dose folinic acid for cerebral folate transporter deficiency caused by FOLR-1 mutation. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016;20(5):709-713.
49. Dymment DA, Tetreault M, Beaulieu CL, et al. Whole-exome sequencing broadens the phenotypic spectrum of rare pediatric epilepsy: a retrospective study. *Clin Genet*. 2015;88(1):34-40.
50. Ferreira P, Luco SM, Sawyer SL, et al. Late diagnosis of cerebral folate deficiency: fewer seizures with folinic acid in adult siblings. *Neurol Genet*. 2015;2(1):e38.
51. Kobayashi Y, Tohyama J, Akiyama T, et al. Severe leukoencephalopathy with cortical involvement and peripheral neuropathy due to FOLR1 deficiency. *Brain Dev*. 2017;39(3): 266-270.
52. Akiyama M, Akiyama T, Kanamaru K, et al. Determination of CSF 5-methyltetrahydrofolate in children and its application for defects of folate transport and metabolism. *Clin Chim Acta*. 2016;460:120-125.
53. Tabassum S, AlAsmari A, AlSaman AA. Widening the phenotypic spectrum—non epileptic presentation of folate transporter deficiency. *J Clin Neurosci*. 2019;59:341-344.
54. Molero-Luis M, Serrano M, O'Callaghan MM, et al. Clinical, etiological and therapeutic aspects of cerebral folate deficiency. *Expert Rev Neurother*. 2015;15(7):793-802.
55. Burda P, Kuster A, Hjalmarsen O, et al. Characterization and review of MTHFD1 deficiency: four new patients, cellular delineation and response to folic and folinic acid treatment. *J Inherit Metab Dis*. 2015a;38(5):863-872.
56. Burda P, Schäfer A, Suormala T, et al. Insights into severe 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: molecular genetic and enzymatic characterization of 76 patients. *Hum Mutat*. 2015b;36(6):611-621.
57. Watkins D, Rosenblatt DS. Update and new concepts in vitamin responsive disorders of folate transport and metabolism. *J Inherit Metab Dis*. 2012;35(4):665-670.
58. Skovby F. Disorders of sulfur amino acids. In: Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer; 2003:243-260.
59. Ormazábal A, Perez-Dueñas B, al SC e. Folate analysis for the differential diagnosis of profound cerebrospinal fluid folate deficiency. *Clin Biochem*. 2011;44(8-9):719-721.
60. Dean L. Methylenetetrahydrofolate Reductase Deficiency. In Pratt V et al. in *Medical Genetic Summaries* (Internet). Bethesda (MD) 2012.
61. Banka S, Blom HJ, Walter J, et al. Identification and characterization of an inborn error of metabolism caused by dihydrofolate reductase deficiency. *Am J Hum Genet*. 2011;88(2):216-225.
62. Cario H, Smith DE, Blom H, et al. Dihydrofolate reductase deficiency due to a homozygous DHFR mutation causes megaloblastic anemia and cerebral folate deficiency leading to severe neurologic disease. *Am J Hum Genet*. 2011;88(2):226-231.
63. Rodan LH, Qi W, Ducker GS, et al. 5,10-methylenetetrahydrofolate synthetase deficiency causes a neurometabolic disorder associated with microcephaly, epilepsy, and cerebral hypomyelination. *Mol Genet Metab*. 2018;125(1-2): 118-126.
64. Scaglia F, Blau N. *Disorders of Folate Metabolism and Transport*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2013:167-178.
65. Watkins D, Schwartzentruber JA, Ganesh J, et al. Novel inborn error of folate metabolism: identification by exome capture and sequencing of mutations in the MTHFD1 gene in a single proband. *J Med Genet*. 2011;48(9):590-592.
66. Ramakrishnan KA, Pengelly RJ, Gao Y, et al. Precision molecular diagnosis defines specific therapy in combined immunodeficiency with megaloblastic Anemia secondary to MTHFD1 deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(6):1160-1166.
67. Field MS, Kamynina E, Watkins D, et al. Human mutations in methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 impair nuclear de novo thymidylate biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112(2):400-405.

68. Rahman J, Rahman S. Mitochondrial medicine in the omics era. *Lancet*. 2018;391(10139):2560-2574.
69. Allen RJ, DiMauro S, Coulter DL, Papadimitriou A, Rothenberg SP. Kearns-Sayre syndrome with reduced plasma and cerebrospinal fluid folate. *Ann Neurol*. 1983;13(6):679-682.
70. Hyland K, Shoffner J, Heales SJ. Cerebral folate deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(5):563-570.
71. Broomfield A, Sweeney MG, Woodward CE, et al. Paediatric single mitochondrial DNA deletion disorders: an overlapping spectrum of disease. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(3):445-457.
