

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Фолиевая кислота ингибирует перенос 5-метилтетрагидрофолата через гематоликворный барьер: отчет о клинико-биохимическом исследовании двух пациентов

Tomoyuki Akiyama^{1,2}Naohiro Yamamoto³Tomohiko Ishihara⁶| Ichiro Kuki³| Yumi Yamada^{5,6}| Yuuya Hatano⁶| Kiyohiro Kim^{3,4}| Kazuya Igarashi⁵| Katsuhiko Kobayashi^{1,2}

¹ Отделение детской неврологии, Больница Окаямского университета, Окаяма, Япония

² Отделение детской неврологии, Высшая школа медицины, стоматологии и фармакологии при Окаямском университете, Окаяма, Япония

³ Отделение детской неврологии, Больница общего профиля города Осака, Осака, Япония

⁴ Отделение детской неврологии, Хиогский префектурный медицинский центр общего профиля в городе Амагаки, префектура Хиого, Япония

⁵ Отделение неврологии, Больница Ниси-Ниигата Тюо Национальной больницы организации, Ниигата, Япония

⁶ Отделение неврологии, Институт исследований мозга, Ниигатский университет, Ниигата, Япония

Адрес для корреспонденции:

Tomoyuki Akiyama / Томоюки Акияма, Отделение детской неврологии, Высшая школа медицины, стоматологии и фармакологии при Окаямском университете, Окаяма, 2-5-1, Сикататё, район Кита-ку, Окаяма, 700-8558, Япония). Email: takiyama@okayama-u.ac.jp

Информация о финансировании:

Японское общество содействия науке, код гранта/награды: JP 21K07798; Министерство здравоохранения, труда и благосостояния, код гранта/награды: 21FC1015

Редактор, ответственный за

переписку: Nenad Blau (Ненад Блау)

Русский перевод: Тимеев Артем

Геннадьевич, Екатеринбург, 9 ноября 2022, cukettle@gmail.com

Аннотация

Цель: При церебральной фолатной недостаточности (ЦФН) рекомендуется избегать назначения фолиевой кислоты (ФК), поскольку в теории фолиевая кислота способна ингибировать перенос 5-метилтетрагидрофолиевой кислоты (5MTHF) через гематоликворный барьер в спинномозговую жидкость (СМЖ). Мы представляем результаты клинико-биохимического исследования двух пациентов с ЦФН, говорящие в поддержку данной гипотезы.

Методы: Мы исследовали уровни 5MTHF в СМЖ и сыворотке крови у пациента с синдромом Кернса-Сейра (СКС) и у пациента, являющегося носителем гомозиготного полиморфизма С667Т гена *MTHFR*, как перед назначением им фолата в качестве супплементации, так и в ходе получения этой терапии. Для оценки концентраций 5MTHF мы также проанализировали образцы спинномозговой жидкости и сыворотки крови, взятые у пациентов детского возраста, не получавших супплементации фолатом.

Результаты: У обоих пациентов перед началом терапии отмечались сниженные значения 5MTHF в СМЖ, и назначение фолиевой кислоты в высокой дозировке не привело к нормализации значений. При терапии фолиевой кислотой наблюдалась диссоциация между общим содержанием фолата и концентрациями 5MTHF в сыворотке, что было сочтено последствием присутствия в организме неметаболизированной фолиевой кислоты. Добавление фолиевой кислоты не привело к улучшению сниженных показателей 5MTHF в СМЖ у пациента с синдромом Кернса-Сейра, в то время как прекращение приема фолиевой кислоты вызвало нормализацию уровней 5MTHF в СМЖ. У пациента, гомозиготного по генотипу С667Т гена *MTHFR*, минимизация дозировки фолиевой кислоты привела к нормализации уровня 5MTHF в СМЖ и к повышению отношения «концентрация 5MTHF в спинномозговой жидкости/концентрация 5MTHF в сыворотке».

Заключение: Полученные нами результаты позволяют предположить, что избыточная супплементация фолиевой кислотой нарушила перенос 5MTHF через гематоликворный барьер. При терапии церебральной фолатной недостаточности назначение фолиевой кислоты или 5MTHF (в случаях нарушенного синтеза 5MTHF) более предпочтительно, нежели использование фолиевой кислоты. Также представлены референсные значения концентрации 5MTHF в СМЖ, полученные при анализе данных о 600 пациентах детского возраста.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 5-формилтетрагидрофолиевая кислота, церебральная фолатная недостаточность, фолатный рецептор 1, фолиевая кислота, синдром Кернса-Сейра, недостаточность метилтетрагидрофолатредуктазы

