

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова»  
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

*На правах рукописи*



Грунина Мария Николаевна

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В  
МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ПРОГНОЗЕ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ТЕРАПИИ РАССТРОЙСТВ  
ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА

1.5.7. Генетика

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук  
Тараскина Анастасия Евгеньевна

Гатчина

2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Патогенез и клиническая картина шизофрении.....	15
1.2. Нарушение работы основных нейротрансмиттерных систем в головном мозге при шизофрении.....	16
1.2.1. Нейромедиатор дофамин.....	16
1.2.2. Дофаминергическая система мозга и дофаминовые рецепторы центральной нервной системы.....	17
1.2.3. Дофаминовая гипотеза шизофрении.....	22
1.2.4. Норадrenalин и адренергическая система.....	24
1.2.5. Гистамин и гистаминергическая система.....	27
1.3. Молекулярно-генетические основы развития шизофрении.....	28
1.3.1. Генетические варианты, ассоциированные с развитием шизофрении.....	29
1.3.2. Экспрессионные маркеры, ассоциированные с развитием шизофрении.....	32
1.4. Нейроиммунные взаимодействия, опосредованные дофамином.....	36
1.5. Фармакологическая терапия психических расстройств. Антипсихотические лекарственные средства.....	37
1.5.1. Механизм действия, терапевтический эффект.....	38
1.5.2. Молекулярно-генетические факторы в прогнозе эффективности антипсихотической терапии.....	40
1.5.3. Нежелательные побочные реакции, индуцированные приемом антипсихотических препаратов.....	42
1.5.3.1. Экстрапирамидные симптомы.....	43
1.5.3.2. Метаболические нарушения.....	44
1.6. Разработка модельных объектов изучения шизофрении.....	46
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	50
2.1. Характеристика обследуемых групп.....	50
2.2. Схема эксперимента.....	53
2.3. Объект исследования.....	54

2.4. Методы исследования.....	55
2.4.1. Получение сыворотки и выделение фракции мононуклеарных клеток периферической крови.....	55
2.4.2. Выделение геномной ДНК из мононуклеарных клеток периферической крови.....	55
2.4.3. Выделение тотальной РНК из мононуклеарных клеток периферической крови.....	56
2.4.4. Получение кДНК методом обратной транскрипции.....	57
2.4.5. Количественное определение уровней мРНК генов <i>DRD1</i> , <i>DRD2</i> , <i>DRD4</i> , <i>DRD5</i> , <i>ADRA1B</i> и <i>HRH1</i> методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.....	57
2.4.6. Определение генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) гена <i>DRD2</i> .....	60
2.4.7. Определения уровня белка рецепторов.....	61
2.4.8. Культивирование мононуклеарных клеток в присутствии галоперидола или оланзапина.....	63
2.4.9. Определение уровня дофамина в сыворотке крови.....	63
2.5. Статистическая обработка данных.....	63
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	65
3.1. Характеристики генов <i>DRD1</i> , <i>DRD2</i> , <i>DRD4</i> и <i>HRH1</i> в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы.....	65
3.1.1. Уровни мРНК генов <i>DRD1</i> , <i>DRD2</i> , <i>DRD4</i> и <i>HRH1</i> в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы.....	65
3.1.2. Распределение генотипов генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) гена <i>DRD2</i> в группе пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы.....	66
3.1.3. Влияние генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) на уровень мРНК гена <i>DRD2</i> в группе пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы.....	67
3.2. Уровни (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови, а также концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра до начала лечения в	

прогнозе эффективности терапии галоперидолом или оланзапином.....	68
3.2.1. Анализ эффективности антипсихотической терапии.....	68
3.2.2. Уровни мРНК генов рецепторов биогенных аминов в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином.....	69
3.2.3. Уровни белка рецепторов биогенных аминов в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином.....	71
3.2.4. Концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином.....	73
3.2.5. Генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) гена <i>DRD2</i> в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином.....	73
3.3. Уровни (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови, а также концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра до начала лечения в прогнозе безопасности терапии галоперидолом или оланзапином.....	74
3.3.1. Анализ безопасности антипсихотической терапии.....	74
3.3.2. Уровни (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови, а также концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов в ассоциации с безопасностью галоперидолом или оланзапином.....	75
3.3.3. Генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) гена <i>DRD2</i> в ассоциации с безопасностью терапии галоперидолом или оланзапином.....	79
3.4. Динамика уровней (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках, а также концентрации дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра на фоне терапии галоперидолом или оланзапином.....	80
3.5. Корреляция уровней (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра.....	86
3.6. Культивирование <i>in vitro</i> мононуклеарных клеток периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра в присутствии галоперидола или оланзапина.....	91
3.6.1. Уровни мРНК генов <i>DRD1</i> , <i>DRD2</i> , <i>DRD4</i> , <i>DRD5</i> , <i>ADRA1B</i> и <i>HRH1</i> в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра	

при культивировании <i>in vitro</i> в присутствии галоперидола или оланзапина.....	91
3.6.2. Ассоциация уровней мРНК генов <i>DRD1</i> , <i>DRD2</i> , <i>DRD4</i> , <i>DRD5</i> , <i>ADRA1B</i> и <i>HRH1</i> в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра при культивировании <i>in vitro</i> с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином.....	92
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	111
ВЫВОДЫ.....	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	116

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень её разработанности**

Шизофрения представляет собой многофакторное расстройство, развивающееся под влиянием различных генетических, физиологических причин и факторов окружающей среды. В понятие шизофрении, как общего психического заболевания, входят различные нозологические формы – расстройства шизофренического спектра (РШС), сходные по проявляемым симптомам, но различные по соотношению и степени их представленности у пациента (Grace et al., 2010; Howes et al., 2014). Это одно из наиболее тяжелых психических расстройств, характеризующееся высокой распространенностью от 0,4 до 1,7% среди населения и количеством больных более 21 млн по всему миру (Каар et al., 2019). Число больных РШС в РФ в 2019 году составило 532 887 человек (Казаковцев и соавт., 2020). Продолжительность жизни пациентов с РШС на 15-20 лет меньше по сравнению со средними показателями (Fleischhacker et al., 2014), что связывают не только с самим заболеванием, но и с лечением антипсихотическими препаратами (АП), повышающими риск развития ожирения, диабета и, как следствие, сердечно-сосудистых заболеваний.

Лекарственные препараты, используемые для лечения РШС, зачастую оказываются неэффективными для многих пациентов вследствие сложности и неоднородности генетических и нейробиологических механизмов, лежащих в основе психических патологий (Bell et al., 2012; Каар et al., 2019). Подбор препаратов проводят симптоматически, при этом известно, что у некоторых пациентов возможно проявление устойчивости к проводимому лечению, распространенность терапевтической резистентности к АП составляет от 7 до 60% (Andrade, 2016). Кроме того, прием АП может приводить к развитию побочных реакций, таких как экстрапирамидные и метаболические расстройства, в результате чего пациенты отказываются от проводимого лечения. Эффективное и безопасное лечение обеспечивает пациентам хороший уровень жизни и сохранение ремиссии. Таким образом, персонализация терапии, т.е. индивидуальный подбор АП до начала лечения на основе прогностических маркеров эффективности и

безопасности (отсутствия побочных реакций) запланированного лечения, является актуальным направлением клинической фармакологии психических расстройств.

Развитие психических расстройств ассоциировано с нарушением передачи нейротрансмиттеров центральной нервной системы (ЦНС) (Beaulieu et al., 2011, 2015; Hu et al., 2017). При этом “дофаминовая гипотеза” развития РШС до сих пор остается лидирующей (Howes et al., 2017). Дофамин (ДА) относится к группе биогенных аминов и обладает функциями нейротрансмиттера, участвуя в развитии и поддержании функций ЦНС, контроле движения и эмоциональном ответе (Seeman, 2007). Однако, дофаминовую гипотезу невозможно рассматривать обособленно, поскольку существует тесная взаимосвязь между всеми нейротрансмиттерными системами как в мозге, так и в периферических органах (Flik et al., 2015; Mäki-Marttunen et al., 2023; de Bartolomeis et al., 2023). Ключевыми белками нейротрансмиссии биогенных аминов являются их рецепторы. В основе механизма действия АП лежит блокада дофаминовых рецепторов 2 класса, а также воздействие на рецепторы других нейротрансмиттерных систем, таких как адренергическая и гистаминовая (Seeman, 2010; Varela, 2013; Sahlholm et al., 2013, Grinchii et al., 2020).

Вследствие труднодоступности тканей мозга, мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) рассматривают как простую и не инвазивную модель для изучения молекулярно-генетических показателей при психических патологиях и прогноза ответа пациентов на терапию (Numata et al., 2008; Shariati et al., 2009; Escamilla et al., 2018; Crespo-Facorro 2021; Wysokiński et al., 2021). МКПК синтезируют дофамин и содержат на своей поверхности основные классы дофаминовых (D1, D2, D3, D4, D5) (Kirillova et al., 2008; McKenna et al., 2002), адренергических ( $\alpha$  и  $\beta$ ), гистаминовых (Mäki-Marttunen et al., 2023) и других рецепторов биогенных аминов.

Известно, что шизофрения является многофакторным, а также полигенным расстройством (Howes et al., 2017; Owen et al., 2023), что затрудняет изучение этиопатогенеза заболевания и поиска прогностических маркеров фармакотерапии. В настоящее время существуют многочисленные исследования, направленные на

изучение нарушений экспрессии генов, белков; эпигенетических паттернов; метаболических и воспалительных молекул у людей с шизофренией (Lai et al., 2014; Tomasik et al., 2014); а также на разработку экспериментальных моделей заболевания, в том числе на основе *in vitro* культивирования МКПК (Gardiner et al., 2014; Wysokiński et al., 2021). Однако, однозначных диагностических и прогностических генетических маркеров, как развития расстройств шизофренического спектра, так и прогноза ответа на терапию АП, не выявлено.

**Цель исследования** - оценить роль рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови в прогнозировании эффективности и безопасности антипсихотической терапии.

#### **Задачи исследования:**

1. Оценить относительный уровень мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4* и *HRH1* в мононуклеарных клетках периферической крови и генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del), как факторов риска развития расстройств шизофренического спектра.

2. Оценить влияние антипсихотической терапии галоперидолом и оланзапином в течение 28 дней на уровень (мРНК и белка) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках и концентрацию дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра.

3. Оценить ассоциацию уровня (мРНК и белка) рецепторов биогенных аминов D1, D2, D3, D4, D5, ADRa1B и H1 в мононуклеарных клетках, концентрации дофамина в сыворотке крови и генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* с эффективностью и безопасностью назначения антипсихотических препаратов галоперидола и оланзапина.

4. Оценить уровень мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRa1B* и *HRH1* при культивировании *in vitro* первичной линии мононуклеарных клеток периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра в присутствии галоперидола или оланзапина в качестве возможного предиктора эффективности и безопасности терапии данными антипсихотическими препаратами.

## Научная новизна

Впервые проведено исследование молекулярно-генетических показателей рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС, включающее оценку исследуемых параметров в динамике в ходе антипсихотической терапии (0, 14 и 28 дни) и параллельно в ходе модулирования воздействия антипсихотической терапии на моноклеарные клетки, выделенные от пациентов и культивированные *in vitro*.

Оценены уровни мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4* и *HRH1* в МКПК, а также генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* у пациентов с РШС до начала лечения и у лиц контрольной группы в ассоциации с развитием расстройств шизофренического спектра. Преимуществом настоящей работы является то, что включенные в группу исследования пациенты имели первый психотический эпизод и ранее не принимали АП, что позволило исключить влияние АП на изучаемые показатели рецепторов. Впервые показано, что у пациентов с первым психотическим эпизодом, ранее не принимавших АП, понижен уровень мРНК гена *DRD1* и повышен уровень мРНК гена *HRH1* в моноклеарных клетках по сравнению с контрольной группой.

Впервые проведена оценка ассоциации между уровнем рецепторов (мРНК, белок) биогенных аминов в МКПК, концентрацией дофамина в сыворотке крови пациентов с РШС и клиническим ответом пациентов (эффективность и развитие побочных эффектов) на лечение АП в динамике. Показано, что эффективная терапия оланзапином ассоциирована с пониженным уровнем рецептора D1 (мРНК, белок) у пациентов в актуальном психическом состоянии. При этом изменение уровня рецепторов (мРНК, белок) биогенных аминов в МКПК на фоне терапии галоперидолом или оланзапином не ассоциировано с эффективностью ответа пациентов на терапию. Впервые показано снижение уровня рецептора D1 в моноклеарных клетках пациентов с РШС на 28 день терапии, ассоциированное с фармакологическим действием галоперидола.

Показано, что развитие лекарственного паркинсонизма на 28 день терапии галоперидолом ассоциировано со снижением уровня рецептора D1 в МКПК

пациентов с РШС и коррелирует с уровнем дофамина в сыворотке крови пациентов группы малоэффективной терапии оланзапином.

Впервые продемонстрирована корреляция экспрессии дофаминовых, адренергического и гистаминового рецепторов в МКПК пациентов с РШС, как при терапии пациентов, так и при культивировании моноклеарных клеток *in vitro*. При изменении экспрессии одного гена пропорционально изменялись уровни экспрессии других генов. Таким образом, при воздействии как галоперидола, так и оланзапина экспрессионный профиль оставался стабильным.

Впервые на культуре МКПК *in vitro* показано, что выраженное повышение уровня мРНК генов *ADRA1B* и *HRH1* рецепторов биогенных аминов под воздействием АП является предиктором малоэффективной терапии.

Впервые оценено влияние генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) на уровень мРНК гена *DRD2* в МКПК пациентов. Показано, что данный генетический вариант гена *DRD2* не ассоциирован с развитием РШС, не оказывает влияния на относительный уровень экспрессии гена *DRD2* в МКПК, как пациентов с психическими расстройствами, так и лиц контрольной группы, и не ассоциирован с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином. При этом, вариант Ins/Ins гена *DRD2* ассоциирован с увеличением массы тела на 7% и более на 28 день терапии АП, и может быть рассмотрен в качестве маркера прогноза набора массы тела, вызванного приемом АП.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

В результате проделанной работы выявлены показатели рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с первым психотическим эпизодом на фоне антипсихотической терапии, которые могут быть рассмотрены в качестве прогностических маркеров (факторов риска). Проведен анализ ассоциаций между молекулярно-генетическими характеристиками рецепторов в МКПК *in vitro*, а также до и после лечения, и ответом пациента на получаемый препарат. В том числе, показаны ассоциации изученных показателей с риском развития побочных реакций при терапии АП.

Полученные данные вносят вклад в фундаментальные исследования сложной природы психических расстройств и влияния АП на рецепторы биогенных аминов клеток периферической крови. Полученная теоретическая база составит основу дальнейших исследований геномики психических расстройств и фармакогенетики (фармакодинамики) АП.

А также, показана клиническая значимость использования первичной культуры МКПК пациента с психическими расстройствами для прогноза эффективности назначаемой фармакотерапии, полученные данные могут быть использованы для совершенствования подходов в области персонализации АП терапии.

### **Методология и методы исследования**

Работа выполнена с применением современных генетических, молекулярно-биологических, биохимических и культуральных методов на группе пациентов с РШС и здоровых лиц. Проведено длительное (4 недели) наблюдение пациентов с РШС с рандомизированным назначением антипсихотической монотерапии. Психометрическая оценка пациентов и анализ молекулярно-генетических показателей выполнены в трех точках: до начала лечения в актуальном психозе, на 14 и 28 дни лечения антипсихотическими препаратами. Оценку тяжести побочных реакций (лекарственный паркинсонизм, акатизия, набор массы тела) оценивали на 28 день лечения. Все пациенты, включенные в исследование, имели первый психотический эпизод и ранее не принимали АП. Состояние больных оценивали врачи, работающие в СПб ГБУЗ "Психиатрическая больница №1 им. П.П. Кашенко", а также в Национальном медицинском исследовательском центре психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева.

Независимо было проведено культивирование моноклеарных клеток пациентов в присутствии АП, соответствующего терапии пациента.

Первичным материалом являлась периферическая венозная кровь, из которой получали моноклеарные клетки, которые непосредственно и служили объектами исследования. Из разных аликвот МКПК в дальнейшем проводили выделение

тотальной РНК, ДНК, белковой фракции. Культивирование клеток *in vitro* осуществляли в соответствии со стандартными протоколами. Для определения концентрации дофамина в сыворотке крови использовали метод ИФА. Также в работе использовали реакцию обратной транскрипции, количественную полимеразную цепную реакцию с зондами TaqMan, иммуноферментный анализ (ИФА), анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с электрофоретическим разделением, статистическую обработку полученных результатов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Эффективная терапия оланзапином характеризуется пониженным уровнем экспрессии (мРНК, белок) дофаминового рецептора D1 в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра в актуальном психическом состоянии по сравнению с пациентами с малоэффективной терапией оланзапином.

2. Относительный уровень мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRA1B* и *HRH1* в мононуклеарных клетках психически больных и лиц контрольной группы коррелирует между собой на статистически значимом уровне ( $p < 0,05$ ). Более того, данная корреляция сохраняется под воздействием антипсихотических препаратов, как при терапии пациентов, так и при культивировании мононуклеарных клеток *in vitro*.

3. Динамика уровня экспрессии генов рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра под воздействием антипсихотических препаратов при культивировании *in vitro* - перспективная прогностическая модель эффективности фармакотерапии.

### **Степень достоверности результатов**

Степень достоверности результатов обеспечена тщательным подбором пациентов и достаточным объемом исследованных выборок; последовательной схемой экспериментов; использованием валидированного оборудования и

расходных материалов; проведением стандартных и надежных молекулярно-генетических методов анализа в соответствии с утвержденными разработчиками протоколами; применением известных методов статистической обработки данных; сопоставлением полученных результатов с данными литературы. Поставленные цель и задачи исследования выполнены и согласуются со сделанными выводами. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых изданиях.

