

На правах рукописи



ПАДЕРИНА ДИАНА ЗАКИРОВНА

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ
ДОФАМИНА, СЕРОТОНИНА И ГЕНА ПРОЛАКТИНА
С РАЗВИТИЕМ НЕЙРОЛЕПТИЧЕСКОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ
У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ**

1.5.7 – Генетика

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» и в Научно-исследовательском институте психического здоровья Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Иванова Светлана Александровна

Официальные оппоненты:

Асадуллин Азат Раилевич, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры психиатрии, наркологии и психотерапии с курсами Института дополнительного профессионального образования (г. Уфа).

Амстиславская Тамара Геннадьевна, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины», заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией трансляционной биопсихиатрии (г. Новосибирск).

Ведущая организация:

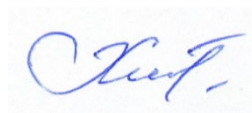
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук (г. Уфа).

Защита состоится «___» _____ 2023 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу г. Томск, Московский тр., 3, Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского НИМЦ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <https://www.tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Хитринская И.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Шизофрения – это тяжёлое, гетерогенное психическое заболевание, патогенез которого связан как с генетическими, так и экзогенными факторами [Owen M.J. et al., 2016; Jauhar S. et al., 2022; Brulin-Solignac D., Bouchard J.P., 2022; Голимбет В.Е., Костюк Г.П., 2022]. Пациенты с шизофренией нуждаются в пожизненной терапии антипсихотическими препаратами. Однако помимо основного терапевтического действия антипсихотики обладают и широким спектром побочных эффектов [Gunes A., 2008; Насырова Р.Ф. и др., 2015].

Одной из неблагоприятных побочных реакций на терапию нейролептиками является гиперпролактинемия. Частота распространения нейролептической гиперпролактинемии может достигать до 40–80% клинических случаев, по данным литературных источников [Melmed S. et al., 2011; Ajmal A. et al., 2014; Peuskens J. et al., 2014; Горобец Л.Н., Мазо Г.Э., 2017; Корнетова Е.Г. и др., 2019; Dehelean L. et al., 2020; Herceg M. et al., 2020; Brandsma A.E. et al., 2021; Wu T.H. et al., 2021]. Широко применяемый при терапии расстройств шизофренического спектра атипичный нейролептик рисперидон, обладает наиболее высокой пролактогенной активностью и может вызывать развитие рисперидон-индуцированной гиперпролактинемии до 90% случаев [Torre D.L., Falorni A., 2007; Zhenhua W. et al., 2022]. Наиболее частые симптомы гиперпролактинемии включают репродуктивную дисфункцию, сексуальные нарушения, изменение поведения и настроения [Bobes J. et al., 2003; Kinon B.J. et al., 2003; Haddad P.M., Wieck A., 2004; Baggaley M., 2008; Düring S.W. et al., 2019]. Риск развития остеопороза и онкологических заболеваний является наиболее тяжёлым отсроченным побочным эффектом применения пролактогенных антипсихотических средств [Torre D.L., Falorni A., 2007; De Hert M. et al., 2014; González-Rodríguez A. et al., 2020].

Исключительная роль в патогенезе развития нейролептической гиперпролактинемии принадлежит генетически детерминированным особенностям пациентов [Tandon R. et al., 2008; Reynolds G.P. et al., 2014; Miura I. et al., 2016; Alladi C.G. et al., 2017; Fedorenko O.Y. et al., 2017; Иванова С.А., 2019]. Межиндивидуальные генетические различия пациентов в биотрансформации лекарственных средств являются основой в гетерогенности клинических исходов нейролептической терапии, в том числе неэффективности, толерантности к воздействию лекарственных средств и нежелательных побочных реакциях [Evans W.E., McLeod H.L., 2003; Середенин С.Б., 2004; Kalow W., 2005; Кибитов А.О. и др., 2017; Гареева А.Э., 2018; Насырова Р.Ф. и др., 2018; Arranz M.J. et al., 2021].

Степень научной разработанности темы исследования. В настоящее время, согласно данным литературных источников, интенсивно проводятся зарубежные исследования генетических факторов, которые ассоциированы с патогенезом лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии [Miura I. et al., 2016; Alladi C.G. et al., 2017; Gasso P. et al., 2018; Soria-Chacartegui P. et al., 2021].

Основными мишенями для действия всех клинически эффективных нейролептиков являются рецепторы дофамина и, в меньшей степени, серотонина, являющиеся компонентами дофаминовой и серотониновой нейротрансмиссии при шизофрении [Zhang J.P., Malhotra A.K., 2011; Molitch M.E., 2020]. Считается, что блокировка дофаминовых рецепторов в стриатуме является «необходимой и достаточной» для достижения

антипсихотического эффекта [Kapur S. et al., 2000; Agid O. et al., 2007; de Bartolomeis A. et al., 2022], хотя антипсихотики второго поколения в большей степени блокируют серотониновые рецепторы, в связи с чем их изучение в отношении развития побочных эффектов фармакотерапии также представляет большой интерес [Aringhieri S. et al., 2018].

Генетический полиморфизм дофаминовых рецепторов обуславливает различную плотность рецепторов, которая играет значительную роль как в клинической эффективности лекарственных препаратов, так и в развитии неблагоприятных побочных реакций, вызванных нейролептической терапией [Miura I. et al., 2016]. Показано, что генотипы Ins/Del и Del/Del полиморфного варианта -141C Ins/Del (rs1799732) гена *DRD2* ассоциированы с повышенной концентрацией пролактина (OR = 10,45) при терапии рисперидоном [Alladi C.G. et al., 2017]. В более ранних исследованиях было выявлено, что аллель -241G полиморфного варианта -241AG (rs1799978) гена *DRD2*, а также аллель A1 однонуклеотидного полиморфизма Taq1A (rs1800497) гена *DRD2/ANKK1* ассоциированы с высокой концентрацией пролактина на фоне приема рисперидона. Кроме того, различная симптоматика нейролептической гиперпролактинемии встречалась в 4 раза чаще у носителей аллеля A1 (rs1800497) [Calarge C. et al., 2009]. Также показана ассоциация другого полиморфного варианта гена *DRD2/ANKK1* (rs2734849) с развитием гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией [Fedorenko O.Yu. et al., 2020]. Для полиморфного варианта rs6313 гена серотонинового рецептора *HTR2A* было установлено, что аллель 102C связан с повышенным риском развития шизофрении и экстрапирамидных побочных эффектов [Abdolmaleky H.M. et al., 2004; Lerer B. et al., 2005]. Аллель -697C (rs518147) гена *HTR2C* связан с поздней дискинезией [Zhang Z.J. et al., 2002], однако его носительство обладает протективным эффектом в отношении увеличения веса на фоне антипсихотической терапии [Godlewska B.R. et al., 2009].

Несмотря на востребованность и актуальность фармакогенетических исследований антипсихотиков в России имеются лишь единичные исследования эффективности и безопасности нейролептической терапии. Таким образом, является обоснованным выявление клинических факторов риска развития гиперпролактинемии и изучение роли полиморфных вариантов генов дофаминергической и серотонинергической систем, а также гена пролактина в развитии лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией.

Цель исследования: выявить ассоциации полиморфных вариантов генов рецепторов дофамина, серотонина и гена пролактина с развитием антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией.

Задачи исследования:

1. Провести анализ клинико-демографических характеристик пациентов и выявить клинические факторы риска развития гиперпролактинемии у больных шизофренией, длительно получающих нейролептическую терапию.

2. Исследовать ассоциации SNP-маркеров генов рецепторов дофамина (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*), серотонина (*HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR2C*, *HTR3A*, *HTR6*) и гена пролактина (*PRL*) с развитием нейролептической гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией.

3. Исследовать связь молекулярно-генетических маркеров с гиперпролактинемией в зависимости от полового диморфизма и профиля получаемой антипсихотической терапии.

4. Изучить зависимость уровня пролактина от полиморфных вариантов изучаемых генов у больных шизофренией.

5. Оценить прогностическую эффективность исследуемых полиморфных вариантов генов и рассчитать прогностическую модель риска развития гиперпролактинемии на основании клинических и генетических данных.

Научная новизна. Впервые проведено фармакогенетическое исследование лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией Сибирского региона. Выявлены полиморфные варианты генов, ассоциированные с развитием нейролептической гиперпролактинемии. На основании полученных результатов можно выделить группы пациентов с повышенным или пониженным риском развития гиперпролактинемии, что позволит применять индивидуальный терапевтический подход к каждому пациенту.