1 ВВЕДЕНИЕ

Фолатные соединения (фолаты) служат донорами одноуглеродных групп в ходе химических реакций, катализируемых ферментами, а также играют важнейшую роль в пуриновом и тимидилатном биосинтезе и в метилировании дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).[1] Фолиевая кислота (ФК), часто применяемая для обогащения пищевых продуктов и в составе пищевых добавок, представляет собой биологически неактивную форму фолата, превращающуюся в активный кофактор в ходе реакции восстановления, катализируемой дигидрофолатредуктазой (DHFR) (рисунок 1). В нормальном состоянии транспортной формой фолата, поступающей в ткани мозга, является 5-метилтетрагидрофолиевая кислота (5MTHF),[1] она же является основной формой фолата в сыворотке крови и в спинномозговой жидкости (СМЖ).[1-3]

Церебральная фолатная недостаточность (ЦФН) – состояние, при котором в тканях мозга истощены запасы 5MTHF. Недостаточное содержание 5MTHF в тканях мозга может привести к задержке нервно-психического развития, регрессии навыков, полученных в процессе развития, к развитию эпилептических приступов, возникновению психиатрических симптомов, и развитию лейкоэнцефалопатии. Причиной развития ЦФН может быть нарушенный перенос 5MTHF через гематоликворный барьер или наличие периферической недостаточности 5MTHF. Нарушение транспорта 5MTHF в СМЖ было отмечено при нескольких заболеваниях, в том числе при недостаточности функции фолатного рецептора 1 (FR1), вызываемой мутациями гена FOLR1,[4] и при синдроме Кернса-Сейра (СКС).[5] Периферическая недостаточность 5MTHF возникает при диете с недостатком фолатов, при сниженной абсорбции фолатов в кишечнике, и при наличии врожденных дефектов фолатного метаболизма, нарушающих биосинтез 5MTHF, в том числе при недостаточности метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*).

Терапия при ЦФН, вызванной нарушением транспорта 5MTHF в СМЖ, преимущественно заключается в назначении фолиевой кислоты (5-формилтетрагидрофолиевой кислоты) для повышения концентрации 5MTHF в ЦФН.[4,6-8] Применение *фолиевой* кислоты при этом состоянии настоятельно не рекомендуется, поскольку это может привести к усугублению недостатка 5MTHF в СМЖ из-за конкурентного ингибирования транспорта 5MTHF.[1,9,10] Из таких же соображений проистекает совет избегать назначения фолиевой кислоты при недостаточности *MTHFR*,[11] что отражено в последних рекомендациях.[12] Предполагаемый механизм представляется логичным, однако в поддержку данной гипотезы собрано малое количество клиничко-биохимических данных, поскольку у пациентов, получающих терапию высокими дозами фолиевой кислоты, редко берут пробы спинномозговой жидкости.

В настоящем исследовании мы решили представить два клинических случая, при которых, как мы полагаем, назначение высоких доз фолиевой кислоты привело к нарушению переноса 5MTHF через гематоэнцефалический барьер. Мы также представили обновленные референсные значения концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости, рассчитанные в нашей лаборатории на основании данных о 600 пациентах детского возраста.

КРАТКО:

Результаты клиничко-биохимических исследований наших пациентов с церебральной фолатной недостаточностью позволяют предположить, что избыточная супплементация фолиевой кислотой (ФК) нарушает транспорт 5-метилтетрагидрофолиевой кислоты через гематоликворный барьер, и говорят в поддержку идеи о том, что при этом заболевании не следует назначать высокие дозы фолиевой кислоты.