### **Апробация результатов**

Материалы работы были представлены на российских и международных научно-практических конференциях:

Российских конференциях: научно-практическая конференция «Современные тенденции развития психиатрической помощи: от региональных моделей к общей концепции?» – 2017 (Екатеринбург), Неделя науки СПбПУ: научная конференция с международным участием – 2018 (Санкт-Петербург), IV, VI и X Всероссийский молодежный научный форум с международным участием – 2017, 2020 и 2023 (Гатчина), XIX и XX Зимняя молодежная школа ПИЯФ по биофизике и молекулярной биологии – 2018, 2019 (Гатчина), VII и VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) – 2019 (Новый Петергоф), 2024 (Саратов), V и VI Российский конгресс с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное» - 2020 (Санкт-Петербург), 2022 (Санкт-Петербург).

Международных конгрессах: 29 и 33 Конгресс Европейской коллегии нейропсихофармакологии (29<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup> European College Neuropsychopharmacology (ECNP) Congress) – 2017 (Франция), 2020 (Virtual).

### **Личный вклад автора**

Автор диссертационного исследования лично выполнил основные научные исследования: анализ источников литературы, постановка цели и задач исследования, выбор, планирование, подготовка и осуществление экспериментальных лабораторных исследований, статистическая обработка

полученных данных, формулировка выводов. Наблюдение и психометрическая оценка пациентов проводились врачами отделения первого психотического эпизода СПб ГБУЗ «ПБ №1 им. П.П. Кащенко» и Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева. Автором самостоятельно написана рукопись данной работы. Все полученные сведения и выводы обсуждались с научным руководителем, соавторами публикаций и на лабораторных семинарах с коллегами.

### **Публикации по материалам исследования**

Материалы диссертационной работы представлены в 21 печатной работе, в том числе в 4 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus), в 4 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базе данных РИНЦ, и в 13 тезисах докладов научных мероприятий.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.7. – Генетика, направленной на изучение явлений наследственности и изменчивости, закономерностей процессов хранения, передачи и реализации генетической информации на клеточном и молекулярном уровнях.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 137 страницах машинописного текста. Состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы, который включает 179 источников. Текст диссертации содержит 22 таблицы и 25 рисунков.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Патогенез и клиническая картина шизофрении

Шизофрения представляет собой одно из наиболее распространенных психических расстройств, для предотвращения темпа роста и распространения которого расходуются огромные экономические средства (Kaar et al., 2019). Первые клинические симптомы могут проявляться уже в позднем подростковом или раннем взрослом возрасте, приводя к началу первого психотического эпизода (Howes et al., 2014) и развитию целого спектра нарушений. При этом заболевание носит хронический характер и часто характеризуется коморбидным состоянием, с такими патологиями как депрессия и синдром зависимости от алкоголя и других психоактивных веществ (Lewis, 2006). Симптомы шизофрении разделяют на позитивные (бред, галлюцинации), негативные (ангедония), а также отдельно выделяют когнитивные расстройства (расстройство мышления, обучения и внимания) (Kesby et al., 2018; Kaar et al., 2019). Шизофрения представляет собой общее психическое заболевание, включающее различные нозологические формы – расстройства шизофренического спектра, сходные по проявляемым симптомам, но различные по соотношению и степени их представленности у пациента. Неоднородность проявляемой симптоматики и не до конца изученные патофизиологические основы шизофрении (Lewis et al., 2002, Howes et al. 2009) затрудняют постановку диагноза и назначение подходящей схемы лечения. За последние десятилетия исследователями проделана огромная работа по изучению генетических и нейрохимических механизмов развития шизофрении, сформированы различные теории, среди них гипотезы функционального дисбаланса нейротрансмиссии биогенных аминов в центральной нервной системе (Carlsson, 2001; Zhan et al., 2011) и суммарный вклад множества генетических вариантов (Kondratyev et al., 2021). Глубокое изучение взаимосвязи работы генов, генных сетей, поиск функционального модельного объекта, а также персонализированный подход к поиску биомаркеров заболевания помогут в более четком определении этиопатогенеза шизофрении.

## 1.2. Нарушение работы основных нейротрансмиттерных систем в головном мозге при шизофрении

### 1.2.1. Нейромедиатор дофамин

Дофамин (ДА) (3-гидрокситирамин, 3,4-дигидроксифенэтиламин), рисунок 1.1, относится к группе биогенных аминов и обладает функциями медиатора (нейротрансмиттера), имеющего важнейшее значение для поддержания гомеостаза центральной нервной системой (ЦНС), так и всего организма.

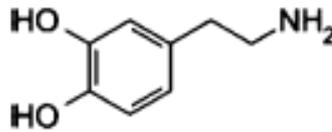


Рисунок 1.1 – Структурная формула дофамина (Levite, 2016)

С момента обнаружения в мозге (Montagu et al., 1957), ДА является одним из наиболее изучаемых нейромедиаторов и исследование его функций продолжается более 60 лет. Многими исследованиями подтверждено, что ДА вовлечен в регулирование иммунной, сердечно-сосудистой, эндокринной систем, функции почек и желудочно-кишечного тракта, а также контролирует кровяное давление, выполняя функцию гормонов (Beaulieu et al., 2015; Arreola et al., 2016). С одной стороны, ДА не способен преодолевать гематоэнцефалический барьер, и сигналинг дофаминергической системы ЦНС независим от нейротрансмиссии дофаминергических нейронов периферических органов. С другой, активированные в лимфатических узлах дофамином Т-лимфоциты по спинномозговой жидкости способны преодолевать гематоэнцефалический барьер, тем самым оказывая влияние на ЦНС (Arreola et al., 2016).

ДА широко распространен в ЦНС и выполняет множество функций в зрелом мозге, включая контроль движения и эмоциональный ответ, поэтому изменения обмена ДА связывают с развитием неврологических и психических заболеваний, включая шизофрению, нейродегенеративные заболевания (например, болезнь Паркинсона) и биполярное расстройство (Beaulieu et al., 2011, 2015). Во многих исследованиях указано, что дисфункция ДА - ключевое звено этиопатогенеза

шизофрении (Howes et al., 2015). Например, методами молекулярной визуализации показано, что высокие уровни синаптического дофамина *in vivo* в стриатуме ассоциированы с нарушениями психики и развитием психоза при шизофрении. Более того, синтез дофамина увеличивался при остром психотическом эпизоде пациентов (Howes et al., 2011). Физиологическая активность и концентрация ДА напрямую связана с белками, обеспечивающими его связывание, обратный захват и транспорт.

Все основные антипсихотические препараты (АП), используемые в терапевтических целях, действуют в той или иной степени на дофаминергическую нейротрансмиссию (Federick, Stanwood, 2009).

### **1.2.2. Дофаминергическая система мозга и дофаминовые рецепторы центральной нервной системы**

В головном мозге млекопитающих ДА вырабатывается в телах дофаминергических нейронов, расположенных в черной субстанции, вентрально-теgmentальной области (ВТО) и гипоталамусе. Дофаминергические нейроны образуют проекции в другие области мозга, где ДА хранится и высвобождается, формируя четыре основных пути дофаминергической системы, берущих начало в среднем мозге. Нигростриарная система начинается в черной субстанции и тянется к полосатому телу (стриатуму) или базальным ганглиям, контролирует двигательные функции; мезолимбическая – от ВТО к прилежащему ядру, участвует в формировании приятных ощущений, эйфории, бреда и галлюцинаций; мезокортикальная – от ВТО к префронтальной коре, опосредует когнитивные симптомы; и тубероинфундибулярная – от клеток гипоталамуса к передней доле гипофиза, контролирует секрецию пролактина (Beaulieu, Gainetdinov, 2011), рисунок 1.2.

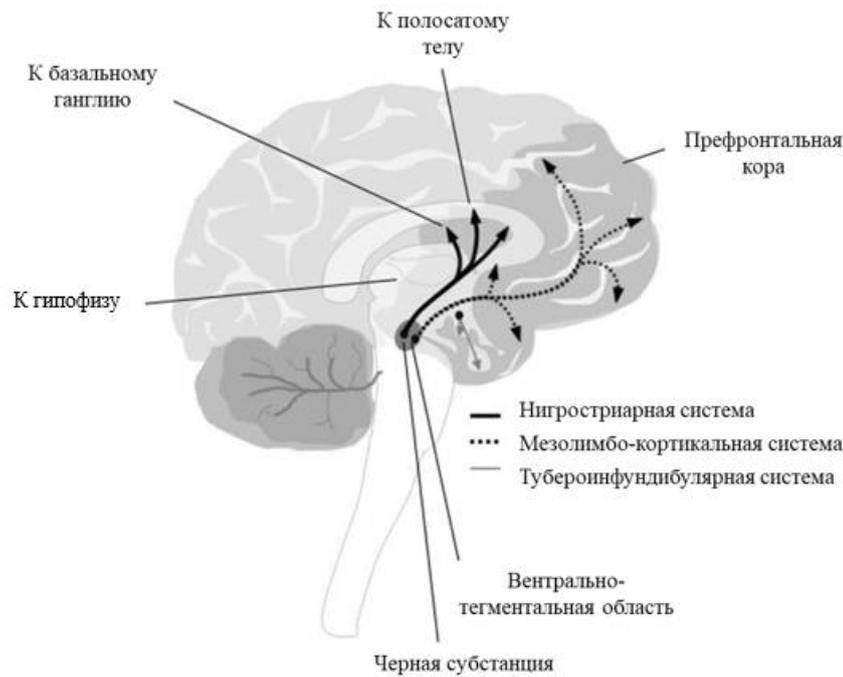


Рисунок 1.2 – Ключевые проекции дофаминергических нейронов в головном мозге (van den Brink et al., 2018)

ДА синтезируется в нейронах, где концентрируется в синаптических везикулах и затем высвобождается в синаптическую щель и внеклеточное пространство  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимым механизмом путем слияния везикул и наружной мембраны клетки. После высвобождения ДА связывается с пре- и постсинаптическими рецепторами, инициируя передачу нервного импульса или дофаминовую нейротрансмиссию (Turala, Tiihonen, 2004). Ключевыми белками в нейротрансмиссии дофаминергической системы являются рецепторы ДА.

В 1972 году получены доказательства существования дофаминовых рецепторов в мозге и их связь с аденилатциклазой (АЦ) (Kebabian et al., 1972). В 1975 году проведены эксперименты по связыванию АП галоперидола со специфическими участками тканей мозга, с которыми также связывался дофамин с большей эффективностью, чем другие нейромедиаторы. Позднее их идентифицировали как дофаминовые рецепторы 2 типа (Seeman et al., 1975, Madras, 2013). Существует по меньшей мере пять различных подтипов дофаминовых рецепторов D1 – D5, кодируемых у человека генами *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4* и *DRD5* соответственно. На основании структурных и фармакологических

дофаминовые рецепторы разделены на два семейства D1-подобные и D2-подобные (Andersen et al., 1990).

Рецепторы ДА сопряжены с G-белками и в их структуру входят семь трансмембранных доменов (Beaulieu, Gainetdinov 2011). С помощью анализа сходств и различий в структуре D1 и D2-подобных рецепторов выявлена высокая степень их гомологии. К семейству D1-подобных рецепторов относят рецепторы D1 и D5, имеющих 80% гомологию по трансмембранным доменам. D1-подобные рецепторы сопряжены с белком G<sub>s</sub>, стимулирующим АЦ, что приводит к увеличению уровня цАМФ. Рецепторы D1 и D5 локализованы в основном на постсинаптических мембранах нейронов стриатума (Beaulieu et al., 2015). Семейство D2-подобных рецепторов (D2, D3 и D4), в свою очередь, также обладают высокой гомологией (75% для D2 и D3, 53% для D2 и D4). Но данные рецепторы сопряжены с белком G<sub>ai/o</sub>, который ингибирует АЦ, приводя к снижению уровня цАМФ (Dick, Foroud, 2003). В отличие от D1-подобных рецепторов, они локализованы на дофаминергических нейронах как постсинаптически, так и пресинаптически. В частности, в результате альтернативного сплайсинга образуются две различные формы рецептора D2 (D2long и D2short). Предполагают, что D2L работает в основном на постсинаптической мембране, а D2S – на пресинаптической (Beaulieu et al., 2011, 2015). Ауторецепторы D2S, расположенные в соматодендритной области, ингибируют возбуждение клеток и останавливают дальнейшее высвобождение ДА (Martel et al., 2020).

Аминокислотная последовательность трансмембранных доменов всех подтипов дофаминовых рецепторов относительно постоянна. Однако, при одинаковой аминокислотной последовательности NH<sub>2</sub>-конца, D1-подобные рецепторы имеют два участка N-гликозилирования, D2 четыре участка, D3 три участка, а D4 – один. COOH-конец в семь раз короче у D2-подобных рецепторов, по сравнению с рецепторами D1. По структуре D1-подобные рецепторы имеют короткую внутриклеточную третью петлю и по функции активируют АЦ, тогда как

D2-подобные рецепторы характеризуются длинной третьей петлей и являются ингибиторами АЦ (рисунки 1.3 и 1.4).

Аминокислотные остатки находятся на поверхности белка и формируют щелеобразный карман области связывания для взаимодействия с агонистом (Шабанов П.Д., 2002).

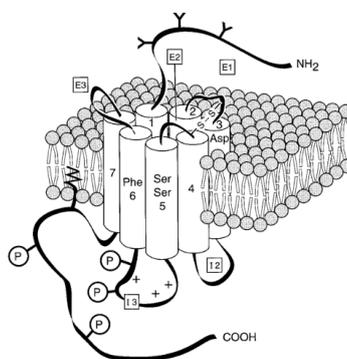


Рисунок 1.3 – Структура D1-подобных рецепторов дофамина (Missale et al., 1998)

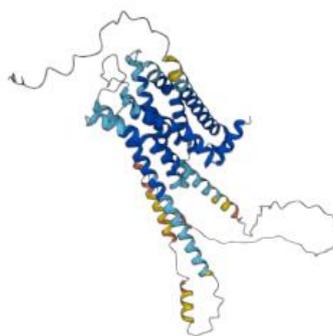


Рисунок 1.4 – Пространственная структура белка D2. Размер 443 аминокислоты, молекулярная масса 50619 Да (база Genecards).

Разнообразие дофаминовых рецепторов, обладающих различными анатомическими, физиологическими, сигнальными и фармакологическими свойствами, ассоциировано с вариабельной генетической структурой. Так, например, гены семейства D1- и D2-подобных рецепторов различаются по наличию интронов в кодирующей области: *DRD2*, *DRD3*, *DRD4* содержат 6, 5 и 3 интрона, соответственно, тогда как *DRD1*, *DRD5* характеризуются отсутствием интронов в кодирующей области (Beaulieu et al., 2011, 2015).

Также подтипы дофаминовых рецепторов значительно различаются по своей чувствительности к агонистам и антагонистам дофамина: константа диссоциации зависит как от лиганда, так и от типа рецептора (Missale et al., 1998, Beaulieu et al., 2011, 2015).

В головном мозге рецепторы дофамина имеют широкое распространение и, в зависимости от подтипа, соотношение их различно в отдельных структурах. Оба семейства участвуют в корковых процессах, хотя плотность D2-подобных рецепторов в коре ниже, по сравнению с D1 семейством. Самую высокую плотность в головном мозге имеют D1 и D2 рецепторы, их присутствие обнаружено во всех структурах нигростриатного, мезолимбического и мезокортикального путей. Эти рецепторы участвуют в контроле когнитивных процессов, поведения и эмоциональных реакций; было показано, что рецепторы D2 присутствуют в переднем и среднем гипофизе (Missale et al., 1998), в котором также обнаружена экспрессия гена *DRD2* (Turala, Tiihonen, 2004). D2 важный посредник дофамина в контроле движения, некоторых аспектах поведения, секреции пролактина и гормона роста в гипофизе (Martel et al., 2020). Показано, что рецептор D1 модулирует нейротрансмиссию D2 (Takahashi et al., 2011). D3 рецепторы представлены менее широко, в основном в префронтальных нейронах, где контролируют высвобождение дофамина, регулируя динамику потенциалзависимых кальциевых каналов (Martel et al., 2020). D4 обладает наименьшей плотностью в мозге, его присутствие обнаружено в основном в миндалине, гипокампусе, гипоталамусе и лобной коре (Missale et al., 1998), в лобной коре также в значительном количестве обнаружена мРНК гена *DRD4* (Cave, Baker, 2009). D5 имеет широкое распространение в различных отделах мозга, но низкий уровень плотности, при этом уровень экспрессии гена *DRD5* намного ниже по сравнению с уровнем генов *DRD1* и *DRD2* во многих областях мозга (Cave, Baker, 2009). В эксперименте на животных показано подавление АП рецепторов D5 в префронтальной коре, что предполагает их связь с шизофренией (Lidow et al., 1997). Низкий уровень экспрессии генов *DRD4* и *DRD5* обнаружен также в посмертных образцах клеток мозга пациентов с шизофренией (Hemby et al., 2002).

Кроме того, в дофаминовой нейротрансмиссии участвуют другие белки, такие как дофаминовый транспортер (DAT) и везикулярный моноаминовый транспортер 2 (VMAT2). Они захватывают ДА из внеклеточного пространства и осуществляют его обратный транспорт в цитоплазму клетки, где ДА при воздействии ферментов моноамин оксидазы и/или катехол-О-метилтрансферазы (COMT) метаболизируется по двум различным путям (Missale, 1998; Beaulieu, Gainetdinov, 2011; Arreola et al., 2016).

### 1.2.3. Дофаминовая гипотеза шизофрении

Наиболее распространенная теория развития шизофрении основана на нарушении регуляции дофаминергической нейротрансмиссии (Howes, 2017). Первые работы о важной роли дофамина в патофизиологии шизофрении появились в 1950-е – 1970-е годы, когда обнаружили влияние АП на продуктивную симптоматику шизофрении и связали это влияние с нарушением обмена дофамина (Delay et al., 1952, Carlsson, 1957, 1963). Более конкретно, антипсихотики блокируют моноаминовые рецепторы в мозге, тем самым уменьшая характерные для шизофрении симптомы. Позднее клиническую эффективность АП напрямую связали с их сродством к рецепторам дофамина (Seeman, 1976, Snyder, 1976) и были получены прямые доказательства повышенной плотности дофаминовых рецепторов D2 и уровня внеклеточного дофамина в полосатом теле у больных с психическими расстройствами (Seeman, 1980). Второе важное предположение о роли дофаминовых рецепторов в проявлении симптомов шизофрении было сделано на основании данных о способности стимуляторов, в частности амфетамина, спровоцировать психоз у здоровых лиц и усугублять психоз у пациентов с шизофренией путем повышенного выброса дофамина в синаптическую щель (Lieberman, 1987).