Ассоциации с синдромом гиперпролактинемии впервые показаны для SNP-маркеров генов рецепторов дофамина *DRD2* (rs6277), *DRD4* (rs936461) и серотонина *HTR2C* (rs3813929, rs569959, rs17326429, rs4911871), а также для функционального полиморфного варианта гена *PRL* (rs1341239). Гаплотип гена *HTR2C*, локализованного на X-хромосоме, rs3813929*Т, rs569959*G, rs17326429*А, rs6318*G, rs4911871*G и rs5946189*Т является рисковым в отношении развития нейролептической гиперпролактинемии. Впервые были выявлены гендер-специфические ассоциации 7 полиморфных вариантов генов *DRD2* (rs4245147), *DRD3* (rs167771), *DRD4* (rs936461), *HTR2A* (rs6312), *HTR2C* (rs569959, rs4911871), *PRL* (rs1341239) с гиперпролактинемией. При терапии типичными нейролептиками вклад в формирование патологического фенотипа вносят маркеры генов *DRD2* (rs6277, rs2283265, rs1076560), *DRD3* (rs167771, rs324035), *HTR2C* (rs569959) и *PRL* (rs1341239), при терапии атипичными нейролептиками – *HTR3A* (rs1176713). Статистически значимые различия между группами пациентов с рисперидон-индуцированной гиперпролактинемией и без изучаемого побочного эффекта получены для полиморфных вариантов rs6298 и rs6296 гена *HTR1B*, rs1341239 гена *PRL*.

Теоретическая и практическая значимость. Продемонстрировано значение исследуемых молекулярно-генетических маркеров в патогенезе нейролептической гиперпролактинемии. Новые данные, касающиеся ассоциации изученных аллельных вариантов генов нейротрансмиттерных систем и гена пролактина с гиперпролактинемией, дополняют фундаментальные знания о данной патологии и могут служить основой для дальнейшего исследования молекулярных механизмов развития эндокринных побочных эффектов нейролептической терапии. Результаты исследования могут быть использованы в учебном процессе на факультетах вузов биологического и медицинского профиля.

Разработано пособие для врачей «Гиперпролактинемия у больных шизофренией: клинические особенности и модель прогноза с применением генетического тестирования» (2019). Зарегистрирована база данных «Клинические и фармакогенетические характеристики больных шизофренией с антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемией» № 2019621451. База данных предназначена для применения в научных исследованиях с целью изучения клинических и психофармакологических

особенностей гиперпролактинемии у больных шизофренией и прогноза риска развития на основе фармакогенетического тестирования. Результаты исследования также вошли в создание программы для ЭВМ № 2021614034 «Программа поддержки принятия врачебных решений выбора антипсихотической терапии для лечения больных шизофренией с учётом риска развития гиперпролактинемии».

Методология и методы диссертационного исследования. Выборку для исследования составили 446 пациентов с диагнозом шизофрении (МКБ-10: F20), находящихся на стационарном лечении в клиниках НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, ОГБУЗ «Томская клиническая психиатрическая больница» и ГКУЗ КО «Кемеровская областная клиническая психиатрическая больница». Назначение антипсихотических препаратов осуществлялось врачами-психиатрами с учетом ведущей симптоматики и спектра психотропной активности нейролептика. Для стандартизации дозы, эффективности и побочных действий нейролептиков в исследовании использован хлорпромазиновый эквивалент (CPZeq). Молекулярно-генетические и лабораторные исследования включали выделение ДНК стандартным фенол-хлороформным методом, определение концентрации гормона пролактина в сыворотке крови методом твёрдофазного иммуноферментного анализа, генотипирование аллельных вариантов изучаемых генов проводилось с использованием метода масс-спектрометрии MALDI-TOF, а также методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени. Для статистической обработки данных использовали программный пакет SPSS 23.0, анализ гаплотипов проводили в программе Haploview 4.2, расчет прогностической модели для предсказания риска развития гиперпролактинемии проводился в программной среде R (версия 3.6.2).

Положения, выносимые на защиту:

1. Клиническими факторами риска развития гиперпролактинемии являются женский пол, молодой возраст и, выраженные в CPZeq эквиваленте, высокие дозы антипсихотиков.
2. Ассоциации с фенотипом гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии получены для SNP-маркеров генов *DRD2* (rs6277), *DRD4* (rs936461), *HTR2C* (rs3813929, rs569959, rs17326429, rs4911871), *PRL* (rs1341239).
3. В формировании генетической предрасположенности к синдрому гиперпролактинемии участвуют полиморфные варианты: у женщин – *DRD2* (rs4245147), *HTR2A* (rs6312); у мужчин – *DRD2* (rs4245147), *DRD3* (rs167771), *DRD4* (rs936461), *HTR2C* (rs569959, rs4911871), *PRL* (rs1341239).
4. Генетическая компонента лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии различается в зависимости от получаемой терапии: типичные нейролептики – *DRD2* (rs6277, rs2283265, rs1076560), *DRD3* (rs167771, rs324035), *HTR2C* (rs569959) и *PRL* (rs1341239); атипичные нейролептики – *HTR3A* (rs1176713); терапия рисперидоном – *HTR1B* (rs6298, rs6296), *PRL* (rs1341239).
5. В прогностической модели, факторами, влияющими на риск развития нейролептической гиперпролактинемии, являются пол, возраст и SNP-маркеры rs4911871 (*HTR2C*), rs1341239 (*PRL*).

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность результатов проведенного исследования обеспечивается достаточным объёмом исследуемой выборки (446 пациентов с шизофренией), использованием современных молекулярно-генетических методов и статистических алгоритмов обработки полученных данных.

Апробация материалов диссертации. Результаты проведенных исследований докладывались и обсуждались на конференциях всероссийского и международного уровней: «Современные проблемы генетики, клеточной биологии и биотехнологии» (Томск, 2014); Научно-практическая конференция «Персонализированная психиатрия: современные возможности генетики в психиатрии» (Москва, 2015); 29th ECNP Congress (European College of Neuropsychopharmacology) (Vienna, Austria, 2016); Конференция с международным участием и школа-семинар молодых учёных «Биомаркеры в психиатрии: поиск и перспективы» (Томск, 2016); XIV международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук», (Томск, 2017); 30th ECNP Congress (Paris, France, 2017); «Генетика и эпигенетика психических заболеваний», (Москва, 2017); I Российская зимняя Школа молодых ученых и врачей по фармакогенетике и персонализированной терапии (Москва, 2018); IV всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии» (Томск, 2018); 31th ECNP Congress (Barcelona, Spain, 2018); Конгресс молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск, 2018); 32nd ECNP Congress (Copenhagen, Denmark, 2019); Международный Конгресс «VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы» (Санкт-Петербург, 2019); 33rd ECNP Congress Virtual (Vienna, Austria, 2020); Российская конференция с международным участием «Актуальные проблемы нейробиологии психических и аддиктивных расстройств» (Томск, 2020); Конкурс молодежных проектов. Всероссийский Фестиваль «Наука0+» (Томск, 2021); Конкурс молодых ученых и специалистов «Научный потенциал НИИ психического здоровья» (Томск, 2022); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Психиатрическая генетика: современные возможности и перспективы трансляции в клиническую практику» (Санкт-Петербург, 2022).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 28 работ, из которых 7 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (в том числе 3 статьи в зарубежных научных журналах, входящих в Web of Science; 1 статья в зарубежном научном журнале, входящем в Scopus), 4 статьи в прочих рецензируемых научных журналах, 14 тезисов в материалах отечественных и зарубежных конференций; пособие для врачей, свидетельство о регистрации базы данных РФ и свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

Личный вклад автора. Основные результаты настоящего исследования получены автором либо самостоятельно, либо в ходе совместной работы с коллегами из лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Определение концентрации гормона пролактина в сыворотке крови, выделение ДНК,

проведение генотипирования по исследуемым однонуклеотидным полиморфизмам и статистическая обработка результатов проведены лично автором. Разработка прогностической модели риска развития гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией была выполнена при консультативной помощи д.б.н. М.Б. Фрейдина (лаб. популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ). Статьи по результатам проведенных работ подготовлены самостоятельно или в соавторстве и опубликованы в рецензируемых изданиях.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 208 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, который включает 287 источников. Работа проиллюстрирована 35 таблицами, 8 рисунками и 4 приложениями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Формирование выборки и клиническое обследование пациентов выполнено на базах клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (руководитель отделения эндогенных расстройств – д-р мед. наук, профессор [А.В. Семке]), ОГБУЗ «Томская клиническая психиатрическая больница» (главный врач – С.М. Андреев) и ГКУЗ КО «Кемеровская областная клиническая психиатрическая больница» (главный врач – к.м.н. В.А. Сорокина). Проведение исследования одобрено Комиссией по биоэтике БИ НИ ТГУ (№11 от 19.10.2017 г.).

Проведено обследование 446 пациентов (средний возраст $41,5 \pm 13,4$ года) с диагнозом шизофрении (МКБ-10: F20). У всех обследуемых лиц получено добровольное информированное согласие на проведение исследования. Все индивиды славянских национальностей и не состоят в кровном родстве между собой. Критерии исключения из исследования: отказ пациента от участия в исследовании, беременность, гинекологические расстройства (синдром поликистозных яичников), фармакологические симптомы отмены, органические заболевания мозга (эпилепсия, болезнь Паркинсона и др.), эндокринные и онкологические патологии, сопровождающиеся повышенным уровнем пролактина в крови.

Молекулярно-генетические и лабораторные исследования проведены на базе лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья (руководитель лаборатории – д-р мед. наук, профессор С.А. Иванова) и на базе учреждения геномного анализа, лаборатории генетики университета Гронингена (Нидерланды).