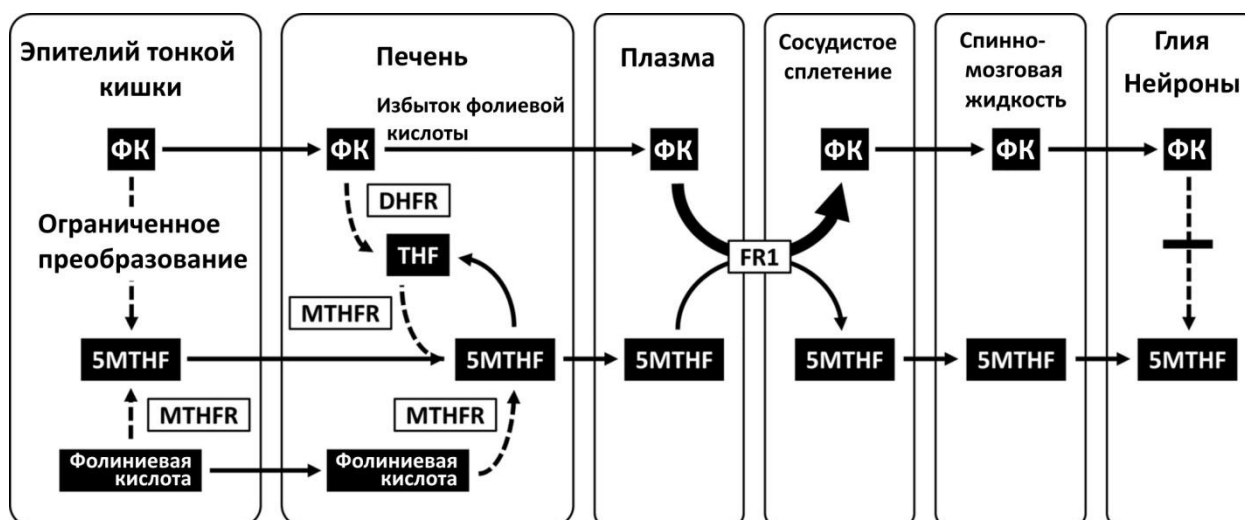


Рисунок 1. Перенос фолатных соединений из кишечника в ткани мозга и конкурентное ингибирование транспорта 5MTHF фолиевой кислотой. Лишь ограниченное количество фолиевой кислоты преобразуется в 5MTHF в кишечнике; по большей части преобразование протекает в тканях печени с участием фермента DHFR, который, однако, обладает сниженной активностью в организме человека. Фолиевая кислота, напротив, с высокой степенью эффективности преобразуется в 5MTHF в тканях кишечника и печени. Если фолиевая кислота поступает в организм с избытком, в печени не происходит её полного восстановления ферментом DHFR, и в плазме появляется неметаболизированная фолиевая кислота. Поскольку аффинность фолиевой кислоты в отношении фолатного рецептора 1, экспрессируемого клетками сосудистого сплетения, выше, чем аффинность 5MTHF, она может выступать конкурентным ингибитором переноса 5MTHF из плазмы в спинномозговую жидкость. Более того, в тканях мозга невозможно эффективное преобразование фолиевой кислоты в 5MTHF из-за крайне низкой активности фермента DHFR. Таким образом, избыточное потребление фолиевой кислоты может снизить эффективность поступления 5MTHF в ткани мозга, в отличие от супплементации фолиевой кислотой. Пунктирными линиями обозначены превращения, требующие более одной ферментно-катализируемой реакции. 5MTHF, 5-метилтетрагидрофолиевая кислота; СМЖ, спинномозговая жидкость; DHFR, дигидрофолатредуктаза; FA, фолиевая кислота; FR1, фолатный рецептор 1; MTHFR, метилтетрагидрофолатредуктаза; THF, тетрагидрофолат.

2 ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ

2.1 Пациенты

Мы включили в исследование пациентку детского возраста с синдромом Кернса-Сейра, получавшую сначала фолиевую, а затем фолиевую кислоту в ходе лечения в Больнице общего профиля города Осака, а также взрослого пациента, гомозиготного по полиморфизму C667T гена *MTHFR* (rs1801133, NM_005957.5:c.665C>T, NP_005948.3:p.Ala222Val), получавшего фолиевую кислоту в Больнице Ниси-Ниигата Тюо Национальной больничной организации. Обоим пациентам была проведена люмбальная пункция для определения фолатного статуса в СМЖ до и после начала терапии. Исследование было одобрено комитетом по этике при больнице Окаямского университета (одобрение #1604-009) и осуществлено в согласии с положениями Хельсинской декларации. Перед началом процедуры было получено информированное согласие в письменной форме от пациентов, их опекунов, либо от взрослых членов семьи.

2.2 Пациентка с синдромом Кернса-Сейра

У пациентки детского возраста при поступлении наблюдалась полная атриовентрикулярная блокада, внешняя офтальмоплегия и пигментный ретинит. Диагноз синдрома Кернса-Сейра был поставлен на основании повышенных уровней белка и лактата в СМЖ, наличия характерных аномалий на МРТ-снимках, результатов исследования мышечной ткани, указывающих на наличие патологии, наблюдающейся при митохондриальных заболеваниях, а также крупной единичной делеции митохондриальной ДНК, обнаруженной в мышечной ткани. Пациентка начала получать терапию L-карнитином, коферментом Q10, и фолиевой кислотой.

Подробные результаты анализов концентрации 5MTHF и референсные значения концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости, рассчитанные в нашей лаборатории по данным 600 пациентов детского возраста, приведены в дополнительных материалах. Значения концентрации 5MTHF и общего содержания фолата в сыворотке и СМЖ пациентки с синдромом Кернса-Сейра отражены в рисунке 2А и в таблице S2. Перед назначением фолиевой кислоты у пациента была отмечена крайне низкая концентрация 5MTHF в СМЖ (3.9 нмоль/л). Отношение концентрации 5MTHF в СМЖ к общему фолату в сыворотке также было снижено ($3.9/16.0 = 0.24$, референсный диапазон: 1.1–4.6; [13] 1.1–4.6, наши данные приведены в дополнительных материалах), что указывало на замедленный перенос 5MTHF через гематоликворный барьер. При супплементации фолиевой кислотой в дозировке 20 мг/сутки концентрация 5MTHF в СМЖ повысилась, но не достигла нормального диапазона (26.8–83.2 нмоль/л; наши данные приведены в дополнительных материалах), несмотря на крайне высокую концентрацию (9062 нмоль/л) общего фолата в сыворотке. Добавление фолиевой кислоты в дозировке 25 мг/сутки никак не помогло повысить уровень 5MTHF в спинномозговой жидкости. При отмене фолиевой кислоты, наконец, удалось добиться нормализации уровня 5MTHF в СМЖ, даже при получении пациентом более низкой дозы (12.5 мг/сутки) фолиевой кислоты. Во время терапии фолиевой кислотой была отмечена значительная диссоциация между уровнями 5MTHF и общего фолата в сыворотке крови и между уровнями 5MTHF и общего фолата в СМЖ, как показано на рисунке 2А с помощью вертикальных стрелок.