Исследования *in vivo*, проведенные в период 1990 – 2006 гг. на больных с первым эпизодом шизофрении, никогда не получавших АП, выявили увеличение плотности рецепторов D2 в лобной коре и полосатом теле на 10-30%, на фоне их уменьшения в поясной коре мозга, среднем мозге и срединном ядре таламуса на 12-30%. Также обнаружено общее снижение уровня дофаминовых рецепторов D1 в

поясной извилине, лобной коре и полосатом теле (Seeman, 2007). Пониженный уровень D1 в базальных ганглиях пациентов с шизофренией ассоциирован с развитием когнитивных и негативных симптомов (Boyd et al., 2012).

С помощью экспериментальных моделей на животных и при использовании данных нейровизуализации к 1991 году учеными (Davis, 1991) были найдены доказательства гиперфункции ДА системы в подкорковых структурах, в частности мезолимбическом пути, в сочетании с гипофункцией в префронтальной коре, а именно мезокортикальном пути. Возможно, такие различия связаны с неравномерным распределением рецепторов дофамина в мозге, поскольку в лобной коре преобладают рецепторы D1, а в подкорковых структурах – рецепторы D2. Важным аспектом является обнаруженная взаимосвязь физиологических и нейрохимических процессов указанных систем, проявляющаяся в повышении концентрации дофамина и плотности рецепторов D2 в стриатуме на фоне разрушения рецепторов D1 в лобной коре (модели на животных), и уменьшении метаболитов дофамина в стриатуме при введении агониста D1 в префронтальные области. Предполагали, что с гиперфункцией ДА системы в полосатом теле связана позитивная симптоматика при шизофрении (галлюцинации и бред), тогда как негативные симптомы и когнитивные нарушения являются результатом снижения функционирования ДА системы в префронтальных областях (Davis, 1991). Подтверждением таким предположениям было то, что более высокие уровни дофамина и его метаболитов связаны с более выраженными позитивными симптомами и ответом на лечение АП.

В настоящее время первые версии дофаминовой гипотезы пересмотрены и дополнены исследованиями нейрохимической визуализации, генетическими данными, данными о факторах риска окружающей среды, включая коморбидное употребление наркотических веществ и этанола, и экспериментами на животных. Все эти данные подтверждают ключевую роль дофаминергической нейротрансмиссии в патогенезе шизофрении и вносят ясность в механизм действия АП. С использованием ПЭТ было показано, что в состоянии острого психоза у больных шизофренией в стриатуме наблюдается усиление синтеза дофамина на

пресинаптической мембране и его повышенное высвобождение в синаптическую щель и, соответственно, повышение синаптических уровней дофамина (Howes, 2009). Клиническими исследованиями подтверждено, что отклонения от нормы показателей функции пресинаптического дофамина присутствуют до начала психоза при шизофрении, то есть не обусловлены собственно психотическими эпизодами или воздействием антипсихотиков. Авторы исследования подчеркивают, что для постановки диагноза необходимо опираться не только на данные по дисрегуляции дофамина в мозговых структурах, но на весь комплекс нейрохимических, генетических факторов и факторов внешней среды.

Необходимо отметить, что, в свете накапливаемых данных, невозможно рассматривать дофаминовую гипотезу шизофрении обособленно, поскольку существует тесная взаимосвязь между всеми нейротрансмиттерными системами как в мозге, так и в периферических органах.

#### 1.2.4. Норадреналин и адренергическая система

Норадреналин (НА) (4-(2-амино-1-гидроксиэтил)пирокатехин, норэпинефрин), рисунок 1.5, представляет собой нейромедиатор и гормон симпатической нервной системы, относящийся к группе катехоламинов. Предположение о его роли в развитии шизофрении выдвинуто в 1970-х годах, хотя полное понимание действия НА в патофизиологии данного заболевания остается неясным (Maletic et al., 2017).

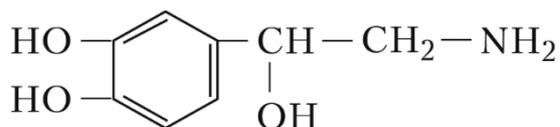


Рисунок 1.5 – Структурная формула норадреналина

Синтез и секреция осуществляется в специализированных норадренергических нейронах, образующих скопления в головном мозге (одно из самых значимых – голубое пятно) и в мозговом веществе надпочечников. НА синтезируется из тирозина, через стадии ДОФА и дофамина, накапливаясь в везикулах, при этом действие высвобожденного медиатора на мишени опосредуется различными подтипами адренергических рецепторов (АДР) (Liu et

al., 2010). АДР являются членами надсемейства рецепторов, связанных с G-белками, мембранных белков, активирующих определенные внутриклеточные каскады эндогенных катехоламинов, адреналина и норадреналина. У человека обнаружены 2 подтипа АДР:  $\alpha$ -адренорецепторы ( $\alpha 1A$ ,  $\alpha 1B$  и  $\alpha 1D$ ;  $\alpha 2A$ ,  $\alpha 2B$  и  $\alpha 2C$ ) и  $\beta$ -адренорецепторы ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$  и  $\beta 3$ ), все они присутствуют в тканях головного мозга и в кровеносных сосудах.  $\alpha 1$ -АДР экспрессируются в широком диапазоне тканей, включая кровеносные сосуды, почки, селезенку, печень, головной мозг и нижние мочевыводящие пути, где контролируют сокращение гладких мышц и артериальное давление (Proudman et al., 2020).

В головном мозге наиболее распространены  $\alpha 1$ -АДР, где они модулируют высвобождение нейротрансмиттеров и играют важную роль в когнитивных процессах. Механизм действия антидепрессантов состоит в предотвращении обратного захвата нейротрансмиттеров (серотонина и норадреналина) и, следовательно, увеличении их концентрации в синапсе. Теоретически эти два эффекта (повышенное присутствие нейротрансмиттеров, но блокада рецепторов) могут компенсировать друг друга (Wong et al., 2023). Известно, что препараты, используемые для лечения шизофрении, не оказывают прямого действия на  $\beta$ -АДР, связываясь, как правило, с  $\alpha 1$ -АДР в кровеносных сосудах и гомогенатах головного мозга. При этом некоторые побочные эффекты психотропных препаратов могут быть опосредованы  $\beta$ -АДР (Maletic et al., 2017). Низкий уровень НА ассоциирован с такими расстройствами, как тревога, депрессия и синдром дефицита внимания с гиперактивностью (Wong et al., 2023).

Исследования, проводимые на животных моделях, по влиянию различных типичных нейролептиков, в том числе галоперидола, на симптомы шизофрении, позволяют сделать предположение, что позитивные симптомы ассоциированы с гиперактивностью норадренергической системы, а негативные симптомы – с ее гипоактивностью (Yamamoto et al., 2013). В нескольких исследованиях показаны терапевтические эффекты некоторых антагонистов АДР (в том числе оланзапина) в отношении позитивных и когнитивных симптомов шизофрении (Mäki-Marttunen et al., 2023), и облегчение негативных симптомов при воздействии АП,

изменяющих активность норадреналина, что также позволяет сделать предположение о роли НА в патогенезе шизофрении (Maletic et al., 2017). Связывают это с тем, что антагонизм  $\alpha$ 1-АДР может влиять на позитивные симптомы, ослабляя лимбическую гипердофаминергию, в то время как блокада  $\alpha$ 2-АДР воздействует на негативные симптомы, увеличивая дофаминергическую активность в префронтальной области, что способствует облегчению негативных симптомов (Correll et al., 2020). Изучение уровня мРНК гена  $\alpha$ 1-адренорецептора в посмертных образцах мозга больных шизофренией не выявило различий по сравнению с контролем (Clark et al., 2006). Методом радиолигандного связывания показано повышенное связывание  $\beta$ 1-АДР в стриатуме у больных шизофренией, при этом изучение связывания радиолигандов с  $\alpha$ 2-АДР в префронтальной коре различий между больными шизофренией и контролем не выявило (Javitt and Kantrowitz, 2009).

Показана взаимосвязь в работе дофаминергической и норадренергической систем: дофаминергические нейроны несут на своей поверхности  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-адренорецепторы, тогда как в нейронах голубого пятна обнаружены рецепторы D2; ДА и НА имеют сродство к рецепторам друг друга: НА имеет сродство к семейству рецепторов D2, а ДА – к  $\alpha$ 2; НА модулирует высвобождение дофамина в префронтальной коре; также известно, что передача сигналов НА регулируется другими нейромедиаторами, такими как ингибирующая ГАМК и возбуждающая глутаматная кислота, кроме того, при стрессе высвобождение как НА, так и ДА в гипоталамусе и переднем мозге увеличивается, способствуя характерному поведению реакции на стресс (Mäki-Marttunen et al., 2023). Комбинированный антагонизм дофаминергических и адренергических рецепторов рассматривают, как заслуживающую внимание стратегию в антипсихотической терапии (de Bartolomeis et al., 2023). Предполагают, что АДР, расположенные в различных нейротрансмиттерных системах, играют роль в широком спектре функций мозга, таких как возбуждение, реакция на стресс, память, иммунный ответ, эндокринная функция, сон/бодрствование и регуляция болевого порога (Maletic et al., 2017).

### 1.2.5. Гистамин и гистаминергическая система

Гистамин, рисунок 1.6, модулирует иммунный ответ и воспаление, но также действует как нейротрансмиттер в мозге млекопитающих. В отличие от других биогенных аминов, гистамин оказывает умеренное воздействие на ЦНС, поэтому ему уделяют меньше внимания в нейробиологии. Однако недавно полученные данные свидетельствуют о том, что патологии гистаминергической системы тесно связаны с нервно-психическими расстройствами, включая шизофрению, бессонницу, нарколепсию, болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера (Cheng et al., 2021).

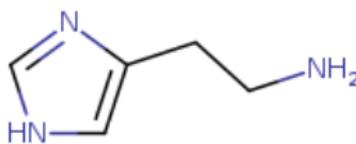


Рисунок 1.6 – Структурная формула гистамина.

Фармакологическое применение препаратов, родственных гистамину, может открыть новые перспективы для терапии ряда расстройств ЦНС, но в этой области необходимы дополнительные исследования (Hu et al., 2017). Присутствие гистамина в головном мозге впервые было упомянуто в 1943 г. (Kwiatkowski, 1943), при этом центральное его действие опосредовано рецепторами, связанными с G-белком, подтипов H1, H2, H3 и H4. Рецепторы гистамина H1 и H2 (H1R и H2R) расположены постсинаптически и обнаружены во всех частях мозга, включая кору, гиппокамп, стриатум и гипоталамус. Рецептор H1R (486–491 аминокислота) кодируется одним структурным геном на длинном плече хромосомы 3. Широко распространен в центральной нервной системе, особенно в областях мозга, регулирующих состояние возбуждения и сон-бодрствование, обучение и память, таких как таламус, кора, холинергические ядра, голубое пятно, ядро шва и т.д. Внутри клетки связан с белками Gq/11 и стимулирует фосфолипазу C, что приводит к активации нейронов (Ferrada et al., 2008).

Показано, что в дорсолатеральной префронтальной коре уровень гистаминовых рецепторов третьего типа H3R у пациентов с РШС, проходивших

лечение АП, был значительно выше, чем в контрольной группе (Jin et al., 2009). Исследование с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) у больных шизофренией показало более низкое связывание Н1R в лобной, префронтальной коре и поясной извилине (Iwabuchi et al., 2005), а также сниженную плотность Н1R в лобной коре у пациентов при хроническом течении болезни (Wu et al., 2021). На моделях мышей показано, что поведению, связанному с негативными симптомами шизофрении, включая когнитивные нарушения и социальную изоляцию, способствует редукция уровня рецепторов гистамина 1 типа в холинергических нейронах, проецирующихся из отделов переднего мозга в префронтальную кору (Cheng et al., 2021).

*In vivo* взаимодействие между гистамином и другими моноаминами (ДА, НА и серотонином) было продемонстрировано с помощью электрофизиологических исследований. Было обнаружено, что повышение уровня гистамина в головном мозге, вызванное частичным агонистом гистаминовых-3/4 (H3/4) рецепторов, приводит к последующему повышению концентраций внеклеточного ДА, НА и серотонина в префронтальной коре (ПФК) и гипоталамусе (Flik et al., 2015).

### **1.3. Молекулярно-генетические основы развития шизофрении**

Значительную роль в развитии шизофрении играет наследственный компонент. Риск проявления заболевания повышен при отягощенной наследственности и сильно возрастает в зависимости от степени родства. По данным различных исследований вклад наследственной предрасположенности в развитие шизофрении достигает в семейных исследованиях 64-65%, при этом степень конкордантности монозиготных близнецов достигает 81% (Liu, 2013; Hilker et al., 2017; Baselmans et al., 2020).

В настоящее время показано, что в риск развития шизофрении вовлечены множество генов и генетических вариантов в определенных комбинациях (Meltzer et al., 2017; Bergen et al., 2019). Согласно общепринятым гипотезам, гены дофаминергической системы рассматриваются в качестве основных генов-кандидатов предрасположенности к шизофрении (Howes, 2009, Liu, 2013).

### 1.3.1. Генетические варианты, ассоциированные с развитием шизофрении

Для выявления генетических факторов риска развития многофакторных заболеваний в мировой практике широко используют метод поиска ассоциаций, включающий выбор генов-кандидатов, определенные генетические варианты которых могли бы вносить вклад в развитие заболевания, а также полногеномные ассоциативные исследования (Genome Wide Association Study (GWAS)). Гены-кандидаты определяют по частоте их встречаемости в группах больных и в контроле из одной популяции. Генетический маркер (вариант данного гена) считается ассоциированным с болезнью, если его частота среди больных значимо выше, чем в контроле (Пузырев, Степанов, 2005). С использованием данного подхода удалось выявить связь определенных генетических вариантов с шизофренией. Например, в 2014, 2019 и 2022 годах были опубликованы результаты масштабных исследований, включавших данные 36989, 67000 и 76755 больных, соответственно (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014; O'Donovan, 2019; Trubetskoy et al., 2022). По последним данным 2022 года выявлено 287 геномных локусов и 120 генов, ассоциированных с шизофренией, среди которых ген *DRD2* и гены, влияющие на работу дофаминергической нейротрансмиссии. В ряде генов-кандидатов, способствующих риску развития шизофрении, выявлено приблизительно 12000 однонуклеотидных замен (ОНП) (Andreassen et al., 2014, Ripke et al., 2013). Генетические варианты в разных популяциях могут различаться, изменение считают значимым при частоте встречаемости варианта более 1%. Соотношение и сочетание различных генетических вариантов формирует определенный фенотип каждого индивидуума, включая ответ на получаемые лекарства и тяжесть побочных реакций при лечении. Чаще всего встречаются ОНП, представленные заменой, вставкой или делецией одного нуклеотида (Насырова и соавт. 2015).

С помощью GWAS обнаружена ассоциация с риском развития шизофрении для генетического варианта Taq1A1 гена *DRD2*, при этом носительство аллеля Taq1A1 приводит к снижению содержания рецептора D2 в мозге и периферических

лимфоцитах по сравнению с носителями аллеля Taq1A2 (Dubertret, 2004; Wang et al., 2016).

Генетический вариант rs1799732 (-141CIns/Del) гена *DRD2* представляет собой инсерцию/делецию цитозина (C) в позиции -141 5'-промоторного региона. В одном из исследований показано, что он влияет на экспрессию гена (делеция нуклеотида приводит к уменьшению транскрипции в среднем на 68%) (Escamilla et al., 2018). Функциональное значение rs1799732 показано методом ПЭТ-визуализации *in vivo*: плотность D2-рецепторов дофамина в стриатуме у здоровых доноров, не подвергавшихся антипсихотической терапии, напрямую зависит от данного генетического варианта. Но влияние rs1799732 на экспрессию гена *DRD2 in vivo* в различных тканях (клетках) человека ранее не изучалось.

Показаны ассоциации генетических вариантов rs179997 гена *DRD2* и rs167771 гена *DRD3* с проявлением негативных и позитивных симптомов у больных шизофренией (Бойко и соавт., 2019)

Также для гена *DRD5* показана связь вариантов rs77434921-rs1800762 с риском развития параноидальной шизофрении (Zhao et al., 2014). Однако, данные для генов *DRD4* и *DRD5* остаются противоречивыми (Насырова и соавт. 2015; Edwards et al, 2016).

В другом исследовании проанализировали 11 генов, непосредственно связанных с синтезом, метаболизмом и нейротрансмиссией дофамина (Edwards, 2016). Подтвержденные ассоциации были обнаружены только для однонуклеотидных полиморфизмов гена *DRD2*, по предположению авторов это может означать, что генетические варианты основных генов дофаминергической системы имеют незначительное влияние на общую генетическую предрасположенность к шизофрении, и пока что невозможно сказать каким образом такие отдельные генетические варианты влияют на функционирование дофаминергической системы, увеличивая риск развития шизофрении (Edwards, 2016; Howes, 2017).

В результате неаллельной гомологичной рекомбинации, негомологичного соединения концов при репарации ДНК, остановки вилки репликации и

переключения матрицы, приводящие к дупликациям или делециям в хромосомной области, могут возникать вариации числа копий (CNV) (Flaherty, Brennand et al., 2017). Делеция 22q11.2 была первой CNV, ассоциированной с шизофренией (Schneider et al., 2014). Делеция в этом локусе связана с аномальной функцией нейротрансмиттеров, включая дофамин, норадреналин и серотонин, и является наиболее сильным фактором риска развития шизофрении, причем у 25% носителей наблюдается психотическое состояние (Warnica et al., 2014). Интересно, что дупликация участка 22q11.2 может оказать протективное воздействие (Rees et al., 2014). Ассоциации с расстройствами шизофренического спектра также показаны для участков 1q21.1 (делеция/дупликация), 3q29 (делеция), 15q11.2 (делеция), 15q13.3 (делеция), 16p13.11 (дупликация), 16p11.2 (дупликация), 17p12 (делеция) и 17q12 (делеция) (Rees et al., 2014).