Применяемая антипсихотическая терапия. Назначение антипсихотических препаратов осуществлялось врачами-психиатрами с учетом ведущей симптоматики и спектра психотропной активности нейролептика. Пациенты получали терапию как типичными (191 пациент), так и атипичными нейролептиками (176 пациентов). Наиболее пролактогенным атипичным нейролептиком являлся рисперидон, который применялся в терапии 76 пациентов. Различные комбинации классических и атипичных препаратов были использованы в терапии 79 пациентов. В исследовании был использован хлорпромазиновый эквивалент (CPZeq) для стандартизации дозы, эффективности и побочных действий нейролептиков.

Лабораторные методы исследования. В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Венозную кровь брали из локтевой вены в период с 8:00 до 9:00, натошак, в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА, для последующего выделения ДНК стандартным фенол-хлороформным методом, а также в пробирки типа Vacuette с активатором сгустка для определения концентрации гормона пролактина в сыворотке крови методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов PRL Test System [Monobind Inc., США]. Границы нормальных значений концентрации гормона пролактина в крови: для мужчин – до 20 нг/мл, для женщин – до 25 нг/мл.

Определение аллельных вариантов исследуемых генов. Отбор полиморфных вариантов генов рецепторов дофамина, серотонина и гена пролактина проводился на основании результатов зарубежных исследований в области фармакогенетики антипсихотиков, где исследуемые полиморфные варианты были связаны с развитием побочных эффектов нейролептиков или ответом на антипсихотическую терапию. Генотипирование аллельных вариантов изучаемых генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR3A*, *HTR2C*, *HTR6* и *PRL* проводилось в учреждении геномного анализа, лаборатории генетики университета Гронингена (Нидерланды), с использованием The MassARRAY® System by Agena Bioscience™, набором SEQUENOM Consumables iPLEX Gold 384. Измерения концентрации ДНК производили на приборе Thermo Scientific NanoDrop 8000 UV–Vis Spectrophotometers. Разведение ДНК проводили до рабочей концентрации 10 нг/мкл. Для подготовки образцов к определению на SEQUENOM MassARRAY® Analyzer 4 проводили мультиплексную ПЦР-реакцию, для получения амплификата, далее проводили SAP-реакцию для нейтрализации неинкорпорированных дезоксирибонуклеотид-трифосфатов (dNTPs), и непосредственно реакцию удлинения праймеров iPLEX Gold. Затем образцы дозировались и раскапывались на специальный чип (SpectroCHIP Array) с помощью NanoDispenser RS1000. Чип с образцами загружали в SEQUENOM MassARRAY® Analyzer 4 и анализировали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Анализ полученных данных осуществлялся с помощью программного обеспечения «MassARRAY TYPER 4.0».

Генотипирование полиморфных вариантов гена *DRD2* (rs6275, rs6277, rs2283265) и гена *DRD4* (rs3758653, rs936461, rs11246226) проводилось методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени на амплификаторах StepOnePlus™ Real-Time PCR System и QuantStudio™ 3D Digital PCR System Life Technologies, наборы TaqMan Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США) в лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья и на приборах, включенных в центр коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета SPSS 23.0. Проверку выборки на нормальность распределения проводили по критерию Шапиро-Уилка. При нормальном распределении для независимых выборок статистически значимые различия определяли по t-критерию Стьюдента с вычислением среднего и ошибки среднего. Для анализа количественных признаков двух несвязных выборок использовался U-критерий Манна-Уитни. Анализ

уровня пролактина проводили по Н-критерию Краскела-Уоллеса. Для представления количественных данных с распределением, отличающимся от нормального, приведены медиана (Me) и интерквартильный размах [Q1-Q3]. Оценка взаимосвязи количественных и порядковых признаков проводилась при помощи коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s). Распределение частот генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Если в одной из ячеек таблицы сопряженности было менее 5 наблюдений, использовали точный тест Фишера. Оценка ассоциации генотипов и аллелей исследуемых полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом осуществлялась с помощью показателя отношения шансов (odds ratio, OR) с 95% доверительным интервалом для отношения шансов (95% CI). Анализ гаплотипов проводился в программе «Haploview 4.2». Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Для разработки прогностической модели для предсказания риска развития гиперпролактинемии проводили регрессионный и дискриминантный анализ в программной среде R (версия 3.6.2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика обследованных пациентов и факторы риска развития гиперпролактинемии у больных шизофренией. Проведено клиническое обследование 446 пациентов (средний возраст $41,5 \pm 13,4$ года) с диагнозом шизофрении (МКБ-10: F20). Распределение выборки по полу: 221 мужчина (средний возраст $37,8 \pm 11,9$) и 225 женщин (средний возраст $45,2 \pm 13,9$). Длительность заболевания в общей группе больных шизофренией $15,4 \pm 11,5$ лет, в группе мужчин $13,1 \pm 10,0$ лет, в группе женщин $17,6 \pm 12,5$ лет.

На основании результатов о концентрации пролактина в сыворотке крови гиперпролактинемия была диагностирована у 227 пациентов (основная группа), у 219 пациентов (группа сравнения) концентрация пролактина была в пределах нормы. Клинико-демографическая характеристика исследуемых групп пациентов с шизофренией представлена в таблице 1.

Распространенность гиперпролактинемии среди обследованных пациентов составила 50,9 %. В группе пациентов с гиперпролактинемией статистически значимо больше женщин (56,8%) ($p = 0,006$), средний возраст статистически значимо ниже ($p = 0,030$), чем в группе пациентов без гиперпролактинемии. Длительность заболевания в исследуемых группах статистически значимо различалась ($p = 0,036$). В группе больных с гиперпролактинемией длительность заболевания меньше – 11,0 лет [4,0–22,0], чем в группе сравнения – 14,0 лет [8,0–22,0], что, скорее всего, связано с более молодым возрастом пациентов с гиперпролактинемией. Также было выявлено, что концентрация пролактина находится в обратной слабой корреляции с возрастом пациентов ($r_s = -0,100$; $p = 0,035$) и длительностью заболевания ($r_s = -0,125$; $p = 0,009$). Доза антипсихотика, выраженная в хлорпромазиновом эквиваленте (CPZeq), выше в группе пациентов с нейролептической гиперпролактинемией ($p = 0,005$). Выявлена слабая положительная связь между дозой антипсихотика и концентрацией пролактина ($r_s = 0,103$; $p = 0,029$), что

подтверждает тот факт, что гиперпролактинемия является дозозависимым побочным эффектом антипсихотической терапии.

Таблица 1 – Клинико-демографические признаки обследованных пациентов с гиперпролактинемией (ГП) и с нормальным уровнем пролактина

Признак		Больные без ГП, n=219	Больные с ГП, n=227	p
Пол, Ж/М		96/123	129/98	0,006
Возраст		42,9±13,6	40,2±13,2	0,030
Длительность заболевания*		14,0 [8,0- 22,0]	11,0 [4,0- 22,0]	0,036
Доза антипсихотика в CPZeq*		370,5 [200,0-675,0]	500,0 [253,0-750,0]	0,005
Концентрация пролактина, нг/мл*	общая группа	12,9 [8,1- 16,8]	49,6 [32,6-76,3]	p<0,001
	женщины	13,96 [8,69 – 19,39]	59,01 [45,41 – 84,31]	p<0,001
	мужчины	11,78 [7,54 – 15,57]	33,71 [26,54 – 54,70]	p<0,001

Примечание: * результаты представлены Ме [Q1-Q3]

В группе пациентов с гиперпролактинемией медиана концентрации пролактина у женщин статистически значимо выше 59,01 [45,41 – 84,31] нг/мл, чем у мужчин 33,71 [26,54 – 54,70] нг/мл ($p < 0,001$). В группе пациентов без гиперпролактинемии медиана концентрации пролактина у женщин составила 13,96 [8,69 – 19,39] нг/мл, у мужчин – 11,78 [7,54 – 15,57] нг/мл ($p = 0,003$) (Рисунок 1). По результатам нашего исследования предрасполагающими факторами риска развития гиперпролактинемии являются женский пол, молодой возраст и высокие дозы антипсихотиков, что согласуется с результатами зарубежных исследований.