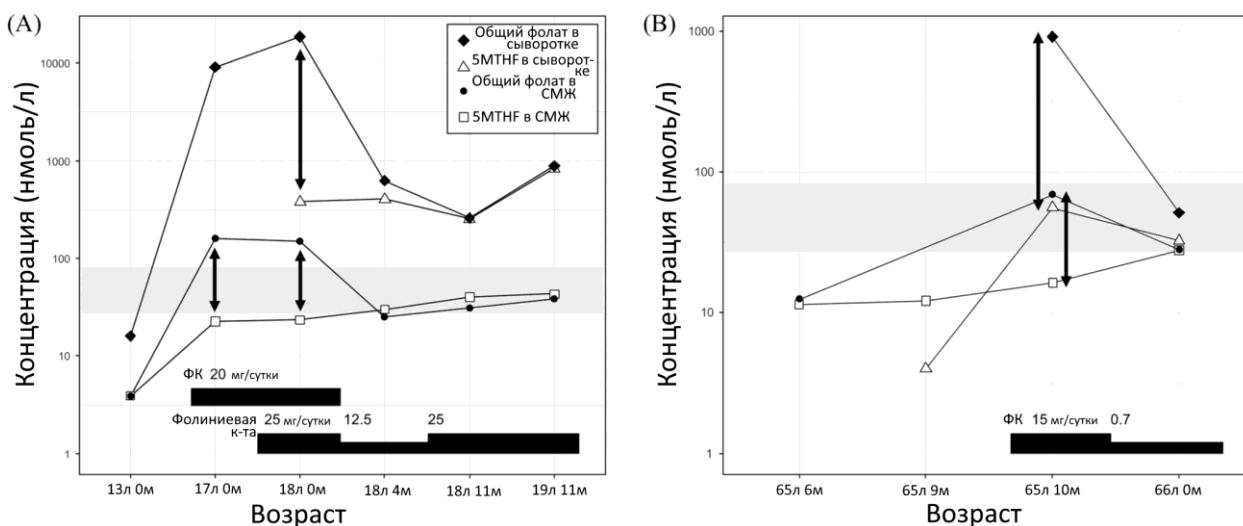


Рисунок 2. Значения концентрации 5MTHF и общего фолата в образцах сыворотки и спинномозговой жидкости, взятых у пациентки с синдромом Кернса-Сейра (СКС) и у пациента, гомозиготного по полиморфизму С667Т гена *MTHFR*. (А) Пациентка с синдромом Кернса-Сейра. (В) Пациент, гомозиготный по полиморфизму С667Т гена *MTHFR*. Отмена либо минимизация дозировки фолиевой кислоты привела к нормализации содержания 5MTHF в спинномозговой жидкости. Стрелки указывают на диссоциацию между значениями концентрации 5MTHF и концентрации общего фолата в ходе терапии фолиевой кислотой - эта диссоциация говорит о возможном накоплении неметаболизированной фолиевой кислоты. Референсный диапазон значений для детей в возрасте 6–17 лет изображен в виде области с серым затенением. 5MTHF, 5-метилтетрагидрофолиевая кислота; СМЖ, спинномозговая жидкость; ФК, фолиевая кислота

2.3 Пациент, гомозиготный по полиморфизму C667T гена *MTHFR*

Взрослый пациент поступил с внезапным нарушением сознания, генерализованными конвульсивными приступами, и снижением когнитивных способностей. На МРТ-снимках мозга были выявлены очаги поражения белого вещества, гиперинтенсивные в режиме T2, в теменной и затылочной долях билатерально и в утолщении мозолистого тела. Анализы крови выявили сниженную концентрацию общего фолата в сыворотке (2.9 нмоль/л, референсный диапазон: ≥ 9.0 нмоль/л), повышенный общий гомоцистеин в плазме (71.6 мкмоль/л, референсный диапазон: 7.0–17.8 мкмоль/л), нормальное содержание метионина в плазме и нормальное содержание витамина B12 в сыворотке. Генетическое тестирование выявило гомозиготность пациента по полиморфизму C667T гена *MTHFR*, иных вариаций обнаружено не было. Пациент начал получать терапию витаминами B1, B6, B12, и фолиевой кислотой.