Обнаруженные генетические варианты не всегда оказываются определяющими для развития заболевания, поэтому считается, что вклад в повышение риска развития таких полигенных заболеваний, как шизофрения, вносит совместное влияние множества вариантов (ОНП и CNV). Так, в настоящее время используется количественный метод вычисления показателя полигенного риска (PRS), позволяющий суммировать количество аллелей риска в геноме и получать оценку предрасположенности к заболеванию на основе данных GWAS (Kondratyev et al., 2021). Например, в ходе подобного исследования (Bergen et al., 2019) было выявлено, что при низком показателе полигенного риска повышается вероятность выявления редких мутаций и CNV у пациентов. Ограничением данного подхода является низкая достоверность результатов на индивидуальном уровне и зависимость от имеющихся данных GWAS (Owen et al., 2023).

Таким образом, в настоящее время с помощью ассоциативных исследований не выявлено однозначных маркеров повышенного риска развития клинических симптомов шизофрении и для выяснения этиопатогенеза данного заболевания результативным будет комплексное изучение генетических и нейрохимических факторов, а также влияния окружающей среды.

### 1.3.2. Экспрессионные маркеры, ассоциированные с развитием шизофрении

Выявление надежных биологических или биохимических маркеров необходимо для ранней диагностики заболевания и постановки диагноза, прогноза ответа на лечение и регуляции побочных эффектов при приеме лекарственных средств. Такой персонализированный подход к терапии является наиболее перспективным и действенным в современной практике. В нескольких ранее проведенных исследованиях показано, что нарушение экспрессии генов дофаминергических, серотонинергических, адренергических и гистаминовых рецепторов в головном мозге может быть вовлечено в патогенез шизофрении (Mocci et al., 2014; Lai et al., 2016). Также известно, что маркеры крови действительно отражают некоторые патологические изменения в головном мозге (Buttarelli et al., 2011; Harris et al., 2012; Tomasik et al., 2016). К тому же, на сегодняшний день известно, что расстройства шизофренического спектра относятся к системным заболеваниям, нарушающим работу различных систем организма (Maes et al., 2021). Становится все более очевидным, что поиск возможных стандартизированных диагностических показателей следует вести в различных направлениях, учитывая большое разнообразие генов и факторов окружающей среды.

Экспрессия D1-подобных рецепторов в мононуклеарных клетках крови всегда вызывала большие споры. Одними группами исследователей не обнаружена их экспрессия в МКПК пациентов с шизофренией (Boneberg et al., 2006; Hwang et al., 2012; Fernandez-Egea, 2016). В другой работе удалось обнаружить экспрессию D1-подобных рецепторов на лимфоцитах и других лимфоидных клетках, однако статистически значимых различий между группой контроля и группами пациентов с шизофренией, получавших АП и ранее не принимавших АП, обнаружено не было (Ahmadian et al., 2014). Показано, что уровень мРНК гена *DRD5* в лимфоцитах периферической крови был достоверно выше у пациентов, ранее не получавших лекарственные средства, по сравнению с пациентами, уже получающими лечение (Kwak et al., 2001). Также в исследованиях говорят о возможной связи D1-

подобных рецепторов с негативными симптомами (Davidson et al., 1990; Stenkrona et al., 2019).

Что касается характеристики паттернов экспрессии D2-подобных рецепторов, то результаты также остаются весьма противоречивыми. В 2006 году Boneberg и соавторы сообщили о повышенном уровне мРНК гена *DRD3* в Т-лимфоцитах и пониженном уровне мРНК гена *DRD4* в CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитах 10 пациентов с шизофренией по сравнению со здоровыми лицами (Boneberg et al., 2006). В других исследованиях, проведенных на лимфоцитах периферической крови, продемонстрировано увеличение уровня мРНК *DRD3* (Pani et al., 2004; Ahmadian et al., 2014; Fernandez-Egea, 2016), снижение (Vogel et al., 2004) или отсутствие различий с контрольной группой (Rodrigues et al., 2005; Zvara et al., 2005; Urhan-Kucuk et al., 2011). Многие авторы предлагали ген *DRD3* в качестве маркера-кандидата для диагностики и последующего наблюдения за развитием шизофрении (Pani et al., 2004; Ahmadian et al., 2014; Cui et al., 2015). В частности, была обнаружена значимая разница в уровнях мРНК *DRD3* между пациентами с различными подтипами шизофрении, что позволило предположить использование данного показателя для диагностики подтипа расстройства (Urhan-Kucuk et al., 2011). В 2005 году впервые было показано значимое увеличение уровня мРНК гена *DRD2* в лимфоцитах пациентов с шизофренией, ранее вовсе не получавших или не получавших лекарственные средства более 3-х месяцев, по сравнению с контрольной группой (Zvara et al., 2005). Авторы сделали предположение, что поскольку ни пациенты, ни здоровые лица в контрольной группе не получали лечение АП, повышенные уровни мРНК *DRD2* в данном исследовании характеризовали само расстройство, а не влияние лекарственных средств (Zvara et al., 2005). В 2013 году были измерены уровни мРНК *DRD2* в лимфоцитах крови у 27 пациентов с хронической шизофренией, 25 пациентов с острым психозом и у здоровых индивидуумов. У пациентов с острым психозом была обнаружена корреляция между уровнем экспрессии гена *DRD2* и положительными значениями шкалы PANSS (Liu et al., 2013). В 2021 году в группе больных шизофренией обнаружен повышенный уровень мРНК генов *DRD2* и *DRD4* и пониженный

уровень мРНК гена *DRD3* в МКПК по сравнению с контролем, однако исследование было проведено на небольшой выборке и только в одной точке лечения пациентов (Wysokiński et al., 2021). Обобщенные данные, полученные в различных исследованиях представлены в таблице 1.1

Таблица 1.1 – Обобщенные результаты изучения уровня мРНК и уровня белка дофаминергических рецепторов в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с шизофренией по отношению к контрольной группе.

Рецептор	Результат	Ссылка
D1	Отсутствие различий в уровне мРНК	Ahmadian et al., 2014
	Отсутствие экспрессии в МКПК	Boneberg, 2006; Fernan-dez-Egea et al., 2016
D2	↑ уровня мРНК	Zvara et al., 2005; Wysokiński et al., 2021
	Отсутствие различий в уровне мРНК	Yao et al., 2008; Ahmadian et al., 2014
	Отсутствие различий в уровне мРНК; значимая корреляция между уровнем мРНК и баллами по шкале позитивных симптомов PANSS у пациентов в остром психозе	Liu et al., 2013
	Отсутствие различий в уровне мРНК; прямая корреляция между уровнем мРНК и баллами по шкале PANSS	Cui et al., 2015
	↓ белка в Т CD4+ лимфоцитах	Brito-Melo et al., 2012
	Отсутствие экспрессии в МКПК	Boneberg et al., 2006

## Продолжение таблицы 1.1

D3	↑ уровня мРНК	Kwak et al., 2001; Pani et al., 2004; Boneberg et al., 2006; Cui et al., 2015
	↓ уровня мРНК	Vogel et al., 2004; Ahmadian et al., 2014; Fernandez-Egea, 2016; Wysokiński et al., 2021
	Отсутствие различий в уровне мРНК	van der Weide et al., 2003
	Отсутствие различий в уровне мРНК; обратная корреляция между уровнем мРНК и суммарным баллом шкалы PANSS	Kawano et al., 2011
	Отсутствие различий в уровне мРНК между пациентами и контролем, при этом значимые различия в уровне мРНК между пациентами с разными подтипами шизофрении	Urhan-Kucuk et al., 2011
	Отсутствие различий в количестве белка	Rodrigues et al., 2005
D4	↑ уровня мРНК	Wysokiński et al., 2021
	↓ уровня мРНК	Boneberg et al., 2006
	Отсутствие различий в уровне мРНК	Pani et al., 2004; Kawano et al., 2011; Ahmadian et al., 2014; Fernandez-Egea, 2016
	↑ белка в Т CD8 + и Т CD4+ лимфоцитах	Brito-Melo et al., 2012
	Отсутствие различий в количестве белка	Rodrigues et al., 2005
D5	↑ уровня мРНК	Kwak et al., 2001

#### 1.4. Нейроиммунные взаимодействия, опосредованные дофамином

Благодаря проведенным за последние десятилетия исследованиям, стали очевидны молекулярные механизмы нейроиммунных взаимоотношений, опосредованных дофамином. Центральная нервная и иммунная системы представляют собой основные адаптивные системы, находящиеся в непрерывном и функциональном взаимодействии для обеспечения гомеостаза (Penedo, 2021). Дофамин, связываясь с соответствующими дофаминовыми рецепторами, функционирует как иммуномодулирующий регулятор и имеет решающее значение в нейроиммунной коммуникации, а также индуцирует изменения в функциях лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов и моноцитов (Matt, 2020), то есть является нейроиммуотрансмиттером (Levite, 2015). Эффекты, которые оказывает дофамин на Т-клетки зависят от его концентрации. Оптимальная для физиологического и специфического воздействия на иммунные клетки концентрация дофамина составляет приблизительно  $10^{-8}$  М (10 нМ). При этом более высокие уровни дофамина ( $10^{-4}$  –  $10^{-3}$  М (0,1<sup>-1</sup> мМ)) оказывают токсичное воздействие на клетки, ингибируют пролиферацию и даже могут вызывать их гибель (Bergquist et al., 2000; Levite, 2015). Нарушения обмена дофамина в центральной нервной системе наблюдаются при ряде неврологических и психических расстройств (Penedo, 2021).

Дофамин регулирует различные иммунные функции, включая секрецию цитокинов, клеточную адгезию, цитотоксичность и хемотаксис (Matt, 2020, Arreola et al., 2016, Levite et al., 2001), которые, в свою очередь, могут влиять на обмен дофамина, как в ЦНС, так и на периферии. Такое влияние опосредовано активацией дофаминовых рецепторов, присутствующих на мембранах иммунных клеток. Показано, что разные типы иммунных клеток имеют различный состав рецепторов, при этом Т-клетки несут все типы ДР (Kirillova et al. 2008, Levit et al., 2001; McKenna et al. 2002), а профили связывания дофаминергических лигандов в этих клетках аналогичны профилям в нейронах, заставляя предположить, что рецепторы действуют аналогично тем, которые обнаружены в нейронах (Takahashi et al. 1992, Kirillova et al. 2008). Т-клетки также экспрессируют TH, DAT, VMAT2 и COMT, т.е. обладают способностью поглощать, синтезировать, хранить и высвобождать

дофамин (Bergquist et al. 1994). Кроме того, количество рецепторов зависит не только от типа лимфоцитарной клетки, но и от ее функциональной активности.

В различных исследованиях показаны изменения как в лимфоцитарной формуле, так и в экспрессии ДР (генов и белков) на иммунных клетках крови и корреляции с экспрессией в ЦНС при различных психоневрологических расстройствах, в первую очередь при болезни Паркинсона, Альцгеймера и шизофрении. Доказано, что при воздействии на организм АП, имеющих сродство к ДР, меняется экспрессия кодирующих их генов, и не только в нейронах ЦНС, но и в периферических клетках, имеющих ДР в составе цитоплазматической мембраны, причем, этот эффект обратим (Fernandez-Egea et al., 2016; Vidal, 2020). Таким образом, мононуклеарные клетки периферической крови могут оказаться инструментом изучения нарушений дофаминовой передачи при психических заболеваниях и анализа последствий фармакологического лечения.

## **1.5. Фармакологическая терапия психических расстройств.**

### **Антипсихотические лекарственные средства**

Первые нейролептики, обладающие действием в отношении психотических проявлений, были синтезированы в 1950-х годах. В настоящее время нейролептики или антипсихотические препараты (АП) – это основные лекарственные средства для лечения расстройств шизофренического спектра, при этом они имеют значительные ограничения. Во-первых, АП препараты эффективны не для всех пациентов, до 30% пациентов не отвечают на проводимое лечение, что называют терапевтической резистентностью. Во-вторых, действие их направлено в основном на позитивные симптомы, тогда как негативные и когнитивные (например, расстройства обучения и внимания) симптомы плохо поддаются лечению. В-третьих, они вызывают серьезные неврологические и метаболические побочные эффекты, влияющие на соблюдение режима лечения пациентом. Причиной лишь частичной эффективности и безопасности современных нейролептиков является единая стратегия их назначения пациенту и многофакторность заболевания (Kaag et al., 2019).

### 1.5.1. Механизм действия, терапевтический эффект

Несмотря на разнообразие препаратов, имеющих в настоящее время на рынке, и их химических структур, по фармакологическому действию все они относятся к антагонистам рецептора D2, т.е. рецептор дофамина D2 является лекарственной мишенью для всех классических АП (Kaar, 2019). Важнейшие исследования *in vitro* 1970-х годов показали, что существует тесная взаимосвязь между сродством АП к рецепторам D2 и их клинической эффективностью (Seeman, 1976). Последующие исследования визуализации лигандов *in vivo* с помощью ОФЭКТ и ПЭТ продемонстрировали, что все АП в клинически эффективных дозах проникают через гематоэнцефалический барьер и блокируют рецепторы D2/3 в полосатом теле, что также подтверждено исследованиями *in vitro*, и доказывает взаимосвязь между занятостью D2 и клиническим ответом (Howes, 2009). Клинический ответ на АП обычно связан как минимум с 65% занятостью дофаминовых рецепторов D2 полосатого тела, в то время как занятость от 50 до 73% может быть связана с гиперпролактинемией, а заполнение более 80% связано с экстрапирамидными побочными симптомами. Следует отметить, что АП могут также увеличить плотность D2-подобных рецепторов в полосатом теле (Simpson et al., 2010). АП подразделяют на типичные и атипичные на основании как терапевтических эффектов, так и механизма действия. Типичные АП, например, галоперидол, также называемые нейролептиками первого поколения, эффективны в отношении позитивных симптомов шизофрении. Галоперидол был впервые синтезирован в 1958 году, среди типичных нейролептиков он наиболее известен и в настоящее время его активно применяют в клинической практике. Препарат блокирует дофаминовые рецепторы второго типа (рисунок 1.7), обладая слабым  $\alpha$ -адреноблокирующим, антигистаминовым и антихолинергическим действием.

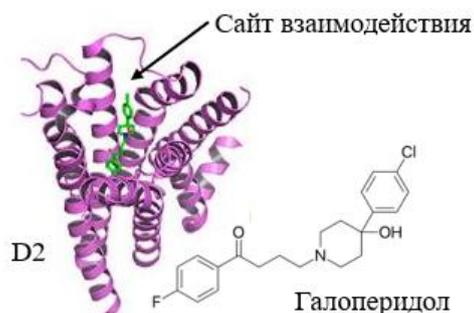


Рисунок 1.7 – Взаимодействие между галоперидолом и ключевыми остатками в ортостерическом лиганд-связывающем кармане сопряженного с G-белком рецептора дофамина D2. Небольшие молекулы регулируют активность GPCR, стабилизируя рецепторы в уникальном конформационном состоянии (Wong et al., 2023)

Атипичные АП, такие как, оланзапин, относятся к нейролептикам второго поколения, проявляют умеренное сродство к рецепторам D2, при этом воздействуют более широко через D4, адренергические ( $\alpha_1$ ), гистаминовые (H1), серотониновые (5-НТ2А, 5-НТ3, 5-НТ6) и другие рецепторы (рисунок 1.8, Grinchii et al., 2020). Показано, что однократное введение оланзапина приводит к стимулированию возбудимости норадреналиновых нейронов голубого пятна в головном мозге, при том, что галоперидол возбудимость норадреналиновых нейронов голубого пятна не изменяет (Grinchii et al., 2020). Клозапин и рисперидон повышают уровни НА в плазме крови (Elman et al., 2002). Некоторые нейролептики второго поколения, в том числе оланзапин, обладают сильным антагонистическим действием к рецепторам гистамина H1R, однако до конца не ясно, каким образом блокировка рецептора H1R нейролептиками влияет на терапевтическую эффективность и побочные реакции от этих препаратов. Таким образом, взаимосвязь между занятостью H1R и эффективностью атипичных нейролептиков еще необходимо исследовать (Cheng et al., 2021).

Также известно, что блокада гистаминергических рецепторов типичными нейролептиками приводит к седативному эффекту.

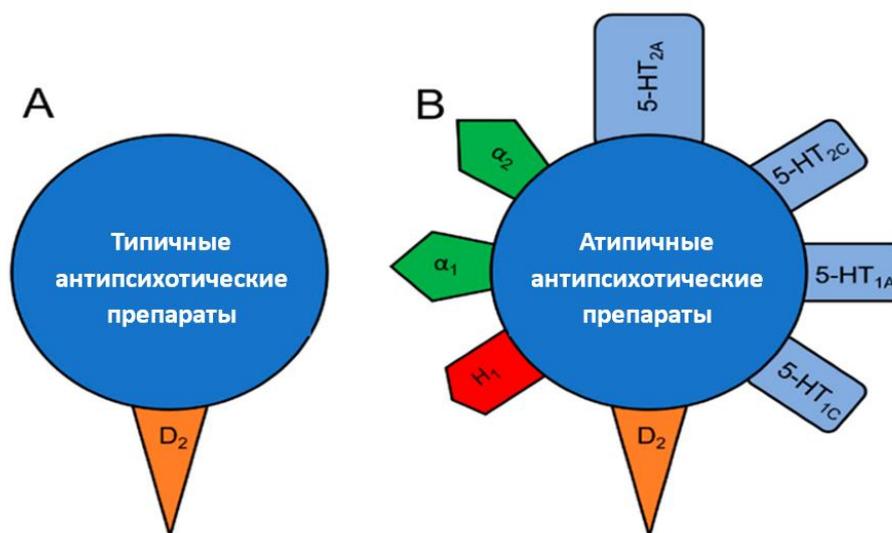


Рисунок 1.8 – Связывание антипсихотических препаратов с рецепторами. Типичные антипсихотические препараты (А) действуют как блокаторы рецепторов D<sub>2</sub>. Атипичные антипсихотические препараты (В) действуют как антагонисты к серотонинергическим (5-НТ<sub>2А</sub>), гистаминовым и адренергическим рецепторам (Grinchii et al., 2020)

При назначении АП необходимо учитывать индивидуальные особенности пациентов, например, генетические факторы (изучить возможную историю ответа на лечения и развития побочных реакций у родственников), демографические (пол, раса), клинические характеристики (особенности психотического состояния) и окружающую среду (употребление алкоголя, курение) (Насырова, 2015).