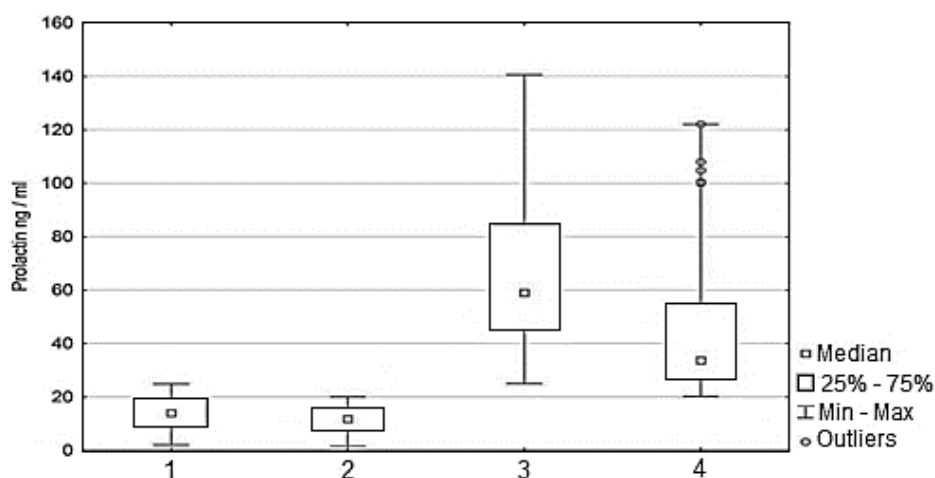


Рисунок 1 – Сравнение концентрации пролактина в зависимости от половой принадлежности (1 – женщины, 2 – мужчины с нормальной концентрацией пролактина; 3 – женщины, 4 – мужчины с гиперпролактинемией)

Однонуклеотидные полиморфные варианты генов дофаминовых рецепторов *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4* и лекарственно–индуцированная гиперпролактинемия у пациентов с шизофренией. Проведен молекулярно-генетический анализ 22 полиморфных вариантов четырех потенциальных генов-кандидатов дофаминовых рецепторов *DRD1* (rs4532), *DRD2* (rs4245147, rs6279, rs6277, rs2283265, rs1076560, rs1076562, rs2734842), *DRD3* (rs963468, rs167771, rs1587756, rs9817063, rs11721264, rs3773678, rs7633291, rs2134655, rs167770, rs324035, rs6280) и *DRD4* (rs3758653, rs936461, rs11246226).

Статистически значимые различия между группами пациентов с гиперпролактинемией и без данного осложнения были получены для двух SNP-маркеров генов дофаминовых рецепторов rs6277 ($\chi^2=3,98$; $p=0,045$) и rs936461 ($\chi^2=4,43$; $p=0,035$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнение частот аллелей полиморфного варианта rs6277 гена *DRD2* и rs936461 гена *DRD4* между группой пациентов с гиперпролактинемией (ГП) и группой пациентов с нормальным уровнем пролактина

SNP	Аллели	Пациенты с ГП (%)	Пациенты без ГП (%)	OR	95% CI	χ^2	p
rs6277	C	227 (50,2)	247 (56,7)	0,76	0,59 – 1,00	3,98	0,045
	T	225 (49,8)	187 (43,3)	1,31	1,00 – 1,71		
rs936461	A	164 (38,0)	128 (31,1)	1,36	1,02 – 1,81	4,43	0,035
	G	268 (62,0)	284 (68,9)	0,74	0,55 – 0,98		

Аллель А полиморфного варианта rs936461 статистически значимо чаще встречается в группе больных с повышенным пролактином и ассоциирован с повышенным риском развития гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии (OR = 1,36; 95% CI: 1,02 – 1,81). Частота аллеля G (OR = 0,74; 95% CI: 0,55 – 0,98), а также генотипа GG ($p_{OR}=0,045$; OR = 0,66; 95% CI: 0,44 – 0,99) выше в группе пациентов с нормальным уровнем пролактина.

На уровне статистической тенденции можно отметить различия в частотах генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs167771 гена *DRD3* ($\chi^2=5,423$; $p=0,066$). Носительство гетерозиготного генотипа GA данного полиморфизма снижает риск развития гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией ($p_{OR}=0,037$; OR = 0,62; 95% CI: 0,41 – 0,95).

Ассоциация полиморфных вариантов генов серотониновых рецепторов *HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR3A*, *HTR2C* и *HTR6* с нейролептической гиперпролактинемией. Серотониновая (5-НТ) стимуляция секреции пролактина опосредуется через дофаминергическую систему, причем лиганды 5-НТ не оказывают прямого влияния на высвобождение пролактина гипофизом [Chaiseha Y. et al., 2010]. Серотониновые рецепторы 5-НТ1А, 5-НТ2А, 5-НТ2С и 5-НТ3 семейств участвуют в регуляции как базальной, так и стрессиндуцированной секреции пролактина [Jorgensen H.S., 2007].

Для изучения возможной роли генов серотонинергической системы в развитии гиперпролактинемии проведен молекулярно-генетический анализ 27 полиморфных

вариантов генов серотониновых рецепторов *HTR1A* (rs6295, rs1364043, rs749099, rs10042486), *HTR1B* (rs6298, rs6296, rs130058), *HTR2A* (rs6311, rs6313, rs2224721, rs6312, rs9316233, rs1928040, rs6314, rs7997012), *HTR2C* (rs12858300, rs569959, rs17326429, rs6318, rs5946189, rs4911871, rs1801412, rs3813929), *HTR3A* (rs1176713, rs1062613, rs33940208) и *HTR6* (rs1805054). Ассоциаций полиморфных вариантов генов серотониновых рецепторов в общей группе пациентов в зависимости от наличия/отсутствия гиперпролактинемии выявлено не было. В общей сложности, изучаемый побочный эффект нейролептической терапии наблюдался у 227 пациентов: 129 женщин и 98 мужчин. Учитывая тот факт, что наследование генов локализованных в X-хромосоме сцеплено с полом, распределение частот генотипов и аллелей 8 изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов гена *HTR2C* было проанализировано отдельно в группах женщин и мужчин с шизофренией.

В группе мужчин выявлены ассоциации полиморфных вариантов rs569959 ($\chi^2=5,66$; $p=0,017$) и rs4911871 ($\chi^2=4,05$; $p=0,044$) с синдромом гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии (Таблица 3).

Таблица 3 – Сравнение частот аллелей полиморфных вариантов гена *HTR2C* между группой мужчин с гиперпролактинемией (ГП) и группой мужчин с нормальным уровнем пролактина

SNP	Аллели	Мужчины с ГП (%)	Мужчины без ГП (%)	OR	95% CI	χ^2	p
rs569959	A	60 (63,2)	95 (77,9)	0,49	0,27 – 0,89	5,66	0,017
	G	35 (36,8)	27 (22,1)	2,05	1,13 – 3,73		
rs4911871	A	70 (71,4)	101 (82,8)	0,52	0,27 – 0,99	4,05	0,044
	G	28 (28,6)	21 (17,2)	1,92	1,01 – 3,66		

В группе мужчин с гиперпролактинемией выше частота аллелей rs569959*G (OR 2,05; 95% CI: 1,13 – 3,73) и rs4911871*G (OR 1,92; 95% CI: 1,01 – 3,66), чем в группе сравнения. В группе мужчин без изучаемого побочного эффекта выше частота аллелей rs569959*A (OR 0,49; 95% CI: 0,27 – 0,89) и rs4911871*A (OR 0,52; 95% CI: 0,27 – 0,99), что говорит об их протективном эффекте. С помощью программы Haploview 4.2 был проведен ассоциативный анализ для полиморфных вариантов гена *HTR2C* по частотам аллелей в общей группе пациентов. Выявлены статистически значимые результаты для полиморфных вариантов rs3813929, rs569959, rs17326429 и rs4911871 (Таблица 4).

Таблица 4 – Сравнение частот аллелей полиморфных вариантов гена *HTR2C* между группой пациентов с гиперпролактинемией (ГП) и группой пациентов с нормальным уровнем пролактина в общей выборке больных

SNP	Минорный аллель	Пациенты с ГП; Пациенты без ГП	OR; 95% CI	χ^2	p
rs3813929	T	0,195; 0,121	1,76; 1,15 – 2,71	6,84	0,008
rs569959	G	0,329; 0,229	1,65; 1,17 – 2,32	8,09	0,004
rs17326429	A	0,199; 0,122	1,79; 1,17 – 2,75	7,21	0,007
rs4911871	G	0,251; 0,173	1,60; 1,10 – 2,34	6,03	0,014

Также была проанализирована связь между гиперпролактинемией и гаплотипами полиморфных вариантов, локализованных в X-хромосоме. Выявлены ассоциации гаплотипов rs3813929*T, rs569959*G, rs17326429*A, rs6318*G, rs4911871*G, rs5946189*T ($p = 0,003$) и rs3813929*C, rs569959*G, rs17326429*G, rs6318*C, rs4911871*A, rs5946189*C ($p = 0,048$) гена *HTR2C* с гиперпролактинемией (Таблица 5). Гаплотип TGAGGT является предрасполагающим к развитию лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии (OR 1,65; 95% CI: 1,18 – 2,32). В данном гаплотипе присутствовали все 4 аллеля rs3813929*T, rs569959*G, rs17326429*A и rs4911871*G, повышающие риск развития гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии. На уровне статистической тенденции выявлено, что носительство гаплотипа CGGCAC также может повышать риск развития гиперпролактинемии (OR = 1,44; 95% CI: 1,00 – 2,07).