На рисунке 2B и в таблице S3 показаны концентрации 5MTHF и общего фолата в образцах сыворотки и спинномозговой жидкости. Были использованы референсные значения концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости, рассчитанные для возраста 6–17 лет, поскольку в нашей лаборатории не имелось данных о концентрации 5MTHF у взрослых. Перед началом терапии у пациента отмечались низкие концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости (11.5 нмоль/л и 12.2 нмоль/л). Было сочтено, что причиной этого является низкая концентрация 5MTHF в сыворотке (4.0 нмоль/л), а не нарушенный транспорте 5MTHF, поскольку соотношение концентрации 5MTHF в СМЖ/сыворотке оставалось в пределах нормы ($12.2/4.0 = 3.05$). Терапия фолиевой кислотой в дозировке 15 мг/сутки привела к минимальному повышению концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости, несмотря на высокую концентрацию общего фолата в сыворотке (910.7 нмоль/л) и умеренное повышение концентрации 5MTHF в сыворотке (55.7 нмоль/л). На тот момент времени отношение концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости к концентрации в сыворотке было низким (0.29) и наблюдалась значительная диссоциация между уровнем 5MTHF и уровнем общего фолата в сыворотке, а также между уровнем 5MTHF и уровнем общего фолата в СМЖ, что отображено вертикальными стрелками на рисунке 2B. Снижение дозировки фолиевой кислоты до 0.7 мг/сутки парадоксальным образом привело к повышению концентрации 5MTHF в СМЖ до нижней границы нормального диапазона (27.7 нмоль/л; референсный диапазон: 26.8–83.2 нмоль/л, на основании наших данных, полученных на выборке лиц в возрасте от 6 до 17 лет и представленных в дополнительных материалах), при этом было отмечено умеренное увеличение отношения концентрации 5MTHF в СМЖ к концентрации в сыворотке ($27.7/32.6 = 0.85$).

3 ОБСУЖДЕНИЕ

Нами представлены клинико-биохимические данные, демонстрирующие ингибирование переноса 5MTHF через гематоликворный барьер под воздействием высоких доз фолиевой кислоты, что говорит в поддержку идеи о том, что при церебральной фолатной недостаточности следует избегать назначения фолиевой кислоты.[1, 9–11] Применение высоких доз фолиевой кислоты привело к некоторому повышению концентрации 5MTHF в спинномозговой жидкости, что скорее всего было связано с повышением уровня 5MTHF в сыворотке крови, но у наших пациентов эта концентрация не достигла нормального диапазона. То, что фолиевая кислота обладает сниженной эффективностью в обеспечении доставки 5MTHF в спинномозговую жидкость по сравнению с фолиевой кислотой, объясняется в основном наличием избыточной фолиевой кислоты в кровотоке и антагонизмом фолиевой кислоты в отношении транспорта 5MTHF через клетки сосудистого сплетения, экспрессирующие FR1 (рисунок 1). Низкая активность дигидрофолатредуктазы в тканях печени человека[14] приводит к появлению неметаболизированной фолиевой кислоты в кровотоке при повышенном потреблении фолиевой

кислоты.[15-17] Диссоциация между концентрациями 5MTHF и общего фолата в ходе терапии фолиевой кислотой, наблюдавшаяся у пациента с синдромом Кернса-Сейра, скорее всего была вызвана большим количеством неметаболизированной фолиевой кислоты, хотя нам не удалось напрямую измерить концентрацию неметаболизированной фолиевой кислоты. Хорошим свидетельством в поддержку этой гипотезы является отсутствие диссоциации либо наличие минимальной диссоциации после полного перехода на терапию фолиевой кислотой. Диссоциация между концентрациями 5MTHF и общего фолата в ходе терапии фолиевой кислотой, наблюдавшаяся у пациента, гомозиготного по полиморфизму C667T гена *MTHFR*, объясняется скорее всего накоплением неметаболизированной фолиевой кислоты, а также, возможно, повышением концентрации восстановленных фолатных соединений, отличных от 5MTHF, из-за частичного нарушения ферментной активности *MTHFR*.

Считается, что 5MTHF попадает в ткани мозга, преодолевая гематоликворный и гематоэнцефалический барьеры.[18] Спинномозговая жидкость считается основным источником, поставляющим 5MTHF в мозг, поскольку концентрация 5MTHF в спинномозговой жидкости выше, чем в плазме крови.[19] Рецептор FR1 играет главную роль в переносе 5MTHF через гематоликворный барьер в сосудистом сплетении при нормальной концентрации 5MTHF в сыворотке.[1,4] Свидетельством этого являются опубликованные ранее сообщения о развитии церебральной фолатной недостаточности с крайне низкими концентрациями 5MTHF в спинномозговой жидкости при недостаточности рецептора FR1. [4, 8, 10, 20-23] Эксперименты, осуществленные *in vitro*, показали, что аффинность рецептора FR1 в отношении фолиевой кислоты ($K_d = 0.1 - 1$ нмоль/л) примерно в десять раз выше, чем аффинность в отношении 5MTHF ($K_d = 1 - 10$ нмоль/л)[24-28], и что фолиевая кислота конкурирует с 5MTHF и тем самым ингибирует связывание 5MTHF с рецептором FR1.[25] Настоящее исследование показало, что концентрация 5MTHF при терапии высокими дозами фолиевой кислоты составила всего лишь 2%-6% от концентрации общего фолата в сыворотке, что позволяет предположить накопление значительного количества неметаболизированной фолиевой кислоты, нарушившего перенос 5MTHF через сосудистое сплетение.