На сегодняшний день ведется активный поиск селективных агонистов и антагонистов рецепторов моноаминов, демонстрирующих убедительную антипсихотическую эффективность в качестве монотерапии для лечения шизофрении, а пока что основным фармакологическим механизмом в лечении позитивных симптомов шизофрении остается блокирование D<sub>2</sub>-подобных рецепторов.

### **1.5.2. Молекулярно-генетические факторы в прогнозе эффективности антипсихотической терапии**

Индивидуальные изменения показателей нейротрансмиссии, такие как уровень мРНК генов, уровень белка рецепторов и их плотность на мембране

клеток, наличие генетических вариантов, могут влиять на степень проявляемых симптомов, ответ на применение АП и тяжесть побочных нежелательных реакций терапии.

С целью выявления предикторов эффективности терапии проведено достаточно много исследований, включающих поиск ассоциаций различных генетических вариантов с ответом пациентов на проводимое лечение. Продемонстрированы значимые ассоциации между генетическими вариантами Ser311Cys и rs1801028 гена *DRD2* и неблагоприятным ответом на лечение рисперидоном (Ma et al., 2019). При этом вариант rs4532 гена *DRD1* ассоциирован с увеличением риска развития терапевтической резистентности, а генетические варианты Ser9Gly гена *DRD3* и A-241G, rs1124493 и Cys311 гена *DRD2* ассоциированы с эффективностью терапии антипсихотическими препаратами (Zhao et al., 2014). Также показано, что носители генотипа CC (генетический вариант rs2514218 гена *DRD2*) хуже отвечают на терапию АП (Morozova et al., 2022). Показана ассоциация одного из генетических вариантов гена *HRH1* с эффективным ответом на терапию оланзапином (в сочетании с флуоксетином) у пациентов с биполярным расстройством (Perlis et al., 2009).

В настоящее время получены противоречивые данные о влиянии генетического варианта -141CIns/Del гена *DRD2* на ответ пациентов на антипсихотическую терапию (Escamilla et al., 2018). Для этого генетического варианта показана связь как с благоприятным ответом на лечение (Scharfetter, 2004), так и с плохим ответом (Zhang et al., 2009).

Среди генов белков, влияющих на дофаминергическую передачу, ассоциации с хорошим ответом на терапию АП показаны для вариантов Val158Met (rs4680) и rs4818 гена катехол-О-метилтрансферазы (*COMT*) (Nikolac Perkovic et al., 2020; Ma et al., 2021). Однако есть и такие исследования, в которых не подтверждается связь генетических вариантов дофаминергических рецепторов с клиническими симптомами и резистентностью (Terzić et al., 2016).

Существующие исследования подтверждают, что АП могут влиять на экспрессию генов рецепторов нейротрансмиссии (Lipska et al., 2003), а изменение

экспрессии может быть ассоциировано с ответом на антипсихотическую терапию (Lai et al., 2016). Так, показано, что уровни мРНК гена *COMT* и гена рецептора серотонина 2A (*5-HTR2A*) повышены у пациентов с хорошим ответом на терапию, по сравнению с пациентами с плохим ответом. Данное исследование было проведено на пациентах с первым психотическим эпизодом, получавших лечение рисперидоном в течение 8 недель (Li et al., 2018). Показана ассоциация изменения уровня мРНК генов *DRD2* и *DRD4* с улучшением симптоматики, оцененной по шкале общего клинического впечатления (GCI), у пациентов с шизофренией, принимающих оланзапин и галоперидол в течение 8 недель (Shariati et al., 2009).

В недавно проведенном мета-анализе (21572 пациента с психическими расстройствами) показана положительная ассоциация показателя полигенного риска, рассчитанного на основании генотипа отдельного индивидуума, и дозировки назначаемого АП (одного или более). Полученные результаты, по мнению авторов, могут быть использованы при назначении антипсихотической терапии (Koch et al., 2024).

### **1.5.3. Нежелательные побочные реакции, индуцированные приемом антипсихотических препаратов**

Наравне с эффективностью, безопасность также является важнейшим аспектом при назначении лечения. АП не обладают селективностью в отношении каких-либо дофаминовых путей в центральной нервной системе, а не избирательная блокада D2-подобных рецепторов в различных отделах мозга может вызывать ряд побочных реакций. Применение типичных АП связано с развитием экстрапирамидных побочных симптомов (ЭПС) (акатизия, острая дистония, лекарственный паркинсонизм, поздняя дискинезия), гиперпролактинемией и когнитивными нарушениями, поскольку дофаминовые рецепторы играют ключевую роль в координации движений, памяти и познания, эмоциях и аффектах. Атипичные АП чаще ассоциируют с метаболическими нарушениями, такими как увеличение массы тела, гипергликемия, повышенный риск сахарного диабета 2 типа и дислипидемия (Lett et al., 2012; Gao et al., 2016). Появление нежелательных побочных реакций связано также с длительным приемом АП. Побочные реакции,

вызванные приемом АП, существенно снижают качество жизни пациентов и их приверженность к терапии. Во многих исследованиях показано, что выраженность побочных эффектов от одного и того же препарата проявляется у пациентов по-разному. Поэтому, для повышения безопасности психофармакотерапии особую значимость приобретают изучение механизмов реализации нежелательных реакций и поиск биомаркеров, влияющих на переносимость АП.

Тем не менее, нежелательные побочные эффекты развиваются не у всех пациентов, использующих АП, что указывает на генетическую предрасположенность у определенных людей и различные биологические механизмы возникновения (Gardiner et al., 2014).

### 1.5.3.1. Экстрапирамидные симптомы

Экстрапирамидные побочные симптомы (ЭПС) обычно затрагивают от 10% до 35% пациентов, проходящих антипсихотическую терапию (Kaar et al., 2019). Проявление ЭПС скорее всего опосредовано высокой степенью занятости рецептора дофамина D2. В исследованиях *in vivo* с помощью ПЭТ продемонстрировано, что клинический ответ на АП обычно связан как минимум с 65% занятостью дофаминовых рецепторов D2 полосатого тела, в то время как занятость от 50 до 73% может быть связана с гиперпролактинемией, а значение более 80% связано с ЭПС. Эта взаимосвязь между занятостью рецептора D2, клинической реакцией и побочными реакциями, даже у пациентов с первым эпизодом, хорошо известна в данной области (Kaar et al., 2019).

Наиболее распространенными побочными реакциями, вызванными приемом АП, считаются лекарственный паркинсонизм и акатизия. Эти нарушения характеризуются двигательными нарушениями и проявляются при приеме АП, блокирующих дофаминовые рецепторы (Vaiman et al., 2021; Ахмадулина и соавт., 2022). В некоторых случаях, двигательные нарушения могут быть необратимыми и даже приводить к летальному исходу (Langan J. et al., 2012). В основном, исследования направлены на изучение патогенеза развития ЭПС. В ходе проведения многочисленных GWAS, для лекарственного паркинсонизма выявлены ассоциации с генетическими вариантами rs1799732 (-141C Ins/Del), rs1800497

(C/T), rs6275 (C/T) гена *DRD2* (Al Hadithy et al., 2008; Güzey et al., 2007; Bakker et al., 2012) и rs167771 (G/A) гена *DRD3* (Gasso et al., 2011). Выявлена ассоциация генетического варианта rs2036108 гена *ADRA1A* с проявлением антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезии (непроизвольные движения) у больных шизофренией (Пожидаев и соавт., 2021).

Патогенез акатизии связывают с дисбалансом между дофаминергической, серотонинергической и адренергической нейротрансмиссиями (Samaha et al., 2007). Предполагают, что вызванное приемом АП снижение уровня дофамина, приводит к повышению активности адренергической системы, что приводит к нарушению двигательных функций (Ахмадулина и соавт., 2022). С риском развития антипсихотик-индуцированной акатизии ассоциированы генетические варианты rs1800498 и rs1800497 (TaqIA) гена *DRD2* (Koning et al., 2012). Однако однозначные маркеры развития ЭПС к настоящему времени не обнаружены и необходимы дальнейшие исследования для выявления генетических предикторов развития ЭПС, вызванных приемом АП (Nasyrova et al., 2023; Vaiman et al., 2021).

### **1.5.3.2. Метаболические нарушения**

Лечение АП, особенно второго поколения, связано с повышенным риском увеличения массы тела/ожирения, что, в свою очередь, может привести к дополнительным осложнениям, таким как резистентность к инсулину, диабет, нарушения липидного обмена и сердечно-сосудистые заболевания (Gao et al., 2016). Показано, что пациенты с психическими нарушениями (Holt, Peveler, 2009), в том числе пациенты с первым психотическим эпизодом (Gasso et al., 2020; Wu et al., 2023), страдают от избыточного веса и ожирения чаще по сравнению с населением в целом. Кроме того, вызванное приемом АП увеличение массы тела (AIWG) — это также социальная проблема, включающая депрессию, нарушение адаптации в обществе, заниженную самооценку и несоблюдение лечения препаратами. До 60% пациентов имеют метаболические нарушения, индуцированные применением АП (Sahoo et al., 2007; Speyer et al., 2021). В недавней работе также показана связь генетических вариантов генов *DRD2* и *DRD3* с развитием ожирения и изменением метаболического статуса (Gasso et al., 2020).

Причина различий в значительных метаболических осложнениях при приеме препаратов второго поколения между пациентами не совсем ясна. К сожалению, надежных биомаркеров для прогнозирования прибавки массы тела (или других побочных эффектов) пока не существует. Фактически, атипичные нейролептики сильно влияют на гомеостаз глюкозы и липидов, воздействуя главным образом на гипоталамус, печень,  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, жировую ткань и скелетные мышцы. Действие АП на центры гипоталамуса через дофаминовые, гистаминовые и серотониновые рецепторы влияет на 5'АМР-активируемую протеинкиназу (АМРК), увеличивая уровни глюкозы и глюкагона в печени. Кроме того, нарушение секреции инсулина, резистентность к инсулину, отложение жира в печени и накопление жировой ткани усугубляют метаболический синдром (Carli et al., 2021).

В ходе исследований показано, что прием оланзапина и рисперидона может приводить к увеличению экспрессии рецептора H1 в гипоталамусе (Siafis et al., 2018), кроме того, обнаружены значимые корреляции между рецептором H1 и риском развития AIWG (Deng et al., 2010; Lian et al., 2014). Исследование ОНП гена *HRH1* рецептора гистамина показало ассоциацию вариантов rs346074 и rs346070 с AIWG (Vehof et al., 2011), при этом генетический вариант rs2067467 в китайской популяции такой связи не показал (Luo et al., 2019).

В китайской популяции были исследованы 44 ОНП в промоторной и интронной областях гена *ADRA1A* адренергического рецептора и выявлена связь 11 ОНП с изменениями индекса массы тела (ИМТ) у пациентов с хронической формой шизофрении (Liu et al., 2010). Кроме того, прием препаратов может влиять на повышение аппетита и потребления пищи, изменяя работу серотонинергической и дофаминергической нейротрансмиттерных систем (Panariello et al., 2011; Godlewska et al., 2009). Важным фактором, способствующим увеличению массы тела, считают продолжительность использования АП (Bak et al., 2014).

Оланзапин является атипичным АП, широко используемым в клинической практике из-за его высокой эффективности и хорошей переносимости. Несмотря на то, что оланзапин улучшил качество жизни миллиардов пациентов с психическими

расстройствами во всем мире, этот препарат вызывает клинически значимое увеличение массы тела (определяемое как увеличение более 7% от исходного уровня) (Bak et al., 2014) в краткосрочных исследованиях (4-8 недель) в приблизительно 30% случаев (Godlewska et al., 2009; Vuoli et al., 2016). Интересно, что, по-видимому, существует корреляция между более высокой клинической эффективностью АП и повышенным риском метаболических изменений (Carli et al., 2021). AIWG изменения не ограничиваются центральной нервной системой, но также влияют на периферическую нейротрансмиссию (Siafis et al., 2018).

### **1.6. Разработка модельных объектов изучения шизофрении**

Разработка надежных, прогностических моделей сложных психических расстройств, таких как шизофрения, имеет важное значение для улучшения понимания нейробиологической основы расстройства и для разработки новых лекарственных средств с улучшенной терапевтической эффективностью.

Клеточные линии Т-лимфоцитов используют для оценки влияния АП на генетический аппарат клеток (Swathy et al., 2017), а также для оценки цитотоксичности препаратов (Iakovidou-Kritsi et al., 2008). На клеточных линиях Т-лимфоцитов показано изменение экспрессии генов, связанных с клеточным метаболизмом, и уровней некоторых микроРНК при обработке клеток галоперидолом и клозапином (Gardiner et al., 2014). При культивировании Т-лимфоцитов от здоровых доноров с различными нейрорептиками, показано незначительное изменение экспрессии генов и количества белков дофаминовых и серотониновых рецепторов (Wysokiński et al., 2021).

Другое направление в создании модельных объектов - использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (iPSC, ИПСК). ИПСК получают из соматических клеток доноров с психическими патологиями, с возможностью дифференцировки их затем до нейронов. Культуры ИПСК сохраняют генетические характеристики доноров, включая варианты в кодирующих и некодирующих областях, что позволяет изучать сложные генетические взаимодействия, связывать молекулярные характеристики клетки с клиническим состоянием пациентов, изучать влияние мутаций *de novo* или

унаследованных генетических вариантов. ИПСК, полученные от пациентов, подходят для изучения токсичности лекарственных средств и реакции конкретного пациента на терапию, добавляя важный инструмент для персонализированной психиатрии. Так, например, показано, что нейроны, выращенные из ИПСК, экспрессируют глутаматные, дофаминовые (D2) и серотониновые рецепторы (Flaherty, Brennand, 2017; Collo et al., 2020).

Таким образом, плюрипотентные стволовые клетки (Wen et al., 2014; Young-Pearse, 2016; Flaherty, Brennand, 2017), лимфобластоидные клеточные линии (Morag et al., 2010) и моноклеарные клетки периферической крови, полученные от конкретного пациента (Buttarelli et al., 2011; Levite, 2016) можно использовать как клеточный инструмент для изучения механизмов развития психических заболеваний и безопасности лечения АП.

Использование линий грызунов позволяет исследователям изучать изменения в поведении, напоминающие как "позитивные" симптомы шизофрении, так и нарушения обучения, памяти и социальных взаимодействий, соответствующие когнитивным и негативным симптомам шизофрении (Winship, 2019). Помимо поведенческих моделей созданы фармакологические, основанные на изменении передачи дофамина, генетические, а также модели нарушения нейрогенеза и развития нервной системы и другие (Jones et al., 2011; GenisMendoza et al., 2016). Преимущество животных моделей состоит в возможности получения образцов мозга, изучения влияния акушерских осложнений и введения лекарственных средств на разных стадиях развития заболевания. Например, намеренное поражение вентральной области гиппокампа в постнатальном периоде приводило к подобным шизофреническим особенностям поведения, проявляющимся после полового созревания (Tseng et al., 2009). На этой же модели показано, что уровень мРНК гена *DRD2* в МКПК лучше отражает поведенческие и нейрохимические изменения заболевания, чем уровень мРНК этого же гена в головном мозге (GenisMendoza et al., 2016). Мыши с селективной избыточной экспрессией рецепторов D2 в стриатуме проявляют стойкие нарушения функции префронтальной коры, а также дефицит рабочей памяти, гибкости поведения и

мотивации, признаки, характерные для шизофрении. На основе этой модели исследователями сделан вывод о том, что чрезмерная стимуляция или чрезмерная активность рецепторов D2 в стриатуме приводит к изменению функционирования нейронов префронтальной коры и как следствие к дефициту исполнительной функции и рабочей памяти (Simpson et al., 2010). Напротив, мыши с чрезмерной активацией рецепторов D3 не имеют когнитивного дефицита, но демонстрируют нарушение мотивации, симптомы, которые не поддаются лечению современными АП (Simpson et al., 2014). Селективное разрушение рецепторов D2 в лактотрофных клетках гипофиза у модельных мышей приводит к увеличению массы тела и ожирению (Perez et al., 2014), что указывает на вовлеченность данных рецепторов в метаболические побочные эффекты лечения АП.

Для центральной нервной системы мышей описаны физиологические механизмы клеточного сигналинга, метаболизм дофамина, фармакология ДР. В лимфоцитах лимфатических узлов, селезенки и тимуса крыс обнаружены внутриклеточные катехоламины (ДА, норадреналин), а также мРНК и белок ТГ. На культурах всех типов иммунных клеток мышей изучено распределение всех типов дофаминовых рецепторов, транспортеров и ТГ (Arreola et al., 2016).

Для оценки позитивных симптомов на животных моделях используют воздействие психостимуляторами. Показано, что амфетамин усиливает высвобождение дофамина в областях мозга, относящихся к полосатому телу, как у человека, так и у мышей, что отражает гипердофаминергию в подкорковых структурах головного мозга, лежащую в основе психотических симптомов при шизофрении (Kesby et al., 2018). Негативные же симптомы шизофрении сопровождаются снижением активности рецепторов D1 в префронтальной коре, гипоактивностью дофамина в хвостатом ядре, изменением активности рецепторов D3 (Collo et al., 2020).