Таблица 5 – Анализ связи между гиперпролактинемией и гаплотипами гена *HTR2C* в общей выборке пациентов

<i>HTR2C</i>	Частота	OR	95% CI	p
CAGGAT	0,648	1,00	-	-
CAGGGT	0,069	1,28	0,83 - 1,97	0,264
CGGCAC	0,104	1,44	1,00 - 2,07	0,048
TGAGGT	0,151	1,65	1,18 - 2,32	0,003
TGAGAT	0,026	1,36	0,74 - 2,53	0,324

Примечание: порядок однонуклеотидных полиморфизмов в гаплотипе rs3813929, rs569959, rs17326429, rs6318, rs4911871, rs5946189

Полиморфный вариант rs1341239 гена пролактина *PRL* у больных шизофренией с гиперпролактинемией и без изучаемого побочного эффекта. Для изучения роли гена пролактина *PRL* в развитии гиперпролактинемии проведено генотипирование функционального полиморфного варианта rs1341239 (-1149 G/T). Выявлены ассоциации генотипов и аллелей данного генетического маркера с повышенным уровнем пролактина на фоне нейролептической терапии (Таблица 6). Гомозиготный генотип GG ($p_{OR}=0,005$; OR 1,79; 95% CI: 1,18 – 2,71) и аллель G (OR 1,42; 95% CI: 1,08 – 1,85) статистически значимо чаще встречаются в группе пациентов с изучаемым побочным эффектом.

Таблица 6 – Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs1341239 между группой пациентов с гиперпролактинемией (ГП) и группой пациентов с нормальным уровнем пролактина

SNP	Генотипы / аллели	Пациенты с ГП (%)	Пациенты без ГП (%)	OR	95% CI	χ^2	p
rs1341239	GG	93 (41,2)	61 (28,1)	1,79	1,20 – 2,66	8,30	0,016
	GT	96 (42,5)	112(51,6)	0,69	0,48 – 1,01		
	TT	37 (16,4)	44 (20,3)	0,77	0,47 – 1,25		
	G	282 (62,4)	234 (53,9)	1,42	1,08 – 1,85	6,53	0,010
	T	170 (37,6)	200 (46,1)	0,71	0,54 – 0,92		

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов с нейролептической гиперпролактинемией в зависимости от пола. Физиологические и генетические различия между представителями разного пола могут оказывать влияние на фармакокинетику и фармакодинамику лекарственных средств [Mattison Faye A.C., Mattison D.R, 2008; Решетько О.В., Луцевич К.А.; 2015]. Для изучения различий, обусловленных полом, в механизме развития нейролептической гиперпролактинемии был проведен ассоциативный анализ полиморфных вариантов исследуемых генов-кандидатов в группах женщин и мужчин с шизофренией.

Показаны гендер-специфические ассоциации полиморфных вариантов генов *DRD2* (rs4245147), *HTR2A* (rs6312) с гиперпролактинемией у женщин и *DRD2* (rs4245147), *DRD3* (rs167771), *DRD4* (rs936461) и *PRL* (rs1341239) с гиперпролактинемией в группе мужчин (Рисунок 2).

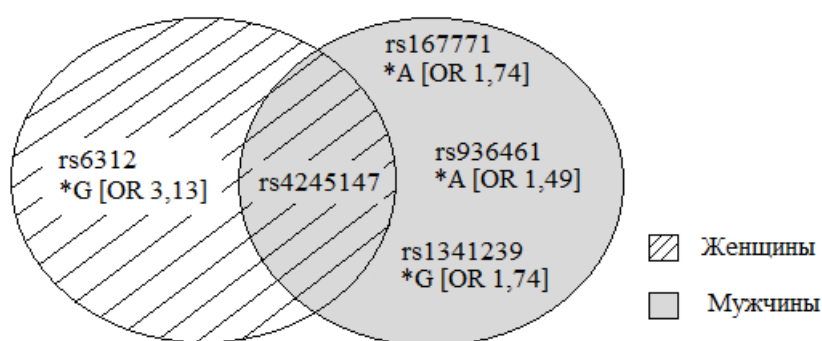


Рисунок 2 – Аллели гендер-специфических полиморфных вариантов исследуемых генов, повышающие риск нейролептической гиперпролактинемии

Аллель G ($p = 0,035$; OR 3,13; 95% CI: 1,03 – 9,53) и носительство гетерозиготного генотипа GA ($p = 0,030$; OR 3,29; 95% CI: 1,06 – 10,17) варианта rs6312 предрасполагает к развитию гиперпролактинемии у женщин. В группе мужчин повышают риск развития изучаемого нейроэндокринного побочного эффекта аллели rs167771*A ($p = 0,045$; OR 1,74; 95% CI: 1,01 – 3,02), rs936461*A ($p = 0,049$; на уровне статистической тенденции OR 1,49; 95% CI: 1,00 – 2,23), rs1341239*G ($p = 0,004$; OR 1,74; 95% CI: 1,19 – 2,56) и генотипы rs167771*AA ($p_{OR}=0,040$; OR 1,99; 95% CI: 1,03 – 3,89) и rs1341239*GG ($p_{OR}=0,001$; OR 2,67; 95% CI: 1,43 – 5,00).

Интересными представляются результаты для SNP-маркера rs4245147 гена *DRD2*. Аллели данного варианта имеют противоположные эффекты в группах женщин и мужчин с шизофренией. В группе женщин носительство аллеля C (OR 1,56; 95% CI: 1,06 – 2,29) и генотипа CC ($p_{OR}=0,045$; OR 2,14; 95% CI: 1,01 – 4,56) повышает риск развития гиперпролактинемии, тогда как в группе мужчин предрасполагающими к развитию данного побочного эффекта являются аллель T ($p = 0,007$; OR 1,70; 95% CI: 1,15 – 2,51) и генотип TT ($p_{OR}=0,037$; OR 1,86; 95% CI: 1,04 – 3,36).

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов с гиперпролактинемией в зависимости от профиля получаемой терапии. Представлялось интересным проанализировать связь исследуемых молекулярно-генетических маркеров с гиперпролактинемией в зависимости от применяемой

антипсихотической терапии. Для этого был проведён ассоциативный анализ отдельно в группах пациентов, принимающих типичные антипсихотики (n=191), атипичные антипсихотики (n=176), а также, получающих комбинированную терапию (n=79). В результате анализа было показано, что полиморфные варианты генов *DRD2* (rs6277, rs2283265, rs1076560), *DRD3* (rs167771, rs324035), *PRL* (rs1341239), а также SNP-маркер rs569959 гена *HTR2C* ассоциированы с развитием гиперпролактинемии на фоне приема типичных антипсихотиков (Таблица 7).

Таблица 7 – Генетические маркеры, показавшие ассоциации с нейролептической гиперпролактинемией в группе пациентов, принимающих терапию типичными нейролептиками

SNP	Генотипы/ аллели	OR	95% CI	χ^2	p _{OR}
<i>DRD2</i> rs6277	TT	2,22	1,04 – 4,75	4,33	0,037
	C	0,63	0,42 – 0,95	4,87	0,028
	T	1,58	1,05 – 2,37		
<i>DRD2</i> rs2283265	GG	1,87	1,02 – 3,43	4,16	0,041
	G	1,73	1,04 – 2,87	4,50	0,034
	T	0,58	0,35 – 0,96		
<i>DRD2</i> rs1076560	CC	2,18	1,10 – 4,32	5,14	0,023
	C	2,00	1,18 – 3,40	6,67	0,010
	A	0,50	0,29 – 0,85		
<i>DRD3</i> rs167771	GA	0,45	0,20 – 0,98	4,01	0,045
<i>DRD3</i> rs324035	CA	0,43	0,20 – 0,95	4,44	0,035
<i>PRL</i> rs1341239	GG	2,29	1,18 – 4,47	6,22	0,013
	G	1,59	1,05 – 2,40	4,87	0,028
	T	0,63	0,42 – 0,95		
<i>HTR2C</i> rs569959 (женщины)	AA	0,43	0,19 – 0,96	4,31	0,038
	A	0,50	0,26 – 0,94	4,75	0,030
	G	2,02	1,07 – 3,80		

На фоне терапии атипичными нейролептиками в механизме развития гиперпролактинемии показана роль SNP-маркера rs1176713 гена *HTR3A*. Предрасполагают к возникновению нейроэндокринного побочного эффекта аллель Т (p = 0,040; OR 1,73; 95% CI: 1,02 – 2,93) и генотип TT (p_{OR}=0,042; OR 1,99; 95% CI: 1,02 – 3,87), протективными являются аллель С (p = 0,040; OR 0,58; 95% CI: 0,34 – 0,98) и гетерозиготный генотип СТ (p_{OR}=0,046; OR 0,53; 95% CI: 0,28 – 0,99).

В связи с тем, что частота встречаемости гиперпролактинемии при использовании рисперидона достигает 40–80% случаев, для статистического анализа нами была выделена подгруппа пациентов (n = 76), принимающих данный препарат. В исследуемой группе пациентов распространенность рисперидон-индуцированной гиперпролактинемии очень высока и составляет 77,6%. Ассоциативный анализ выявил статистически значимые различия по полиморфным вариантам rs6298, rs6296 гена *HTR1B* и rs1341239 гена *PRL*

между группами пациентов с гиперпролактинемией и без нее, принимающих рисперидон (Таблица 8).