Мы также продемонстрировали, что во время терапии высокими дозами фолиевой кислоты концентрация 5MTHF в спинномозговой жидкости составила примерно 15%-24% от концентрации общего фолата в СМЖ, что позволяет предположить, что неметаболизированная фолиевая кислота присутствовала также и в спинномозговой жидкости пациентов. Фолиевая кислота, попавшая в спинномозговую жидкость вместо 5MTHF, биологически инертна и не поддается эффективному преобразованию в 5MTHF в рамках центральной нервной системы из-за крайне низкой активности фермента дигидрофолатредуктазы (*DHFR*) в тканях мозга[29] (рисунок 1). Более того, сообщалось о способности фолиевой кислоты ингибировать фермент *MTHFR*, вызывая синдром псевдо-недостаточности метилентетрагидрофолатредуктазы.[30,31] Напротив, фолиевая кислота, восстановленная форма фолата, подвергается быстрому преобразованию в 5MTHF в эпителиальных клетках кишечника.[32] Таким образом, терапия фолиевой кислотой обеспечивает более эффективное снабжение тканей мозга 5MTHF при нарушении механизмов транспорта 5MTHF через гематоликворный барьер. При тяжелой форме недостаточности *MTHFR* только бетаин продемонстрировал эффективность и был указан в руководствах по терапии как рекомендованный препарат.[12] Хотя при этом состоянии можно рассматривать и супплементацию фолатом, лишь назначение 5MTHF, но не фолиевой либо фолиевой кислоты, приводит к повышению концентрации 5MTHF в СМЖ у пациентов.[33] При частичной недостаточности *MTHFR*, например, в случае гомозиготности по полиморфизму C667T, супплементация фолиевой кислотой допустима, однако дозировка должна быть минимальной во избежание накопления неметаболизированной фолиевой кислоты. Супплементация фолиевой кислотой либо 5MTHF, особенно последним соединением, не требующим вовлечения фермента *MTHFR*, считается простой и предпочтительной альтернативой.

У данного исследования имеются ограничения. Наше предположение основано на обследовании всего лишь двух пациентов. Мы не смогли произвести непосредственное измерение фолиевой кислоты из-за низкой интенсивности ее флуоресценции. Помимо методологических отличий,

отмеченная в нашем исследовании разница между концентрациями общего фолата и 5MTFH может объясняться присутствием фолатных соединений, отличных от фолиевой кислоты, например, тетрагидрофолата. В будущих исследованиях с использованием жидкостной хроматографии с масс-спектральным детектированием для одновременного измерения нескольких фолатных соединений можно будет получать углубленную информацию о фолатном статусе пациентов.[34]

4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы представили описания двух клинических случаев, позволяющие предположить, что избыточная супплементация фолиевой кислотой нарушила перенос 5MTHF через гематоликворный барьер. При терапии церебральной фолатной недостаточности следует отдавать предпочтение супплементации фолиниевой кислотой или же 5MTHF (при нарушенном синтезе 5MTHF), а не фолиевой кислоте, которая может затруднить перенос 5MTHF в спинномозговую жидкость (представляющую собой главный источник 5MTHF для тканей мозга). Также были представлены референсные значения концентрации 5MTHF в СМЖ, полученные при анализе данных о 600 пациентах детского возраста.

ВКЛАД АВТОРОВ

Tomoyuki Akiyama: разработка концепции и схемы исследования, анализ и интерпретация данных, написание статьи, поручитель. Ichiro Kuki, Kiyohiro Kim, Naohiro Yamamoto, Yumi Yamada, Kazuya Igarashi, Tomohiko Ishihara, Yuya Hatano, Katsuhiko Kobayashi: анализ и интерпретация данных, критический пересмотр важного с научной точки зрения содержания статьи.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы выражаем благодарность доктору Ichizo Nishino и доктору Yuichi Goto из Национального центра неврологии и психиатрии (Токио, Япония) за диагностический анализ патологии мышечной ткани и за анализ митохондриальной ДНК. Мы выражаем благодарность врачам, предоставившим образцы сыворотки и спинномозговой жидкости пациентов. Автор Т.А. получил грант от Японского общества содействия науке (Japan Society for the Promotion of Science, код гранта JP 21K07798) и от Министерства здравоохранения, труда и благосостояния (код гранта 21FC1015). Источники, предоставившие финансирование, не принимали участия в разработке схемы исследования, равно как и в сборе, анализе, и интерпретации данных, написании отчета, или принятии решения об отправке статьи в журнал. Мы благодарим службу Eibunkosei.net (<https://www.eibunkousei.net/>) за редактуру английского текста статьи.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все процедуры были выполнены в соответствии с этическими стандартами ответственного комитета по экспериментам с участием человека (как внутриорганизационным, так и национальным) и положениями Хельсинской декларации.