Линии трансгенных мышей и крыс, нокаутных по гену дофаминового транспортера (линия крыс DAT-KO), демонстрируют гиперактивность, нарушение сна и когнитивные нарушения (Gainetdinov et al. 1999; Efimova et al., 2016). На модельном объекте рыбеке данио-рерио, обладающей достаточно высокой степенью

генетической и физиологической гомологии (70-75%) с человеком показано, что нокаут гена дофаминового транспортера приводит к проявлению тревожного фенотипа и дегенерации нейронов, при этом введение АП клозапина таким нокаутным рыбам нормализует поведение и способствует регенерации нейронов (Кротова и соавт., 2019).

Вследствие гетерогенной этиологии шизофрении, ни одна из животных моделей и ни один из поведенческих и когнитивных тестов в настоящее время не отражает в полной мере весь спектр нейроанатомических/биологических особенностей заболевания, но в целом расширяют наше представление о патологии головного мозга при шизофрении (Kesby et al., 2018). Также известно, что гомология геномов мыши и человека прослеживается в основном по кодирующим областям, при этом многие генетические варианты, способствующие заболеванию, расположены в некодирующих регионах (Ripke et al., 2014), поэтому их изучение затруднено (Johnson et al., 2009). Мышиные модели лучше всего подходят для исследования функциональной значимости отдельных вариантов, но не могут повторить сложных сетей взаимодействия генетических факторов человека (Flaherty, Brennand, 2017). Наконец, мышиные модели используют для определения доклинической токсичности лекарственных средств. Однако продемонстрировано, что препараты, не проявляющие токсичности и эффективные на животных, не всегда имеют такие же характеристики в клинических испытаниях на людях (Flaherty, Brennand, 2017). Поэтому необходима разработка более надежных моделей для проверки токсичности и эффективности лекарственных средств.

Таким образом, персонификация фармакотерапии психических расстройств является одной из самых актуальных областей, а поиск индивидуальных фенотипов мононуклеарных клеток периферической крови (как *in vivo*, так и при моделировании *in vitro*), отражающих изменения в экспрессии генов и количестве белка, является актуальным направлением в изучении патогенеза психических расстройств и прогнозировании успеха антипсихотической терапии, и может лечь в основу персонифицированных подходов к назначению антипсихотической терапии.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика обследуемых групп

Для анализа молекулярно-генетических характеристик рецепторов нейротрансмиссии была сформирована группа, включающая 112 пациентов мужского пола (средний возраст  $31 \pm 8$  лет (от 18 до 53 лет)), европеоидной расы с диагнозом расстройство шизофренического спектра следующих нозологий в соответствии с критериями F2 по МКБ-10: 86 пациентов – параноидная шизофрения (F20.0), 20 пациентов – острое полиморфное психотическое расстройство с симптомами шизофрении (F23.1), 6 пациентов – другие нозологии психических расстройств (F.20.6, F.20.8, F.23.0 и F23.2).

Все включенные в исследование пациенты находились в состоянии актуального первого психотического эпизода (отсутствие приема антипсихотических препаратов в анамнезе), проходили стационарное лечение в СПб ГБУЗ "Психиатрическая больница №1 им. П.П. Кащенко" с 2014 по 2017 год, не были связаны между собой узлами родства. Пациентам назначали в режиме монотерапии антипсихотический препарат галоперидол ( $n=56$ ) или оланзапин ( $n=56$ ), распределение по группам происходило путем динамической рандомизации, т.е. по мере включения пациентов в исследование, с использованием программных алгоритмов. Средняя суточная доза препарата галоперидола составляла  $19,8 \pm 5,6$  мг/день, оланзапина –  $6,5 \pm 3,9$  мг/день. Исследуемые пациенты, принимавшие галоперидол или оланзапин, значительно не отличались по клиническим и антропометрическим характеристикам (возраст, индекс массы тела (ИМТ), средний балл PANSS до лечения) ( $p=0,166$ , t-тест Стьюдента с двумя степенями свободы). Клинические характеристики исследуемых лиц представлены в таблице 2.1.

Состояние психически больных оценивали врачи психиатры СПб ГБУЗ "Психиатрическая больница №1 им. П.П. Кащенко" и Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева с применением стандартной шкалы оценки позитивных и негативных симптомов PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) (Kay et al.,

1987). Данная шкала оценивает 33 признака по 7 градациям выраженности: тяжесть продуктивной и негативной симптоматики, выраженность других психических нарушений по общей психопатологической шкале (16 признаков), агрессия, когнитивные нарушения, тревога, депрессия и прочее. По данным литературы, показателем подтверждения антипсихотической активности препарата у больных шизофренией считается снижение суммарного балла по шкале PANSS более чем на 20%. Пациенты с редукцией шкалы PANSS менее чем на 20% были отнесены в группу малоэффективной терапии.

Также было оценено развитие негативных побочных реакций на фоне терапии галоперидолом или оланзапином, таких как набор массы тела, вызванный приемом АП (AIWG) и появление экстрапирамидных симптомов (ЭПС). Оценку ЭПС, а именно лекарственного паркинсонизма и акатизии, проводили с помощью Шкалы Симпсона-Ангуса (Simpson-Angus Scale – SAS) (Simpson and Angus, 1970) и шкалы акатизии Барнса (The Barnes Akathisia Rating Scale – BARS) (Barnes, 2003). Если пациент имел общий балл SAS равный 3 или более, диагностировали паркинсонизм. Если общий балл BARS был равен 2 или более, диагностировали акатизию. AIWG определяли, как увеличение массы тела (а именно ИМТ) на 7% и более от значений в начале лечения за 28 дней приема АП (Bak et al., 2014). ИМТ рассчитывали по формуле:  $ИМТ = m/h^2$ , где  $m$  – масса тела (кг),  $h$  – рост (м).

Взятие образцов крови у пациентов и их психометрическое обследование проводили в трех точках: до начала лечения, через две недели (14 дней) и через четыре недели ( $28 \pm 2$  дня) от начала лечения АП.

Пациентам была объяснена суть эксперимента и от каждого было получено письменное согласие на участие. На проведение данной научно-исследовательской работы получено разрешение этического комитета Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева (№ ЭК-И-70/14 от 18.09.2014) в соответствии с этическими положениями Хельсинской декларации и Национальным стандартом Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» ГОСТ Р 52379-2005.

Таблица 2.1 – Клинические характеристики пациентов с расстройствами шизофренического спектра

Характеристики*	Пациенты (n=112)	
	Галоперидол (n=56)	Оланзапин (n=56)
Возраст (лет)	29,4 ± 8,0 (19,0-53,0)	26,6 ± 6,0 (18,0-43,0)
Доза препарата (мг/день)	19,8 ± 5,6	6,5 ± 3,9
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )		
До лечения	23,4 ± 3,7 (17-31,6)	22,7 ± 4,0 (16,1-35,3)
После лечения	23,1 ± 3,5 (17,4-31,1)	23,4 ± 3,9 (17,6-36,3)
Масса тела (кг)		
До лечения	74,3 ± 14,1 (47,1-101,0)	72,4 ± 12,8 (53-114,5)
После лечения	76,1 ± 22,5 (46,5-152,0)	86,1 ± 34,8 (54,0-158,0)
Суммарный балл по шкале PANSS		
До лечения	91,4 ± 13,6	87,3 ± 18,6
После лечения	72,2 ± 17,5**	64,4 ± 18,7**
Общий балл по шкале позитивных симптомов		
До лечения	23,7 ± 5,5	20,5 ± 4,5
После лечения	14,2 ± 3,44**	13,0 ± 3,4**
Общий балл по шкале негативных симптомов		
До лечения	25,0 ± 6,0	24,4 ± 7,5
После лечения	22,2 ± 7,1*	20 ± 6,5*
Общая шкала психопатологических симптомов		
До лечения	43,0 ± 8,1	42,3 ± 11
После лечения	35,5 ± 9,2*	31,4 ± 10,3**
Шкала экстрапирамидных симптомов SAS (общий балл)		
До лечения	0,2 ± 0,5 (0-2)	0,07 ± 0,2 (0-1)
После лечения	6,4 ± 4,2 (0-14)	0,9 ± 1,5 (0-6)
Шкала акатизии BARS (общий балл)		
До лечения	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
После лечения	0,3 ± 0,7 (0-2)	0,3 ± 0,9 (0-4)

Все значения представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение и минимум-максимум; \*p=0,001; \*\*p <0,001

В контрольную группу вошли 112 здоровых мужчин, средний возраст  $32 \pm 11$  лет (от 18 до 55 лет), отрицающих прием АП, не состоящих на учете психиатра и не связанных между собой узлами родства. Группа здоровых мужчин также не имела статистически значимых отличий по возрасту и ИМТ. Размер контрольной группы для определения уровней экспрессии изучаемых рецепторов был сокращен и составил 40 человек.

## 2.2. Схема эксперимента

Пациенты в стадии острого психоза проходили психометрическое обследование в стационаре до начала лечения, и от них были получены образцы крови. Оценку молекулярно-генетических характеристик проводили на мононуклеарных клетках, выделенных из крови пациентов до начала терапии в стадии острого психоза, и мононуклеарных клетках, культивируемых в условиях *in vitro* под воздействием АП. Далее пациенты, от которых был взят биоматериал для культивирования, параллельно в течение 28 дней получали те же препараты, которыми воздействовали на культивируемые клетки. У пациентов, находящихся в стационаре, брали кровь для анализа на 14 и 28 дни лечения, а также врачи анализировали психометрическое состояние и развитие нежелательных побочных реакций. Таким образом, была проведена оценка ассоциации молекулярно-генетических показателей рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС с эффективностью и безопасностью получаемого лечения галоперидолом или оланзапином.

Схема исследования представлена на рисунке 2.1.



Рисунок 2.1 – Схема эксперимента; МКПК – мононуклеарные клетки периферической крови

### 2.3. Объект исследования

Нашим исследовательским коллективом был собран биобанк образцов крови 112 пациентов с расстройствами шизофренического спектра. Сбор образцов происходил в трех точках (0, 14 и 28 день терапии). В качестве объекта исследования были использованы мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), поскольку показана корреляция в уровне мРНК генов, кодирующих белки, участвующих в обмене дофамина на периферии и в дофаминергической системе мозга. И также, доказаны тесные нейроиммунные взаимодействия, которые свидетельствуют об экспрессии изучаемых генов в лимфоидных клетках, отражающей особенности нейротрансмиссии мозга (Lehmann, 1998; Cosentino et al, 2004; Pani et al, 2004).

Кровь у изучаемых групп брали в объеме от 5 до 10 мл из локтевой вены в стерильные пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта 200 мкл 0,5 М ЭДТА

(рН 8,0) и пробирки с активатором свертывания с целью исследования сыворотки. Фракцию МКПК получали не позднее 4 часов с момента взятия материала.

## **2.4. Методы исследования**

### **2.4.1. Получение сыворотки и выделение фракции мононуклеарных клеток периферической крови**

Для получения фракции сыворотки пробирку с активатором свертывания и взятой кровью центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин.

С целью получения фракции МКПК использовали метод градиентного центрифугирования. Цельную кровь разводили аналогичным объемом 0,01 М фосфатно-солевого буфера (Биолот, Россия) и наслаивали в соотношении 1:2 на градиент плотности фикола Ficoll-Paque PLUS ( $d=1,077$ , GE Healthcare Life sciences, США), центрифугировали при 300 g в течение 20 мин. Интерфазное кольцо из мононуклеарных клеток, осторожно собирали пипеткой через верхний слой плазмы, и проводили два раза отмывку фосфатно-солевым буфером (0,01 М, рН 7,3-7,5), при этом оба раза перемешивали пипеткой и центрифугировали при 300 g, 10 мин. Конечная концентрация клеток составила  $1 \times 10^6$  клеток/мл.

Полученную сыворотку и выделенные указанным способом из периферической венозной крови мононуклеарные клетки хранили при температуре  $-80$  °С до проведения всех запланированных исследований.

### **2.4.2. Выделение геномной ДНК из мононуклеарных клеток периферической крови**

Геномную ДНК из МКПК выделяли стандартным фенольно-хлороформным методом. В пробирки с выделенными МКПК добавляли 300 мкл буфера TNE, содержащего 0,01 М NaCl, 0,01 М ЭДТА (рН 8,0), 0,01 М Tris-HCl, 30 мкл SDS (30%) и протеиназу К, аккуратно перемешивали осадок переворачиванием пробирки. Образцы инкубировали при 37 °С в течение 12 часов для протеолиза. К получившемуся однородному раствору добавляли 150 мкл фенола и 150 мкл хлороформа. Центрифугировали при 300 g в течение 10 минут. Далее верхний водный слой смеси переносили в чистую пробирку, добавляли 300 мкл хлороформа и повторно центрифугировали. Полученный надосадок переносили в чистую

пробирку, добавляли 30 мкл ацетата натрия и 1 мл 96% этанола, центрифугировали и спирт сливали. Осадок дважды промывали 1 мл 70% этанола, охлажденного на -20 °С, и центрифугировали при 300g с охлаждением +4 °С. Осадок высушивали в открытых пробирках при комнатной температуре и растворяли в 100 мкл стерильной воды. Полученные образцы ДНК хранили при +4 °С. Концентрация полученного раствора ДНК составляла от 40 до 50 нг/мкл.

### **2.4.3. Выделение тотальной РНК из мононуклеарных клеток периферической крови**

Для выделения тотальной РНК из МКПК использовали набор RNeasy Mini Kit (QUAGEN, Германия), согласно инструкции производителя.

Перед началом работы готовили рабочие растворы: к каждому 1 мл RTL буфера добавляли по 10 мкл β-меркаптоэтанола (соотношение 99:1), а к концентрату буфера RPE добавляли 4 объема 96% этанола. К МКПК добавляли в 600 мкл рабочего раствора буфера RTL, и размешивали осадок до полного его растворения. Затем к гомогенизированному лизату добавляли 600 мкл 70% этанола и перемешивали смесь пипетированием. Полученный образец, включая возможный осадок, переносили в колонку RNeasy spin column из набора, помещенную в 2,0 мл пробирку и центрифугировали при 6700 g 15 секунд, прошедшую через мембрану жидкость из нижней пробирки сливали, а колонку переносили обратно в пробирку. В каждую колонку добавляли 700 мкл буфера RW1 и центрифугировали при 6700 g 15 секунд, жидкость из нижней пробирки сливали. Затем добавляли 500 мкл буфера RPE и центрифугировали при 6700 g 2 минуты. Колонку с находящимся в ней осадком переносили в чистую 2,0 мл пробирку и центрифугировали еще 1 минуту при 6700 g для устранения остатков буфера и просушивания мембраны.

После этого колонки переносили в 1,5 мл пробирки с крышкой и на каждую мембрану колонки наносили по 50 мкл воды Milli-Q, 1 минуту инкубировали и центрифугировали при 11000 g в течение 1 минуты. Оценку чистоты РНК выполняли по отношению поглощения при длинах волн 260/280 нм на спектрофотометре NanoDropLite (ThermoFisherScientific, США). Выделенную РНК хранили при температуре -80 °С.

#### 2.4.4. Получение кДНК методом обратной транскрипции

Проведение реакции обратной транскрипции и подготовку образцов кДНК осуществляли с использованием набора RevertAid First Strand cDNA (Thermo Scientific, США) на льду в пробирках объемом 0,2 мл, согласно инструкции производителя.

В пробирки последовательно добавляли 6 мкл воды Milli-Q, затем 1 мкл олигонуклеотидов Oligo DT и ставили пробирки на лёд. Затем к смеси добавляли 5 мкл РНК и инкубировали при температуре 37 °С в течение 5 минут. Далее пробирки переносили обратно на лед и добавляли 4 мкл Buffer, 1 мкл Riboblock для ингибирования рибонуклеаз и 2 мкл dNTP.

Смесь инкубировали при температуре 60 °С в течение 5 минут, добавляли 2 мкл ревертазы и инкубировали при температуре 42 °С в течение 1 часа. Полученную таким методом кДНК разводили в 10 раз и хранили при +4 °С.

#### 2.4.5. Количественное определение уровней мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRa1B* и *HRH1* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Определение относительных уровней мРНК исследуемых генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRa1B* и *HRH1* проводили методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на приборе CFX96 Touch (BioRad, США) с флуоресцентными зондами TaqMan и праймерами, размещенными через интрон для обеспечения избирательной амплификации кДНК и исключения геномной ДНК.

Относительный уровень мРНК изучаемых генов нормализовали по отношению к уровню мРНК стабильно экспрессирующихся в клетках генов *GNB2L1* (guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like), *GAPDH* (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) и *ACTB* ( $\beta$ -актин).

Структура праймеров и зондов исследуемых генов разработана с помощью программы Primer Express™ (Applied Biosystems) самостоятельно, либо заимствована из источников литературы (таблица 2.2). Оценку уровня мРНК генов *DRD1* и *DRD5* выполняли с использованием коммерческих наборов TaqMan(r)

Gene Expression Assay (Hs00265245\_s1 и Hs00361232\_g1) (Applied Biosystems, США). Специфичность зондов и праймеров оценивали в программе PrimerBlast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>).