Таблица 8 – Генетические маркеры, показавшие ассоциации с рисперидон-индуцированной гиперпролактинемией

SNP	Генотипы/ аллели	OR	95% CI	χ^2	p _{OR}
<i>HTR1B</i> rs6298	TT	0,17	0,03 – 0,87	3,39	0,041
	C	2,36	1,05 – 5,29	4,48	0,034
	T	0,42	0,19 – 0,95		
<i>HTR1B</i> rs6296	CC	0,16	0,03 – 0,81	3,78	0,034
	C	0,38	0,17 – 0,87	5,52	0,018
	G	2,62	1,15 – 5,95		
<i>PRL</i> rs1341239	TT	0,20	0,05 – 0,81	5,41	0,020
	G	2,52	1,13 – 5,63	5,23	0,022
	T	0,40	0,18 – 0,89		

Уровень пролактина в зависимости от генотипов полиморфных вариантов исследуемых генов в группах женщин и мужчин с шизофренией. В связи с тем, что границы нормальных значений уровня пролактина различаются в зависимости от половой принадлежности (норма концентрации пролактина для мужчин до 20 нг/мл, для женщин до 25 нг/мл), данный анализ был проведен отдельно для женщин и мужчин с шизофренией в общей группе сравнения, а также в подгруппах пациентов, принимающих типичные/атипичные нейролептики (в частности, рисперидон) или комбинированную терапию.

Для полиморфных вариантов rs12858300 ($p = 0,038$), rs569959 ($p = 0,045$), rs6318 ($p = 0,045$) гена *HTR2C* были выявлены статистически значимые различия в распределении уровня пролактина (Таблица 9). Носительство гетерозиготного генотипа rs12858300*GC ассоциировано с повышенной концентрацией пролактина у женщин с шизофренией. Следует отметить, что 15 носителей данного генотипа имели установленный диагноз гиперпролактинемии.

Таблица 9 – Уровень пролактина в зависимости от генотипов/аллелей полиморфных вариантов гена *HTR2C* в общей группе пациентов, (нг/мл)

SNP	Генотипы/ аллели	N	Уровень пролактина, Ме [Q1 – Q3]	H	p
rs12858300 (женщины)	CC	0	–	4,32	0,038
	GC	16	47,28 [38,63 – 76,09]		
	GG	208	30,82 [15,21 – 64,88]		
rs569959 (мужчины)	A	155	16,97 [10,38 – 30,45]	4,00	0,045
	G	62	23,51 [13,32 – 34,29]		
rs6318 (мужчины)	C	27	25,79 [13,77 – 48,17]	4,00	0,045
	G	194	17,28 [10,49 – 30,60]		

Исследование уровня пролактина в подгруппах пациентов, в зависимости от принимаемой терапии, выявило значимые различия для следующих полиморфных вариантов: терапия типичными антипсихотиками – *DRD3* (rs167771, rs324035), *HTR1A* (rs1364043), *HTR2A* (rs7997012); терапия атипичными антипсихотиками – *DRD3* (rs963468, rs167771), в том числе терапия риспериδοном – *DRD2* (rs6277), *DRD3* (rs963468), *HTR1B* (rs6298) и *PRL* (rs1341239) (Таблица 10).

Таблица 10 – Уровень пролактина в зависимости от генотипов полиморфных вариантов исследуемых генов в подгруппах пациентов, принимающих различную антипсихотическую терапию, (нг/мл)

Ген	SNP	Группа сравнения	Пол	Н	p _н	p _{м-и}
<i>DRD2</i>	rs6277	Рисперидон	женский	5,75	0,056	p_{CT-TT} = 0,021
<i>DRD3</i>	rs167771	Типичные антипсихотики	женский	6,18	0,045	p_{AA-GA} = 0,015
	rs167771	Атипичные антипсихотики	мужской	5,68	0,058	p_{AA-GA} = 0,042
	rs324035	Типичные антипсихотики	женский	8,37	0,015	p_{CC-CA} = 0,005
	rs963468	Атипичные антипсихотики	мужской	6,56	0,038	p_{AG-GG} = 0,010
	rs963468	Рисперидон	женский	8,60	0,014	p_{AA-AG} = 0,005 p_{AA-GG} = 0,022
<i>HTR1A</i>	rs1364043	Типичные антипсихотики	женский	6,61	0,037	p_{GG-GT} = 0,013 p_{GG-TT} = 0,014
<i>HTR2A</i>	rs7997012	Типичные антипсихотики	женский	8,62	0,013	p_{AG-GG} = 0,005
<i>HTR1B</i>	rs6298	Рисперидон	женский	5,64	0,060	p_{CC-CT} = 0,026
<i>PRL</i>	rs1341239	Рисперидон	мужской	5,65	0,059	p_{GG-GT} = 0,048

Примечание: p_н – уровень значимости для критерия Краскела-Уоллиса; p_{м-и} – уровень значимости для критерия Манна-Уитни при попарных сравнениях генотипов

Оценка прогностической эффективности исследуемых полиморфных вариантов генов в отношении риска развития нейролептической гиперпролактинемии. Анализ прогностической эффективности полиморфных вариантов ассоциированных с фенотипом гиперпролактинемии показал невысокие значения AUC (< 0,60). Так как данные SNP-маркеры обладают низкой прогностической эффективностью, следующим шагом был регрессионный анализ, где в качестве факторов выступили 50 исследуемых SNP-маркеров, а также пол, возраст, длительность заболевания, доза антипсихотика в хлорпромазиновом эквиваленте и тип получаемой терапии в качестве клинико-демографических характеристик пациентов. В данном анализе гиперпролактинемия выступила в качестве зависимой дихотомической переменной.

Наилучшая дискриминантная модель получена с включением как полиморфных вариантов rs1341239 гена *PRL* и rs4911871 гена *HTR2C* в качестве генетической

компоненты, так и пола, возраста пациентов с шизофренией. Значение отношения шансов и доверительные интервалы для значимых предикторов представлено в таблице 11.

Таблица 11 – Значения OR (95% CI) для логистической регрессии

Факторы	p	OR	95% CI
(Intercept)	0,000	0,145	-
Пол	0,003	2,114	1,286 - 3,476
Возраст	0,001	1,032	1,013 - 1,052
rs1341239	0,004	1,640	1,166 - 2,307
rs4911871	0,020	0,679	0,489 - 0,942
Примечание: OR - отношение шансов; 95% CI - 95% доверительный интервал			

Наилучший набор предикторов устанавливали на основании результатов переклассификации пациентов. Для итоговой модели рассчитывали показатели чувствительности (SE 0,596 [0,513-0,675]), специфичности (SP 0,608 [0,528-0,684]), площадь под ROC-кривой (AUC 0,661 [0,601 – 0,720]), положительное и отрицательное предсказательные значения. Данная прогностическая модель дает ошибку классификации около 39 %.

В нашем исследовании показано, что генетические, а также некоторые демографические и клинические факторы играют важную роль в развитии нейролептической гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией. Включение в прогностическую модель генетических признаков улучшает качество классификации AUC 0,661 [0,601 – 0,720] (Рисунок 3). Полученная прогностическая модель обладает средним качеством, вероятно дело в том, что нейротрансмиттерные системы, вовлеченные в механизмы воздействия антипсихотических препаратов, только косвенно задействованы в патогенезе гиперпролактинемии.

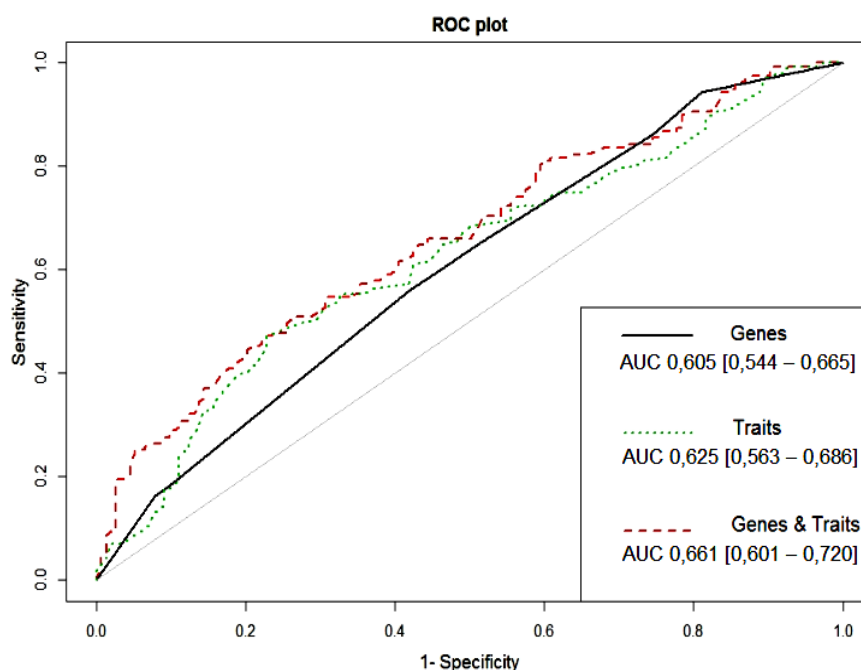


Рисунок 3 – ROC-кривые для моделей, включающих как генетические, так и клинко-демографические признаки

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гиперпролактинемия является широко распространенным побочным эффектом фармакотерапии пациентов с шизофренией. В нашем исследовании гиперпролактинемия была диагностирована у 50,9% больных, причем частота гиперпролактинемии среди женщин значимо выше (57,3%), чем в группе мужчин (44,3%) с шизофренией. Молодой возраст также является фактором уязвимости относительно развития данного осложнения, что может быть связано с большей частотой случаев гиперпролактинемии у женщин репродуктивного возраста [Halbreich U. et al., 2003; Kelly D.L. et al., 2013].