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ

Информированное согласие было получено у всех пациентов, включенных в данное исследование.

ORCID

Tomoyuki Akiyama <https://orcid.org/0000-0002-4784-9859>

ЛИТЕРАТУРА

1. Hyland K, Shoffner J, Heales SJ. Cerebral folate deficiency. *J Inher Metab Dis.* 2010; 33: 563- 570.
2. Pietrzik K, Bailey L, Shane B. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet.* 2010; 49: 535- 548.
3. Pfeiffer CM, Sternberg MR, Fazili Z, et al. Folate status and concentrations of serum folate forms in the US population: National Health and Nutrition Examination Survey 2011–2. *Br J Nutr.* 2015; 113: 1965- 1977.
4. 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: 354- 363.
5. Garcia-Cazorla A, Quadros EV, Nascimento A, et al. Mitochondrial diseases associated with cerebral folate deficiency. *Neurology.* 2008; 70: 1360- 1362.
6. Hansen FJ, Blau N. Cerebral folate deficiency: life-changing supplementation with folinic acid. *Mol Genet Metab.* 2005; 84: 371- 373.
7. Quijada-Fraile P, O'Callaghan M, Martin-Hernandez 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: 217.
8. Kobayashi Y, Tohyama J, Akiyama T, et al. Severe leukoencephalopathy with cortical involvement and peripheral neuropathy due to FOLR1 deficiency. *Brain Dev.* 2017; 39: 266- 270.
9. Ramaekers VT, Blau N. Cerebral folate deficiency. *Dev Med Child Neurol.* 2004; 46: 843- 851.
10. Grapp M, Just IA, Linnankivi T, et al. Molecular characterization of folate receptor 1 mutations delineates cerebral folate transport deficiency. *Brain.* 2012; 135: 2022- 2031.
11. Surtees R. Cobalamin and folate responsive disorders. In: P Baxter, ed. *Vitamin Responsive Conditions in Paediatric Neurology.* Mac Keith Press; 2001: 96- 108.
12. Huemer M, Diodato D, Schwahn B, et al. Guidelines for diagnosis and management of the cobalamin-related remethylation disorders cblC, cblD, cblE, cblF, cblG, cblJ and MTHFR deficiency. *J Inher Metab Dis.* 2017; 40: 21- 48.
13. 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: 159- 162.
14. Bailey SW, Ayling JE. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106: 15424- 15429.
15. Kelly P, McPartlin J, Goggins M, Weir DG, Scott JM. Unmetabolized folic acid in serum: acute studies in subjects consuming fortified food and supplements. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65: 1790- 1795.
16. Obeid R, Kirsch SH, Kasoha M, Eckert R, Herrmann W. Concentrations of unmetabolized folic acid and primary folate forms in plasma after folic acid treatment in older adults. *Metabolism.* 2011; 60: 673- 680.