Таблица 2.2 – Структура зондов и праймеров, используемых для ПЦР в режиме реального времени

Ген	Последовательность (5'-3')	Температура отжига, °С
<i>DRD1</i>	Коммерческий набор TaqMan(r) Gene Expression Assay Hs00265245_s1	58
<i>DRD2</i>	Прямой: CTGCTCATCGCTGTCAATCGT Обратный: CTCGCGGGACACAGCC Зонд: FAM-TCGGCAACGTGCTGGTGTGCA-RTQ1	58
<i>DRD4</i>	Прямой: GGCCATGGACGTCATGCT Обратный: TGATGGCGCACAGGTTGA Зонд: FAM-TGCACCGCCTCCAT-RTQ1	58
<i>DRD5</i>	Коммерческий набор TaqMan(r) Gene Expression Assay Hs00361232_g1	59
<i>HRH1</i>	Прямой: TCTCGGTGGTGGCGGACTTGA Обратный: CATGAGCAGGTAGAGGATGTTGAT Зонд: FAM-CGTGGGTGCCGTCGT-RTQ1	60
<i>ADRa1B</i>	Прямой: CTGGGGAGAGTTGAAAAATGC Обратный: CAGACAAGATGACTAGGATGTT Зонд: FAM-ATCTCTGTGGGCCTGGTGTGCTGG-RTQ1	60
<i>GNB2L1</i>	Прямой: GAATACCCTGGGTGTGTGCAA Обратный: GGACACAAGACACCCACTCTGA Зонд: HEX-TACACTGTCCAGGATGAGA-BHQ2	58-60
-141C Ins/Del	Прямой: GACCCAGCCTGCAATCAC Обратный: AGGAGCTGTACCTCCTCGG	57
<i>GAPDH</i>	Прямой: GGAAGCTCACTGGCATGGC Обратный: TAGACGGCAGGTCAGGTCCA Зонд: HEX-CCCCACTGCCAACGTGTCAGTG-BHQ1	58-60
<i>ACTB</i>	Прямой: TCACCGAGCGCGGCT Обратный: TAATGTCACGCACGATTTCCC Зонд: ROX-CAGCTTCACCACCACGGCCGA-RTQ2	58-60

Аmplification каждого образца проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 67 мМ Tris-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1% тритона X-100, 2,0 мМ MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific, США), 2,5 мМ каждого из четырех dNTP (Thermo Scientific, США), 25 пМ флуорогенного зонда и по 15 пМ каждого праймера, 5 ед. термостабильной рекомбинантной Taq ДНК полимеразы (Биосан, Россия) и 1 мкл кДНК. ПЦР амплификацию образцов проводили в 96-луночных планшетах при температурном режиме 94 °С в течение 2 минут, а затем на протяжении 45 циклов 94 °С в течение 15 секунд, 60 °С в течение 60 секунд и 72 °С в течение 10 секунд. В качестве стандарта для нормировки результатов (экзогенный контроль) между плашками применяли смесь кДНК нескольких здоровых доноров, который проставляли вместе с образцами в каждой анализируемой плашке. Реакцию для каждого образца проводили в трех повторах. Точность результатов и снижение уровня ошибки обеспечивали проведением реакции для изучаемых генов (анализируемый ген (мишень) и эндогенного контроля (референсы)) в одной пробирке (многокомпонентная ПЦР), с использованием разных флуорофоров (FAM, HEX и ROX) (Синтол, Россия). На рисунке 2.2 представлены кривые амплификации, показывающие увеличение концентрации фрагментов ДНК в образце.

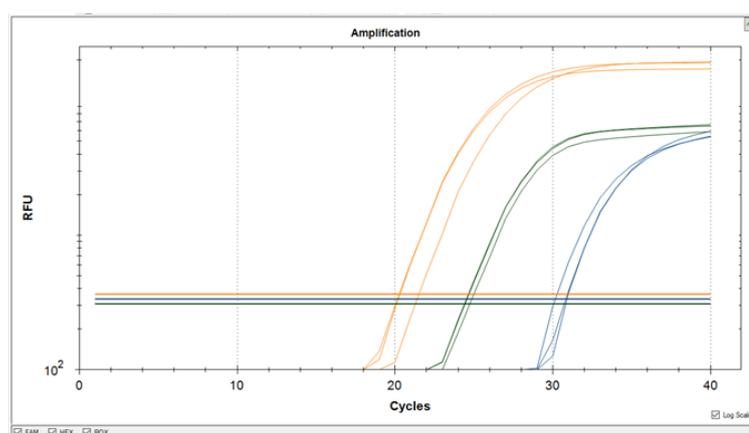


Рисунок 2.2 – График кривых амплификации на примере гена *DRD2*. Синяя линия - *DRD2*, FAM; зеленая линия - *GAPDH*, HEX; оранжевая линия - *ACTB*, ROX

Оценку относительных уровней мРНК генов проводили с использованием метода относительных измерений  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , в программном обеспечении Bio Rad CFX96. Для расчетов использовали формулу вычисления нормализованной экспрессии на основании рассчитанного относительного количества (RQ) при принятой эффективности реакции 2 (руководство по эксплуатации CFX96, 2013):

$$\Delta\Delta Ct \text{ образца (ген)} = \frac{RQ \text{ образца (ген)}}{(RQ \text{ образца (реф.1)} \times RQ \text{ образца (реф.2)} \times \dots \times RQ \text{ образца (реф.n)})^{1/n}}$$

где:

RQ – относительное количество образца,

Реф. = референс-мишень в эксперименте, включающем одну или несколько референс-мишеней в каждом образце,

Ген = целевой ген (одна мишень).

Показатели средних значений относительных уровней мРНК генов представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Lq ÷ Hq).

#### 2.4.6. Определение генетического варианта rs1799732 (–141C Ins/Del) гена

##### *DRD2*

Для определения генетического варианта rs1799732 (–141C Ins/Del) гена *DRD2* применяли анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) (Маниатис и др., 1984), для чего амплифицировали нужный участок гена методом ПЦР и далее применяли рестрикционный анализ. Для реакции использовали геномную ДНК в количестве от 15 до 25 нг. Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала 67 мМ Tris-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1% тритон X-100, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific, США), 2,5 мМ каждого dNTP (Thermo Scientific, США), по 25 пМ праймеров (Синтол, Россия) (структура приведена в таблице 2.2) и 1 ед. термостабильной рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Биосан, Россия). Режим амплификации при 95 °С – 3 мин; 95 °С – 30 сек, 57 °С – 30 сек, 72 °С – 30 сек; 36 циклов; заключительный синтез 72 °С – 5 мин. Для эндонуклеазного расщепления брали 5 ед. фермента рестрикции рестриктазы Bst NI (тип MvaI) (Thermo Scientific, США) на 5 мкл ПЦР-продукта и воздействовали в течение 3 ч при 37 °С, в качестве буфера использовали

однократный буфер Tango (Thermo Scientific, США). Электрофоретическое разделение проводили в 6% полиакриламидном геле с использованием маркера молекулярного веса (Thermo Scientific, США), далее окрашивали бромистым этидием и проводили детекцию в трансиллюминаторе.

#### 2.4.7. Определение уровня белка рецепторов

Для определения уровня белка рецепторов на первой стадии проводили лизис МКПК и получали белковые экстракты. Для этого к полученным МКПК добавляли буфер, содержащий 1% тритон X-100, 0,5% дезоксихолат натрия, 0,1% SDS, 150 мМ NaCl, 50 мМ Tris (pH 8,0) и 1% смесь ингибиторов протеаз Protease Inhibitor Cocktail (Sigma-Aldrich, Германия), буфер предварительно перемешивали встряхиванием. Пробирки со смесью клеток и буфера выдерживали на льду в течение 20–30 минут, поочередно встряхивая на вортексе до полного растворения осадка и затем центрифугировали при охлаждении (+4 °C) и 300g в течение 15 минут. Супернатант переносили в новые пробирки объемом 1,5 мл, после чего образцы хранили при температуре -80 °C.

На второй стадии определяли концентрацию общего белка МКПК с помощью набора Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific, США) в соответствии с протоколом производителя. Полученные ранее фракции МКПК разводили в 10 раз буфером для разведения белка, содержащего 1M Tris и 5M NaCl.

Для построения стандартной кривой использовали разведения стандартов на основе раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА), согласно протоколу производителя в пробирках 1,5 мл: 2 мг/мл, 1,5 мг/мл, 1 мг/мл, 0,75 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,125 мг/мл, 0,025 мг/мл. Стандарты наносили в 96-луночные плашки, затем наносили разведенные фракции моноклеарных клеток в двух повторах по 25 мкл в каждую лунку, при постоянном перемешивании.

Реагент А и Реагент В из набора разводили в пропорции 50:1 для получения рабочего раствора ВСА (Bicinchoninic acid), который раскапывали в плашку по 200 мкл и затем инкубировали при температуре 37 °C в течение 30 минут.

Определение концентрации общего белка каждого образца проводили в двух повторах на спектрофотометре xMark (Bio-Rad, США) при длине волны 562 нм.

Расчет концентрации в изучаемых образцах проводили путем построения калибровочного графика зависимости оптического поглощения (562 нм) от концентрации белка (мкг/мл).

На третьей стадии выполняли количественный анализ белков изучаемых рецепторов методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов ELISA для дофаминовых рецепторов D1, D2, D3, гистаминового H1 и адренергического рецептора ADRa1B (Cloud-Clone Corp, США), в соответствии с протоколом производителя. Реакцию проводили при комнатной температуре.

Проводили разведение разбавителем входящего в состав набора стандарта до концентрации 10 нг/мл. Далее в шести пробирках объемом 1,5 мл проводили серию разбавлений стандарта согласно протоколу производителя: 10 нг/мл, 5 нг/мл, 2,5 нг/мл, 1,25 нг/мл, 0,625 нг/мл, 0,312 нг/мл и седьмая пробирка с концентрацией стандарта 0 нг/мл (рисунок 2.3).

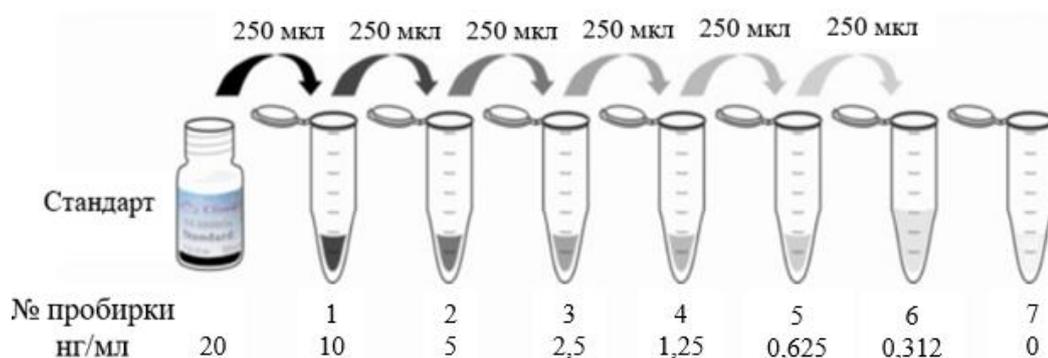


Рисунок 2.3 – Схема разведения стандарта для количественного анализа белков изучаемых рецепторов

Клетки и 100 мкл разведенных стандартов добавляли в каждую лунку плашки с антителами к изучаемым белкам рецепторов и выдерживали при 37 °С в течение 60 минут. Затем из плашки удаляли жидкость, добавляли по 100 мкл раствора А и также выдерживали при 37 °С в течение 60 минут. Далее добавляли по 100 мкл раствора В, инкубировали при 37 °С в течение 30 и промывали буфером. По окончании промывки в каждую лунку добавляли красящий раствор в объеме 90 мкл.

Концентрацию белков определяли на спектрофотометре xMark (BioRad, США). Расчет концентрации проводили путем построения калибровочного графика зависимости оптического поглощения (длина волны 450 нм) и концентрации белка (нг/мл).

Количество изучаемого белка в каждом образце нормировали на количество общего белка и представляли в нг на 1 мг белка клеточного лизата (нг/мг).

#### **2.4.8. Культивирование моноклеарных клеток в присутствии галоперидола или оланзапина**

Выделенные моноклеарные клетки (плотность  $1 \times 10^6$  клеток/мл) культивировали в 6-луночных планшетах (Nunc, Дания) в среде RPMI-1640 (Sigma, США), содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Gibco, США), 1 мМ L-аргинина (Sigma, США), 1% HEPES (Sigma, США), 0,2%  $\text{NaHCO}_3$ , 50 ед./мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина (Gibco, США) в течение 72 ч в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при 37 °С, 5%  $\text{CO}_2$  и 95% влажности. МКПК пациентов, выделенные до начала лечения, культивировали в следующих условиях: в присутствии галоперидола (средняя доза 0,8 мкг на 1 мл среды), оланзапина (средняя доза 0,25 мкг на 1 мл среды) и в отсутствии антипсихотического препарата (контроль). Каждый эксперимент выполнен в трех повторах. Показано, что выбранная нами доза препаратов является безопасной для клеток при культивировании (Wysokinski et al., 2021). После культивирования клетки отмывали в PBS и хранили при -80 °С.

#### **2.4.9. Определение уровня дофамина в сыворотке крови**

Уровень дофамина определяли в 100 мкл сыворотки периферической крови методом ИФА с использованием наборов ELISA (Dopamine Research, LDN Labor Diagnostika, Германия) согласно инструкции для количественного определения дофамина в различных биологических образцах. Использовали микропланшетный спектрофотометр xMark (Biorad, США).

### **2.5. Статистическая обработка результатов**

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения SPSS (22.0) (IBM, США). Для проверки статистических гипотез о виде распределения данных использовали W-тест Шапиро-Уилка. Так

как изучаемые переменные (уровень мРНК и белка) имели существенное отклонение от нормального распределения ( $Z < 0,0001$ ), то сравнение показателей проводили при помощи непараметрических критериев. Критерий Манна-Уитни применяли для сравнения групп, различающихся по терапии и динамике по шкале PANSS. Для сравнения значений визитов внутри исследуемой группы применяли критерий Фридмана для связанных выборок. Для определения корреляционных зависимостей – критерий корреляции Спирмена. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони. Для всех использованных критериев различия считали достоверными при  $p < 0,05$ . Клинические характеристики в таблице представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение и минимума/максимума. Показатели представлены в виде медианы и квартилей 25% (нижнего) и 75% (верхнего) ( $Lq \div Hq$ ). Распределение генотипов rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* в исследуемых группах (пациенты с РШС и контрольная группа) соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ ). Сравнение распределения генотипов между группами проводили с помощью критерия  $\chi^2$ .

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

#### 3.1. Характеристики генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4* и *HRH1* в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы

##### 3.1.1. Уровни мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4* и *HRH1* в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы

С целью определения факторов риска развития РШС был проведена оценка уровней экспрессии генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4* и *HRH1* в МКПК пациентов с РШС в актуальном психическом состоянии до начала лечения и у лиц в контрольной группе. Проверка статистических гипотез о виде распределения данных с использованием критерия Колмогорова-Смирнова и W-теста Шапиро-Уилка показала отклонение от нормального распределения значений в исследуемых группах. Нормальное распределение не удалось получить преобразованием значений логарифмированием, поэтому для обработки данных использовали непараметрические критерии, значения представлены в виде медианы и квартилей (нижний Lq÷верхний Hq).

В ходе работы выявлен пониженный относительный уровень мРНК гена *DRD1* в группе пациентов с РШС до лечения по сравнению с контрольной группой (1,99 (0,49÷4,05) и 3,26 (1,61÷5,27), соответственно,  $p=0,014$ ), рисунок 3.1(А). Также у пациентов до начала лечения выявлен повышенный относительный уровень мРНК гена *HRH1* по сравнению с контрольной группой (2,08 (0,18÷5,76) и 0,7 (0,29÷1,5), соответственно,  $p=0,005$ ), рисунок 3.1(Б). Значимые различия с контролем сохранялись и при разделении пациентов на подгруппы лечения галоперидолом или оланзапином с эффективным и малоэффективным ответом ( $p<0,0001$ ).

Относительные уровни мРНК генов *DRD2* и *DRD4* в МКПК пациентов с РШС до терапии значимо не отличались от уровней мРНК генов в контрольной группе: (1,71 (0,21÷5,52) и 0,63 (0,13÷1,0),  $p=0,194$ , и 1,5 (0,16÷7,11) и 0,48 (0,23÷1,3),  $p=0,053$ , соответственно) (Грунина и соавт., 2020).

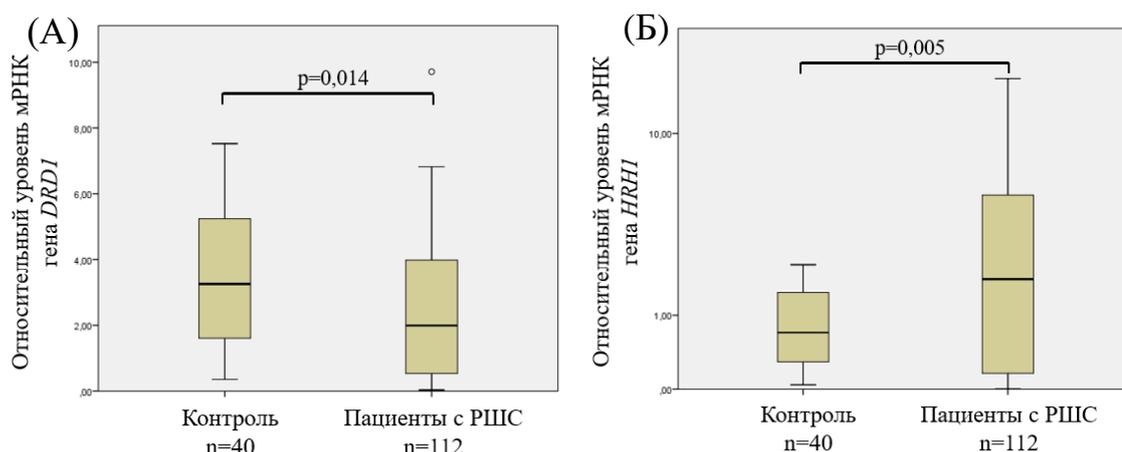


Рисунок 3.1 – Относительные уровни мРНК (А) гена *DRD1*, (Б) гена *HRH1* у пациентов до начала лечения и у лиц контрольной группы. РШС – расстройства шизофренического спектра

### 3.1.2. Распределение генотипов генетического варианта rs1799732 (–141C Ins/Del) гена *DRD2* в группе пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы

В нашем исследовании распределение генотипов генетического варианта rs1799732 гена *DRD2* в изучаемых группах соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Частота встречаемости генотипов между группой пациентов с РШС и группой контроля не различалась (таблица 3.1) (Грунина и соавт., 2020).