72. Garcia-Cazorla A, Quadros EV, Nascimento A, et al. Mitochondrial diseases associated with cerebral folate deficiency. *Neurology*. 2008;70(16):1360-1362.
73. Pineda M, Ormazabal A, López-Gallardo E, et al. Cerebral folate deficiency and leukoencephalopathy caused by mitochondrial DNA deletion. *Ann Neurol*. 2006;59(2):394-398.
74. Serrano M, García-Silva MT, Martín-Hernández E, et al. Kearns-Sayre syndrome: cerebral folate deficiency, MRI findings and new cerebrospinal fluid biochemical features. *Mitochondrion*. 2010;10(5):429-432.
75. Ramaekers VT, Weis J, Sequeira JM, Quadros E, Blau N. Mitochondrial complex I encephalomyopathy and cerebral 5-methyltetrahydrofolate deficiency. *Neuropediatrics*. 2007b;38 (4):184-187.
76. Hasselmann O, Blau N, Ramaekers VT, Quadros EV, Sequeira JM, Weissert M. Cerebral folate deficiency and CNS inflammatory markers in Alpers disease. *Mol Genet Metab*. 2010; 99(1):58-61.
77. Spector R, Johanson CE. Choroid plexus failure in the Kearns-Sayre syndrome. *Cerebrospinal Fluid Res*. 2010;7:14.
78. Tanji K, Schon EA, DiMauro S, Bonilla E. Kearns-Sayre syndrome: oncocytic transformation of choroids plexus epithelium. *J Neurol Sci*. 2000;178(1):29-36.
79. Quijada-Fraile P, O'Callaghan M, Martín-Hernández E, et al. Follow-up of folinic acid supplementation for patients with cerebral folate deficiency and Kearns-Sayre syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9(1):3.
80. Van der Crabben SN, Verhoeven-Duif NM, Brilstra EH, et al. An update on serine deficiency disorders. *J Inherit Metab Dis*. 2013; 36(4):613-619.
81. Damseh N, Simonin A, Jallas C, et al. Mutations in SLC1A4, encoding the brain serine transporter, are associated with developmental delay, microcephaly and hypomyelination. *J Med Genet*. 2015;52:541-547.
82. Irons M, Levy HL, O'Flynn ME, et al. Folinic acid therapy in treatment of dihydropteridine reductase deficiency. *J Pediatr*. 1987;110(1):61-67.
83. Woody RC, Brewster MA, Glasier C. Progressive intracranial calcification in dihydropteridine reductase deficiency prior to folinic acid therapy. *Neurology*. 1989;39(5):673-675.
84. Wassenberg T, Molero-Luis M, Jeltsch K, et al. Consensus guideline for the diagnosis and treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) deficiency. *Orphanet J Rare Dis*. 2017;12(1):12.
85. Wilson M et al. Disorders affecting vitamin B6 metabolism. *J Inherit Metab Dis*. 2019 (Epub ahead of print).
86. Mills PB, Struys E, Jakobs C, et al. Mutations in antiquitin in individuals with pyridoxine-dependent seizures. *Nat Med*. 2006; 12(3):307-309.
87. Van Karnebeek CD, Tiebout SA, Niermeijer J, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy: an expanding clinical spectrum. *Pediatr Neurol*. 2016;59:6-12.
88. Gallagher RC, Van Hove JL, Scharer G, et al. Folinic acid-responsive seizures are identical to pyridoxine-dependent epilepsy. *Ann Neurol*. 2009;65(5):550-556.
89. Stockler S, Plecko B, Gospe SM Jr, et al. Pyridoxine dependent epilepsy and antiquitin deficiency: clinical and molecular characteristics and recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Mol Genet Metab*. 2011;104(1-2):48-60.
90. Ramaekers VT, Rothenberg SP, Sequeira JM, et al. Autoantibodies to folate receptors in the cerebral folate deficiency syndrome. *N Engl J Med*. 2005;352(19):1985-1991.

91. Frye RE, Sequeira JM, Quadros EV, James SJ, Rossignol DA. Cerebral folate receptor autoantibodies in autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry*. 2013;18(3):369-381.
92. Moretti P, Peters SU, Del Gaudio D, et al. Brief report: autistic symptoms, developmental regression, mental retardation, epilepsy, and dyskinesias in CNS folate deficiency. *J Autism Dev Disord*. 2008;38(6):1170-1177.
93. Ramaekers VT, Thöny B, Sequeira JM, et al. Folinic acid treatment for schizophrenia associated with folate receptor autoantibodies. *Mol Genet Metab*. 2014;113(4):307-314.
94. Ramaekers VT, Sequeira JM, Artuch R, et al. Folate receptor autoantibodies and spinal fluid 5-methyltetrahydrofolate deficiency in Rett syndrome. *Neuropediatrics*. 2007c;38(4):179-183.