17. Stamm RA, March KM, Karakochuk CD, et al. Lactating Canadian women consuming 1000 microg folic acid daily have high circulating serum folic acid above a threshold concentration of serum total folate. *J Nutr.* 2018; 148: 1103- 1108.
18. 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.
19. Djukic A. Folate-responsive neurologic diseases. *Pediatr Neurol.* 2007; 37: 387- 397.
20. Cario H, Bode H, Debatin KM, Opladen T, Schwarz K. Congenital null mutations of the FOLR1 gene: a progressive neurologic disease and its treatment. *Neurology.* 2009; 73: 2127- 2129.
21. Ormazábal A, Perez-Dueñas B, Sierra C, et al. Folate analysis for the differential diagnosis of profound cerebrospinal fluid folate deficiency. *Clin Biochem.* 2011; 44: 719- 721.
22. Perez-Duenas B, Ormazabal A, Toma C, et al. Cerebral folate deficiency syndromes in childhood: clinical, analytical, and etiologic aspects. *Arch Neurol.* 2011; 68: 615- 621.
23. Delmelle F, Thony 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: 709- 713.
24. Antony AC, Utley C, Van Horne KC, Kolhouse JF. Isolation and characterization of a folate receptor from human placenta. *J Biol Chem.* 1981; 256: 9684- 9692.
25. Kamen BA, Capdevila A. Receptor-mediated folate accumulation is regulated by the cellular folate content. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986; 83: 5983- 5987.
26. Wang X, Shen F, Freisheim JH, Gentry LE, Ratnam M. Differential stereospecificities and affinities of folate receptor isoforms for folate compounds and antifolates. *Biochem Pharmacol.* 1992; 44: 1898- 1901.
27. Rijnboutt S, Jansen G, Posthuma G, Hynes JB, Schornagel JH, Strous GJ. Endocytosis of GPI-linked membrane folate receptor-alpha. *J Cell Biol.* 1996; 132: 35- 47.
28. Chandrupatla DMSH, Molthoff CFM, Lammertsma AA, van der Laken CJ, Jansen G. The folate receptor β as a macrophage-mediated imaging and therapeutic target in rheumatoid arthritis. *Drug Deliv Transl Res.* 2019; 9: 366- 378.
29. Ramaekers V, Sequeira JM, Quadros EV. Clinical recognition and aspects of the cerebral folate deficiency syndromes. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51: 497- 511.
30. Christensen KE, Mikael LG, Leung KY, et al. High folic acid consumption leads to pseudo-MTHFR deficiency, altered lipid metabolism, and liver injury in mice. *Am J Clin Nutr.* 2015; 101: 646- 658.
31. Cornet D, Clement A, Clement P, Menezo Y. High doses of folic acid induce a pseudo-methylenetetrahydrofolate syndrome. *SAGE Open Med Case Rep.* 2019; 7:2050313X19850435.
32. Patanwala I, King MJ, Barrett DA, et al. Folic acid handling by the human gut: implications for food fortification and supplementation. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100: 593- 599.
33. 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.
34. Pfeiffer CM, Fazili Z, McCoy L, Zhang M, Gunter EW. Determination of folate vitamers in human serum by stable-isotope-dilution tandem mass spectrometry and comparison with radioassay and microbiologic assay. *Clin Chem.* 2004; 50: 423- 432.

ВСПОМОГАТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Дополнительная вспомогательная информация представлена в разделе «Вспомогательная информация» в конце [онлайн-версии](#) данной статьи.

Дополнительный рисунок S1. Хроматограммы измерения концентрации 5MTHF в сыворотке, полученные с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией. (A) Стандартный раствор 5MTHF (256 нмоль/л). 5MTHF элюируется примерно через 2.3 мин. (B) Образец сыворотки, взятой у двухмесячного пациента (5MTHF: 54.3 нмоль/л); 5MTHF: 5-метилтетрагидрофолиевая кислота.

Дополнительный рисунок S2. Концентрация 5MTHF в образцах спинномозговой жидкости, взятых у неврологических пациентов детского возраста. (A) График концентрации 5MTHF в СМЖ в зависимости от возраста. Концентрация 5MTHF в СМЖ с возрастом снижается. Квантильная регрессия рассчитывалась по формуле «концентрация 5MTHF в СМЖ = $a \log(\text{возраст в месяцах} + 1) + b$. Сплошная кривая является кривой 50-го перцентиля, а пунктиром отмечены кривые, отражающие 2.5-й и 97.5-й перцентили. (B) Коробчатые диаграммы, отражающие концентрацию 5MTHF в СМЖ в зависимости от принадлежности к четырем возрастным группам. Было отмечено значительное ($p < 0.0001$) различие между концентрациями 5MTHF в СМЖ в этих группах. 5MTHF: 5-метилтетрагидрофолиевая кислота; СМЖ: спинномозговая жидкость.

Дополнительный рисунок S3. Значения концентрации 5MTHF и общего фолата в образцах сыворотки и СМЖ, взятых у неврологических пациентов детского возраста, не получающих супплементации фолатом и не проявляющих признаков периферической фолатной недостаточности. 5MTHF: 5-метилтетрагидрофолиевая кислота; СМЖ: спинномозговая жидкость.

Дополнительная таблица S1. Значения концентрации 5MTHF и общего фолата в образцах сыворотки и СМЖ, взятых у неврологических пациентов детского возраста, не получающих супплементации фолатом и не проявляющих признаков периферической фолатной недостаточности.

Дополнительная таблица S2. Значения концентрации 5MTHF и общего фолата в образцах сыворотки и СМЖ, взятых у пациента с синдромом Кернса-Сейра.

Дополнительная таблица S3. Значения концентрации 5MTHF и общего фолата в образцах сыворотки и СМЖ, взятых у пациента, гомозиготного по полиморфизму C677T гена *MTHFR*.

Формат цитирования статьи: Akiyama T, Kuki I, Kim K, et al. Folic acid inhibits 5-methyltetrahydrofolate transport across the blood–cerebrospinal fluid barrier: Clinical biochemical data from two cases. *JIMD Reports*. 2022; 1-7. doi:10.1002/jmd2.12321

Авторы в русской транслитерации: Томоюки Акияма, Итиро Куки, Киёхиро Ким, Наохиро Ямамото, Юми Ямада, Кадзюя Игараси, Томохико Исихара, Юя Хатано, Кацусиро Кобаяси.