В связи с тем, что гиперпролактинемия является дозозависимым побочным эффектом, ожидало было выявить в группе пациентов с нейролептической гиперпролактинемией значимо более высокие дозы антипсихотиков, выраженные в хлорпромазиновом эквиваленте ($p = 0,005$). Однако показано, что нейролептики, обладающие высоким пролактогенным потенциалом (амисульприд, сульприд, рисперидон и палиперидон), могут оказывать сильное влияние на уровни пролактина даже в относительно низких дозах, в то время как уровни пролактина с антипсихотическими препаратами, оказывающими минимальное влияние на пролактин (кветиапин, арипипразол), в большинстве случаев остаются неизменными во всех дозировках [Peuskens J. et al., 2014].

В рамках данной работы была исследована вовлечённость 50 однонуклеотидных полиморфизмов генов дофаминергической (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*), серотонинергической (*HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR2C*, *HTR3B*, *HTR6*) систем и гена пролактина *PRL* в формирование синдрома гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии. С помощью сервиса GeneMANIA (URL: <https://genemania.org>) были построены генные сети, включающие исследуемые гены-кандидаты (Рисунок 4).

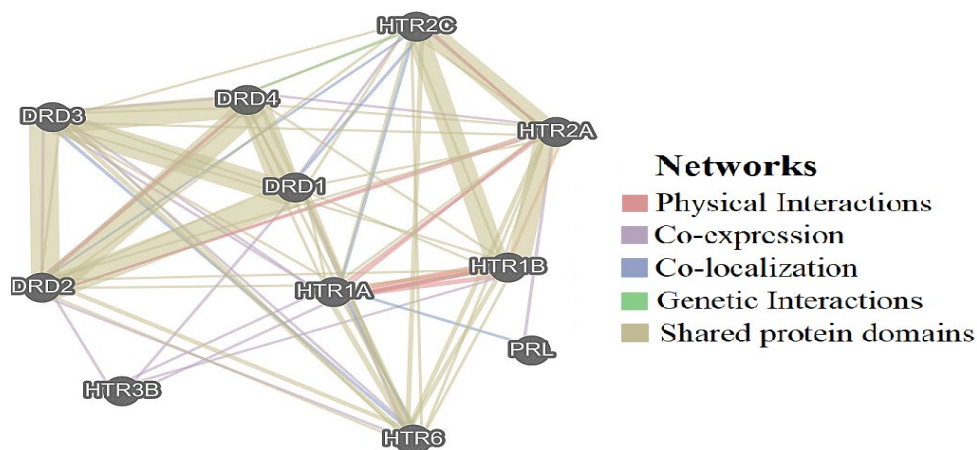


Рисунок 4 – Генная сеть взаимодействий исследуемых генов. Фиолетовые линии обозначают ко-экспрессию генов; синие линии – со-локализацию; красные линии – физическое взаимодействие; зеленые линии – генетическое взаимодействие; коричневые линии – общие белковые домены

Сети ко-экспрессии исследуемых генов представляют интерес, так как коэкспрессированные гены могут быть функционально связаны или являться членами одного и того же пути или белкового комплекса. Представляет интерес и наличие функциональной связи, генетического взаимодействия между генами *DRD4* и *HTR2C*, для которых выявлены ассоциации с развитием гиперпролактинемии.

Ряд полученных ассоциаций могут быть объяснены с точки зрения функциональной значимости полиморфных вариантов. Аллель Т маркера rs6277 (*DRD2*) приводит к снижению уровней и стабильности мРНК, тогда как аллель С не связан с подобными изменениями в мРНК, что приводит к относительному увеличению экспрессии *DRD2* у носителей данного аллеля. Аллель rs1076560*Т меняет сайт сплайсинга, что приводит к синтезу другой изоформы белка *DRD2*. Для аллеля С полиморфного варианта rs6296 показана связь с низкой плотностью *HTR1B*-рецепторов и пониженной экспрессией гена *HTR1B*. Аллель rs3813929*Т приводит к увеличению связывания серотонина с рецептором и повышенной экспрессии гена *HTR2C*. Аллель rs1341239*G (*PRL*) увеличивает связывание пролактина с рецептором, что приводит к более высоким уровням пролактина в Т-лимфоцитах.

Разработанные на основе выявления генетических особенностей способы прогнозирования риска развития неблагоприятных побочных эффектов позволят персонализировать проводимую терапию, что будет способствовать повышению качества жизни и социальной адаптации пациентов с шизофренией.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность нейролептической гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией Сибирского региона составляет 50,9 %. Клиническими факторами риска развития гиперпролактинемии являются женский пол, молодой возраст и, выраженные в CPZeq эквиваленте, высокие дозы антипсихотиков.
2. Ассоциации с синдромом гиперпролактинемии в общей группе пациентов получены для SNP-маркеров генов *DRD2* (rs6277), *DRD4* (rs936461), *HTR2C* (rs3813929, rs569959, rs17326429, rs4911871), *PRL* (rs1341239), а также для гаплотипов TGAGGT и CGGCAC гена *HTR2C*.
3. Выявлены гендерные особенности ассоциации полиморфных вариантов ряда генов с риском гиперпролактинемии. Влияние на развитие изучаемого осложнения у женщин оказывают полиморфные варианты в генах *DRD2* (rs4245147), *HTR2A* (rs6312), у мужчин – *DRD2* (rs4245147), *DRD3* (rs167771), *DRD4* (rs936461), *HTR2C* (rs569959, rs4911871), *PRL* (rs1341239). Аллели маркера rs4245147 (*DRD2*) обладают противоположным эффектом у представителей разных полов.
4. Показан вклад отдельных маркеров в формирование фенотипа гиперпролактинемии в зависимости от получаемой терапии: типичные нейролептики – *DRD2* (rs6277, rs2283265, rs1076560), *DRD3* (rs167771, rs324035), *HTR2C* (rs569959) и *PRL* (rs1341239); атипичные нейролептики – *HTR3A* (rs1176713); терапия рисперидоном – *HTR1B* (rs6298, rs6296), *PRL* (rs1341239).
5. На концентрацию уровня пролактина у женщин влияют SNP-маркеры rs6277 (*DRD2*), rs963468, rs167771, rs324035 (*DRD3*), rs1364043 (*HTR1A*), rs6298 (*HTR1B*), rs7997012 (*HTR2A*), rs12858300 (*HTR2C*), у мужчин – rs963468, rs167771 (*DRD3*), rs569959 и rs6318 (*HTR2C*), rs1341239 (*PRL*).
6. По результатам проведения регрессионного анализа показано, что прогностическими факторами, влияющими на риск развития нейролептической гиперпролактинемии, являются пол, возраст и полиморфные варианты rs1341239 (*PRL*) и rs4911871 (*HTR2C*).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК

1. Ivanova S.A., **Osmanova D.Z.**, Freidin M.B., Fedorenko O.Yu., Boiko A.S., Pozhidaev I.V., Semke A.V., Bokhan N.A., Agarkov A.A., Wilffert B., Loonen A.J.M. Identification of 5-hydroxytryptamine receptor gene polymorphisms modulating hyperprolactinaemia in antipsychotic drug-treated patients with schizophrenia // *World Journal of Biological Psychiatry*. – 2017. – Vol. 18. – № 3. – P. 239-246.
2. Ivanova S.A., **Osmanova D.Z.**, Boiko A.S., Pozhidaev I.V., Freidin M.B., Fedorenko O.Yu., Semke A.V., Bokhan N.A., Kornetova E.G., Rakhmazova L.D., Wilffert B., Loonen A.J.M. Prolactin gene polymorphism (–1149 G/T) is associated with hyperprolactinemia in patients with schizophrenia treated with antipsychotics // *Schizophrenia Research*. – 2017. – Vol.182. – P. 110-114.
3. Fedorenko O.Y., Loonen A.J.M., Vyalova N.M., Boiko A.S., Pozhidaev I.V., **Osmanova D.Z.**, Rakhmazova L.D., Bokhan N.A., Ivanov M.V., Freidin M.B., Ivanova S.A. Hyperprolactinemia and *CYP2D6*, *DRD2* and *HTR2C* genes polymorphism in patients with schizophrenia // *Physiology and pharmacology*. – 2017. – Vol. 1. – P. 25-33.
4. **Osmanova D.Z.**, Freidin M.B., Fedorenko O.Yu., Pozhidaev I.V., Boiko A.S., Vyalova N.M., Tiguntsev V.V., Kornetova E.G., Loonen A.J.M., Semke A.V., Wilffert B., Bokhan N.A., Ivanova S.A. A pharmacogenetic study of patients with schizophrenia from West Siberia gets insight into dopaminergic mechanisms of antipsychotic-induced hyperprolactinemia // *BMC Medical Genetics*. – 2019. – Vol. 20. – № 1. – P.47.
5. **Падерина Д.З.**, Тигунцев В.В., Стегний В.Н. Аллельные варианты генов *DRD2* и *COMT* и антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия у больных шизофренией // *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия Естественные и Технические Науки*. – 2020. – №1. – С. 201-204.
6. Бойко А.С., Пожидаев И.В., **Падерина Д.З.** Роль генов нейромедиаторных рецепторов в развитии антипсихотик-индуцированных побочных эффектов при шизофрении // *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия Естественные и Технические Науки*. – 2020. – №3. – С. 17-22.
7. **Падерина Д.З.**, Фрейдin М.Б., Федоренко О.Ю., Стегний В.Н., Иванова С.А. Прогностическая модель риска развития гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией на фоне антипсихотической терапии // *Медицинская генетика*. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 3-10.