95. Ramaekers VT, Hansen SI, Holm J, et al. Reduced folate transport to the CNS in female Rett patients. *Neurology*. 2003;61(4): 506-515.
96. Pérez-Dueñas B, Ormazábal A, Toma C, et al. Cerebral folate deficiency syndromes in childhood: clinical, analytical, and etiologic aspects. *Arch Neurol*. 2011;68(5):615-621.
97. Morris MS. Folate, homocysteine, and neurological function. *Nutr Clin Care*. 2002;5(3):124-132.
98. Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2010;154(2):103-116.
99. Surtees R, Hyland K. L-3,4-dihydroxyphenylalanine (levodopa) lowers central nervous system S-adenosylmethionine concentrations in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990;53(7): 569-572.
100. Morrell MJ. Folic acid and epilepsy. *Epilepsy Curr*. 2002;2(2): 31-34.
101. Opladen T, Blau N, Ramaekers VT. Effect of antiepileptic drugs and reactive oxygen species on folate receptor 1 (FOLR1)-dependent 5-methyltetrahydrofolate transport. *Mol Genet Metab*. 2010;101(1):48-54.
102. Wegner C, Nau H. Alteration of embryonic folate metabolism by valproic acid during organogenesis: implications for mechanism of teratogenesis. *Neurology*. 1992;42(4 Suppl 5):17-24.
103. Lambie DG, Johnson RH. Drugs and folate metabolism. *Drugs*. 1985;30(2):145-155.
104. Vezmar S, Schüsseler P, Becker A, Bode U, Jaehde U. Methotrexate-associated alterations of the folate and methyl-transfer pathway in the CSF of ALL patients with and without symptoms of neurotoxicity. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;52(1):26-32.
105. Lumb M, Deacon R, Perry J, et al. The effect of nitrous oxide inactivation of vitamin B12 on rat hepatic folate. Implications for the methylfolate-trap hypothesis. *Biochem J*. 1980;186(3): 933-936.
106. Blau N, Bonafé L, Krägeloh-Mann I, et al. Cerebrospinal fluid pterins and folates in Aicardi-Goutières syndrome: a new phenotype. *Neurology*. 2003;61(5):642-647.
107. Papandreou A, Rahman S, Fratter C, et al. Spectrum of movement disorders and neurotransmitter abnormalities in paediatric POLG disease. *J Inherit Metab Dis*. 2018;41(6):1275-1283.
108. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica*. 2014;44(5):480-488.
109. Forssen KM, Jagerstad MI, Wigertz K, et al. Foliates and dairy products: a critical update. *J am Coll Nutr*. 2000;19(2 Suppl): 100S-110S.
110. Rajagopalan PT, Zhang Z, McCourt L, et al. Interaction of dihydrofolate reductase with methotrexate: ensemble and single-molecule kinetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(21): 13481-13486
111. Knowles L, Morris AA, Walter JH. Treatment with mefolinate (5-methyltetrahydrofolate), but not folic acid or Folinic acid, leads to measurable 5-Methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid in methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *JIMD Rep*. 2016;29:103-107.
112. Torres A, Newton SA, Crompton B, et al. CSF 5-Methyltetrahydrofolate serial monitoring to guide treatment of congenital folate malabsorption due to proton-coupled folate transporter (PCFT) deficiency. *JIMD Rep*. 2015;24: 91-96.

113. Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol.* 2006;5(11):949-960.
114. Batllori M, Molero-Luis M, Ormazabal A, et al. Cerebrospinal fluid monoamines, pterins, and folate in patients with mitochondrial diseases: systematic review and hospital experience. *J Inherit Metab Dis.* 2018;41(6):1147-1158.
115. Smith I, Hyland K, Kendall B. Clinical role of pteridine therapy in tetrahydrobiopterin deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 1985;8 (Suppl 1):39-45.
116. Daly S, Mills JL, Molloy AM, et al. Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects. *Lancet.* 1997;350(9092):1666-1669.
117. Becker M, Axelrod DJ, Oyesanmi O, et al. Hematologic problems in psychosomatic medicine. *Psychiatr Clin North Am.* 2007; 30(4):739-759.
118. Chen L, Ducker GS, Lu W, Teng X, Rabinowitz JD. An LC-MS chemical derivatization method for the measurement of five different one-carbon states of cellular tetrahydrofolate. *Anal Bioanal Chem.* 2017;409(25):5955-5964.
119. Ramaekers VT, Blau N, Sequeira JM, Nassogne MC, Quadros E. Folate receptor autoimmunity and cerebral folate deficiency in low-functioning autism with neurological deficits. *Neuropediatrics.* 2007a;38(6):276-281.

Формат цитирования статьи: Pope S, Artuch R, Heales S, Rahman S. Cerebral folate deficiency: Analytical tests and differential diagnosis. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42:655–672. <https://doi.org/10.1002/jimd.12092>