Прочие публикации

1. **Османова Д.З.**, Федоренко О.Ю., Бойко А.С., Пожидаев И.В., Семке А.В., Агарков А.А., Бохан Н.А., Иванова С.А. Полиморфные варианты генов дофаминовых и серотониновых рецепторов и развитие лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией // *Современные возможности генетики в психиатрии. Сборник тезисов*. – 2015. – С.16 – 17.
2. **Османова Д.З.**, Федоренко О.Ю. Полиморфные варианты генов дофаминовых и серотониновых рецепторов и развитие гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии у пациентов с шизофренией // *Биомаркеры в психиатрии: поиск и перспективы: сборник тезисов Российской конференции с международным участием и школы-семинара молодых ученых / под ред. Н. А. Бохана, С. А. Ивановой*. – Томск: Изд-во «Иван Федоров». – 2016. – С. 89–90.
3. **Osmanova D.Z.** Gene polymorphism of serotonin receptors and drug-induced hyperprolactinemia in schizophrenic patients / D.Z. Osmanova, A.S. Boiko, O.Yu. Fedorenko, I.V. Pozhidaev, M.B. Freidin, E.G. Kornetova, S.A. Ivanova, B. Wilffert, A.J.M. Loonen // *European Neuropsychopharmacology*. – 2016. – Vol. 26. – Suppl.2. – P. 515–516.
4. Boiko A.S., **Osmanova D.Z.**, Pozhidaev I.V., Fedorenko O.Yu., Ivanova S.A., Semke A.V., Bokhan N.A., Loonen A.J.M. Gene polymorphism of neurotransmitter transporters in schizophrenic

patients with drug-induced hyperprolactinemia // *European Neuropsychopharmacology*. – 2016. – Vol. 26. – Suppl.2. – P. 510–511.

5. Ivanova S., Boiko A., Bokhan N., Fedorenko O., Freidin M., Loonen A., **Osmanova D.**, Pozhidaev I., Semke A., Wilffert B. The association between serotonin receptor gene polymorphisms and hyperprolactinemia in antipsychotic drug-treated schizophrenic patients // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2016. – Vol. 19. – № 1. – P.87.

6. **Османова Д.З.**, Пожидаев И.В., Бойко А.С. Ассоциация полиморфных вариантов генов *DRD2* и *DRD3* с развитием нейролептической гиперпролактинемии у больных шизофренией // XIV международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук». – 2017. – С. 121-123.

7. **Osmanova D.Z.**, Boiko A.S., Fedorenko O.Y., Pozhidaev I.V., Freidin M.B., Kornetova E.G., Ivanova S.A., Wilffert B., Loonen A. Association of polymorphism in the dopamine receptors and transporter genes with hyperprolactinemia in patients with schizophrenia // *European Neuropsychopharmacology*. – 2017. – Vol. 27. – P. S923-S924.

8. **Османова Д.З.**, Тигунцев В.В., Михалицкая Е.В., Пожидаев И.В., Вялова Н.М., Стегний В.Н. Роль генов дофаминовых рецепторов в клиническом полиморфизме шизофрении, ответе на фармакотерапию и антипсихотик-индуцированных побочных эффектах // Научное обозрение. Биологические науки. – 2018. – № 5. – С. 22–27.

9. **Османова Д.З.** Ассоциация полиморфных вариантов генов нейромедиаторных систем и гена *ABCB1* с развитием нейролептической гиперпролактинемии // Старт в науку: материалы LXVII научной студенческой конференции Биологического института. – Томск: Издательский Дом ТГУ. – 2018. – С. 8.

10. Иванова С.А., **Османова Д.З.**, Бойко А.С., Пожидаев И.В., Федоренко О.Ю., Вялова Н.М., Полтавская Е.Г., Тигунцев В.В., Фрейдин М.Б., Корнетова Е.Г., Семке А.В. Антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия: фармакогенетические аспекты // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2018. – № 2. – С. 21–27.

11. **Османова Д.З.**, **Бойко А.С.** Роль аллельных вариантов генов серотонинергической системы в развитии лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией // Конгресс молодых учёных «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины». – 2018. – С. 115-117.

12. **Османова Д.З.**, Бойко А.С., Федоренко О.Ю., Пожидаев И.В., Фрейдин М.Б., Стегний В.Н., Корнетова Е.Г., Иванова С.А. Роль генов дофаминергической системы в развитии антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией // Психическое здоровье. – 2018. – Т. 16. – № 5. – С. 25-27.

13. Бойко А.С., Пожидаев И.В., **Падерина Д.З.**, Семке А.В. Гены дофаминовых рецепторов и транспортера у больных шизофренией: ассоциации с клиническими характеристиками заболевания // Обозрение психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева. – 2019. – №4. – С.93-95.

14. **Османова Д.З.**, Тигунцев В.В. Гены дофаминергической системы и лекарственно-индуцированная гиперпролактинемия у больных шизофренией. Сборник тезисов Международного Конгресса «VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы». Санкт-Петербург.: Изд-во ВВМ. – 2019. – С. 757.

15. **Osmanova D.**, Freidin M., Fedorenko O., Loonen A., Ivanova S. The risk prediction of development of neuroleptic hyperprolactinemia based on genetic markers // *European Neuropsychopharmacology*. – 2019. – Vol. 29. – Suppl.1. – P. 409.

16. Гиперпролактинемия у больных шизофренией: клинические особенности и модель прогноза с применением генетического тестирования: Пособие для врачей / В.В. Тигунцев, А.С. Бойко, **Д.З. Падерина**, В.Н. Петрова, А.В. Семке. – Томск: Издательство ООО «Интегральный переплет». – 2019. – 36 с.

17. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019621451 «Клинические и фармакогенетические характеристики больных шизофренией с антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемией» / **Падерина Д.З.**, Тигунцев В.В., Бойко А.С., Пожидаев И. В., Корнетова Е. Г., Иванова С. А.; правообладатель ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (RU). Заявка № 2019621354; заявл. 06.08.2019, дата регистрации 13.08.2019, дата государственной регистрации в Реестре баз данных 13 августа 2019 года.
18. **Падерина Д.З.**, Тигунцев В.В., Бойко А.С. Роль генов нейромедиаторных систем в развитии лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов конгресса молодых ученых. – 2020. – Р.404-407.
19. **Paderina D.Z.**, Pozhidaev I.V., Boiko A.S., Ivanova S.A. Genes of the dopaminergic system and antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia // Actual problems of neurobiology of mental and addictive disorders: collection of abstracts of the Russian conference with international participation. – 2020. –Р.203-205.
20. **Paderina D.Z.**, Boiko A.S., Pozhidaev I.V., Semke A.V., Ivanova S.A. Gender differences in the association of polymorphic variants of the 5-HT_{2C} receptor gene and antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia // European Neuropsychopharmacology. – 2021. – Vol.51. – P. e189.
21. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021614034. Программа поддержки принятия врачебных решений выбора антипсихотической терапии для лечения больных шизофренией с учётом риска развития гиперпролактинемии / Федоренко О.Ю., **Падерина Д.З.**, Фрейдин М.Б., Иванова С.А., Бойко А.С., Корнетова Е.Г., Пожидаев И. В., Тигунцев В.В.; правообладатель ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (RU). Заявка № 2021612250; дата поступления – 26.02.2021; дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ – 18.03.2021.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГП – гиперпролактинемия

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

МКБ-10 – международная классификация болезней 10-го пересмотра

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

AUC – площадь под кривой (Area Under the Curve)

OR– отношение шансов (odds ratio)

SNP – однонуклеотидный полиморфизм (Single nucleotide polymorphism)

SPSS – статистический пакет для социальных наук (Statistical Package for the Social Sciences)

Просьба высылать отзывы на автореферат по адресу:

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

Ученому секретарю диссертационного совета 24.1.215.03

канд. биол. наук Хитринской И.Ю.

e-mail: khitrinskaya@tnimc.ru