Таблица 3.1 – Распределение генотипов генетического варианта rs1799732 (–141C Ins/Del) гена *DRD2* у пациентов с РШС и у лиц контрольной группы

Генетический вариант гена <i>DRD2</i>	Генотип	Пациенты с РШС, (n=112)	Контрольная группа, (n=112)	Статистики
rs1799732 –141C Ins/Del	Ins Ins n (частота)	86 (0,79)	96 (0,86)	$\chi^2=1,992$ , $p=0,369$
	Ins Del n (частота)	25 (0,2)	14 (0,12)	
	Del Del n (частота)	1 (0,01)	2 (0,02)	

### 3.1.3. Влияние генетического варианта rs1799732 (–141C Ins/Del) на уровень мРНК гена *DRD2* в группе пациентов с расстройствами шизофренического спектра и у лиц контрольной группы

При оценке относительного уровня мРНК гена *DRD2* в МКПК пациентов в зависимости от генетического варианта rs1799732 (рисунок 3.2) критерий Краскала – Уоллиса для независимых выборок не показал значимых различий между генотипами: у лиц контрольной группы показатель мРНК гена *DRD2* при мажорном гомозиготном варианте –141InsC составил 0,56 (0,30÷1,24), в случае гетерозиготы – 1,16 (0,30÷1,60), при минорном гомозиготном варианте –141DelC – 0,56 (0,20÷0,56), (p=0,593); у пациентов с РШС (до терапии) – 0,60 (0,11÷0,94), 0,51 (0,26÷1,27) и 0,60, (p=0,657), соответственно (Грунина и соавт., 2020).

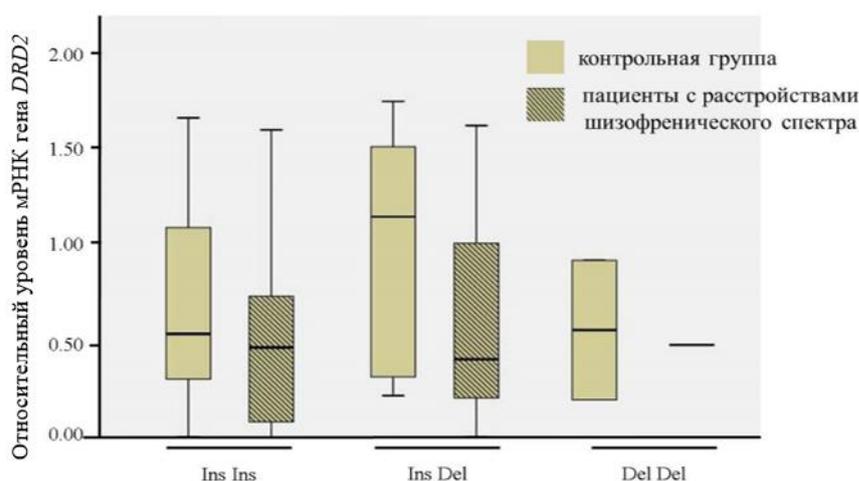


Рисунок 3.2 – Относительный уровень мРНК гена *DRD2* в МКПК у лиц контрольной группы и пациентов с РШС в зависимости от генотипов генетического варианта rs1799732 (–141C Ins/Del)

## 3.2. Уровни (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови, а также концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра до начала лечения в прогнозе эффективности терапии галоперидолом или оланзапином

### 3.2.1. Анализ эффективности антипсихотической терапии

Оценку психометрических показателей пациентов проводили с использованием шкалы позитивных и негативных симптомов PANSS. Показателем подтверждения антипсихотической активности препарата у больных РШС считается снижение суммарного балла по шкале PANSS более чем на 20%, таким образом мы условно поделили пациентов на группу эффективной терапии (снижение шкалы PANSS более 20%) и на группу малоэффективной терапии (снижение шкалы PANSS менее 20%). В группу эффективной терапии галоперидолом вошли 36 пациентов, эффективной терапии оланзапином - 42 пациента; группа малоэффективной терапии галоперидолом - 20 пациентов, малоэффективной терапии оланзапином - 14 пациентов.

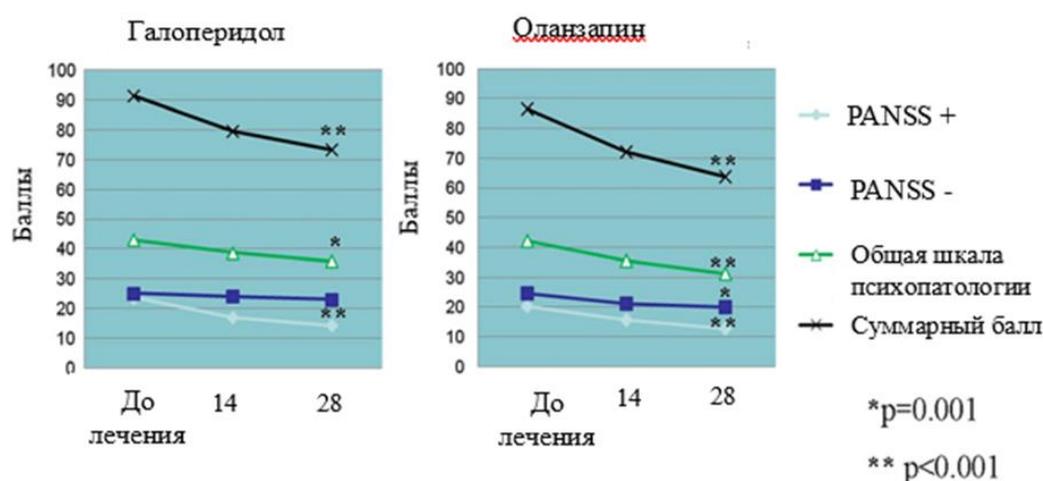


Рисунок 3.3 – Динамика баллов по шкале PANSS. «PANSS +» – шкала позитивных симптомов. «PANSS -» – шкала негативных симптомов. Общая шкала психопатологии – отражает общие психопатологические характеристики и тяжесть расстройства. Суммарный балл – общее количество баллов по шкалам PANSS +, PANSS - и общей шкалы психопатологии

Таблица 3.2 – Показатели шкалы PANSS на фоне терапии антипсихотическими препаратами

	Галоперидол (n=56)		Оланзапин (n=56)	
	0	28	0	28
ПАНСС +	24,0 (20,2÷26,0)	13,0 (11,0÷15,5)	20,5 (17,0÷24,0)	11,5 (9,0÷15,0)
ПАНСС –	24,5 (20,2÷24,5)	22,0 (17,0÷27,0)	24,5 (20,0÷27,0)	17,0 (13,2÷21,0)
Общая шкала психопатологии	41,0 (37,0÷50,7)	33,0 (26,5÷42,0)	40,0 (36,2÷50,0)	28,5 (23,0÷33,0)
Суммарный балл	88,0 (80,0÷102,5)	69,0 (55,0÷84,0)	86,0 (73,0÷101,0)	57,0 (46,2÷69,2)

На рисунке 3.3 представлена динамика баллов по шкале PANSS. Положительный ответ на лечение (статистически значимое снижение суммарного балла PANSS,  $p < 0,001$ ) обнаружен независимо от препарата (галоперидол или оланзапин) (таблица 3.2). При этом статистически значимых отличий в баллах PANSS между пациентами, принимавших галоперидол, и пациентами, принимавших оланзапин, ни на 14 день ( $p=0,425$ ), ни на 28 день лечения ( $p=0,365$ ) не выявлено. Поскольку отличий в показателях между 14 и 28 днями лечения не наблюдали, далее данные представлены для 0 и 28 дня. В целом, терапия галоперидолом оказалась эффективной для 62% пациентов, а терапия оланзапином - для 74% (Taraskina et al., 2017).

### 3.2.2. Уровни мРНК генов рецепторов биогенных аминов в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином

Характеристики генов «фармакодинамических белков» (мишеней действия АП) до начала лечения являются важными показателями для прогноза эффективности терапии (Kwak et al., 2001; Maes et al., 2021), поэтому нами была проведена оценка относительного уровня мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRA1B* и *HRH1* в МКПК пациентов с РИС до начала лечения в актуальном психотическом состоянии.

Были сопоставлены относительные уровни мРНК генов рецепторов пациентов в состоянии острого психоза с различным ответом на терапию галоперидолом или оланзапином. По результатам нашего исследования пониженный относительный уровень мРНК гена *DRD1* был ассоциирован с эффективной терапией оланзапином (1,09 (0,14÷5,90) и 3,15 (1,34÷16,10),  $p=0,046$ ) по сравнению с малоэффективной терапией. При этом в группе терапии галоперидолом статистически значимых различий не выявлено (рисунок 3.4). В целом, пациенты с эффективной нормализацией психического статуса как галоперидолом, так и оланзапином, имели более низкие уровни экспрессии изучаемых рецепторов биогенных аминов МКПК в состоянии актуального психического состояния, однако, значения статистически значимых различий не достигали (таблица 3.3). Таким образом, пониженный относительный уровень мРНК гена *DRD1* в МКПК пациентов с РШС до начала лечения ассоциирован с эффективной терапией оланзапином.

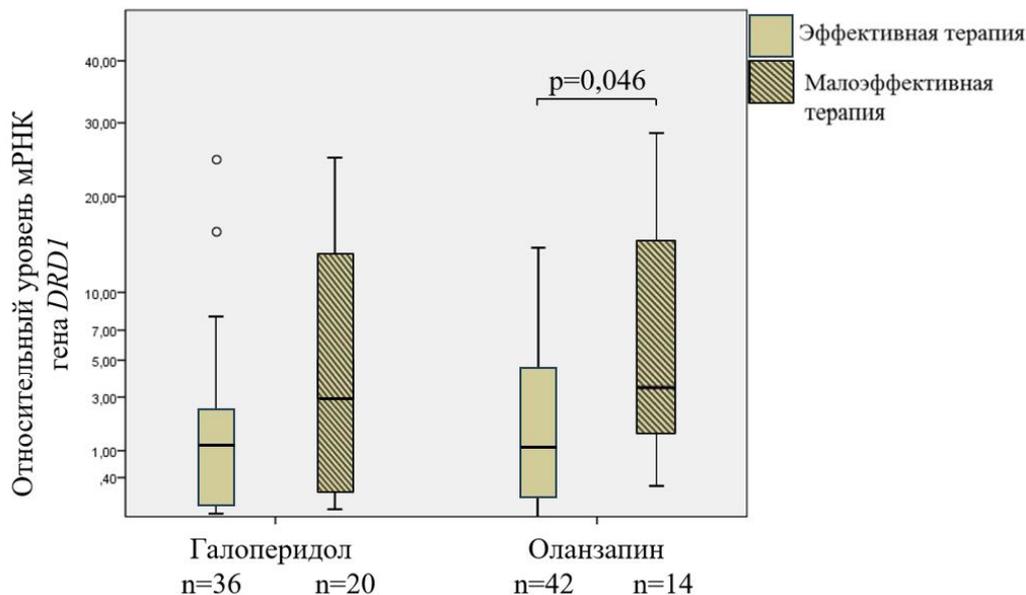


Рисунок 3.4 – Относительный уровень мРНК гена *DRD1* в МКПК пациентов до начала лечения с различным по эффективности ответом на терапию

Таблица 3.3 – Сравнительный анализ уровней мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов до начала лечения с различным по эффективности ответом на терапию

Ген	Группы пациентов		<i>p-Value</i>
	Эффективная терапия, галоперидол, n=36	Малоэффективная терапия, галоперидол, n=20	
<i>DRD1</i>	1,09 (0,72÷2,57)	2,92 (0,18÷14,74)	0,126
<i>DRD2</i>	1,06 (0,28÷3,12)	1,23 (0,12÷5,35)	0,914
<i>DRD4</i>	0,68 (0,13÷2,37)	1,83 (0,38÷8,12)	0,232
<i>DRD5</i>	1,44 (0,22÷8,50)	4,68 (0,54÷9,78)	0,420
<i>ADRa1B</i>	2,17 (0,36÷10,56)	4,68 (0,63÷10,32)	0,595
<i>HRH1</i>	1,27 (0,16÷3,96)	2,36 (0,22÷5,63)	0,510
	Эффективная терапия, оланзапин, n=42	Малоэффективная терапия, оланзапин, n=14	
<i>DRD1</i>	1,09 (0,14÷5,90)	3,15 (1,34÷16,10)	0,046*
<i>DRD2</i>	1,11 (0,18÷4,72)	4,53 (1,46÷12,05)	0,152
<i>DRD4</i>	1,39 (0,14÷7,86)	3,81 (0,87÷10,66)	0,269
<i>DRD5</i>	0,52 (0,14÷5,51)	4,57 (2,25÷10,56)	0,121
<i>ADRa1B</i>	3,10 (0,15÷14,74)	6,12 (1,94÷24,35)	0,182
<i>HRH1</i>	1,77 (0,12÷6,34)	4,78 (2,55÷11,30)	0,680

\*p-value <0,05

### 3.2.3. Уровни белка рецепторов биогенных аминов в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином

При оценке уровня белка рецепторов D1, D2, D3, ADRa1B и H1 в МКПК пациентов в актуальном психическом состоянии показано, что уровень рецептора D1 в МКПК пациентов с эффективной терапией оланзапином был ниже, чем у больных с малоэффективной терапией: 0,22 (0,01÷0,43) и 0,81 (0,59÷1,25) соответственно,  $p=0,021$  (рисунок 3.5) (Заботина и соавт., 2022). В группе пациентов с эффективной терапией оланзапином пониженные уровни белка рецептора D1 и мРНК гена *DRD1* до начала лечения коррелируют между собой. Уровни остальных рецепторов в группах пациентов, разделенных по эффективности терапии, не имеют статистически значимых различий (таблица 3.4).

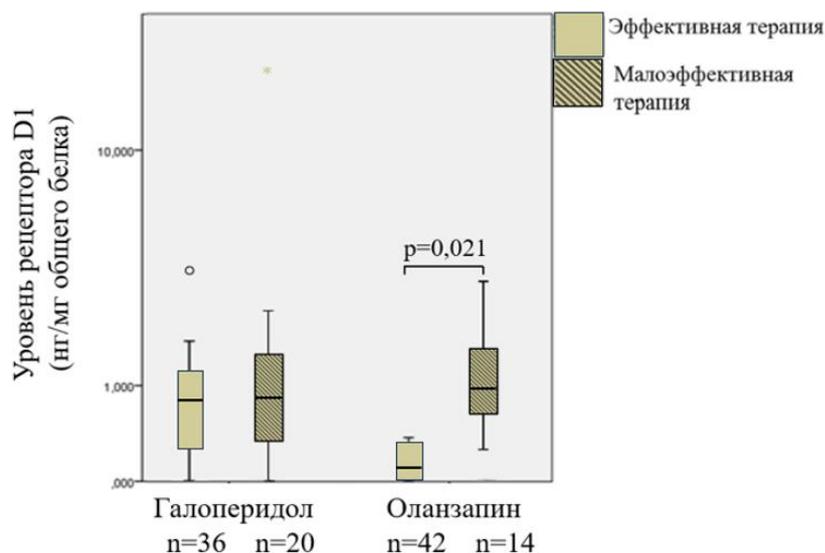


Рисунок 3.5 – Уровень рецептора D1 в МКПК пациентов до начала лечения с различным по эффективности ответом на терапию

Таблица 3.4 – Сравнительный анализ уровня рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов до начала лечения с различным по эффективности ответом на терапию

Белок	Группы пациентов		<i>p-Value</i>
	Эффективная терапия, галоперидол, n=36	Малоэффективная терапия, галоперидол, n=20	
D1	0,79 (0,28÷1,15)	0,75 (0,48÷1,18)	0,693
D2	0,18 (0,13÷0,21)	0,16 (0,13÷0,22)	0,989
D3	0,17 (0,09÷0,28)	0,18 (0,06÷0,54)	0,908
ADRa1B	1,33 (0,63÷2,90)	1,92 (1,4÷2,80)	0,324
H1	1,89 (0,47÷2,85)	0,46 (0,03÷2,7)	0,259
	Эффективная терапия, оланзапин, n=42	Малоэффективная терапия, оланзапин, n=14	
D1	0,22 (0,01÷0,43)	0,81 (0,59÷1,25)	0,021*
D2	0,18 (0,12÷0,23)	0,19 (0,15÷0,23)	0,643
D3	0,11 (0,07÷0,86)	0,89 (0,06÷1,68)	0,423
ADRa1B	2,12 (1,07÷2,64)	1,27 (0,70÷2,57)	0,462
H1	1,07 (0,13÷1,67)	2,81 (2,93÷7,11)	0,052

\**p-value* <0,05

### 3.2.4. Концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином

Средняя концентрация периферического дофамина среди всех пациентов, включенных в исследование, до начала лечения составляла  $116,8 \pm 52,8$  пг/мл (среднее  $\pm$  3 SD) (диапазон от 5,2 до 637,3 пг/мл), превышая физиологически нормальные уровни дофамина в плазме крови (от 10 до 100 пг/мл). У некоторых пациентов порог был превышен в несколько раз. Коэффициент вариации (CV) для внутреннего анализа составлял 4,67, 11,38, 2,65 и 8,19 для четырех анализируемых планшетов, соответственно. Вариация между анализами (для контроля точности результатов между разными анализами) составляла 2,65 (Taraskina et al., 2017).

Сравнение с помощью непараметрических критериев не выявило статистически значимых различий в уровне дофамина в крови между пациентами в актуальном психотическом состоянии с различным ответом на терапию:

	Эффективная терапия	Малоэффективная терапия	<i>p-Value</i>
Галоперидол	96,2 (19,0÷164,7), n=36	119,5 (65,4÷194,8), n=20	0,437
Оланзапин	94,7 (60,0 ÷153,4), n=42	59,1 (9,2÷152,0), n=14	0,147

### 3.2.5. Генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* в ассоциации с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином

В таблице 3.5 показан суммарный балл и балл позитивных симптомов по шкале PANSS пациентов с РШС в актуальном состоянии психоза в соответствии с генетическим вариантом -141C Ins/Del. Статистически значимых различий в показателях психического состояния пациентов до начала лечения между различными генотипами -141C Ins/Del выявлено не было. Различий ( $\chi^2=0,488$ ,  $p=0,783$ ) в частоте встречаемости генотипов варианта -141C Ins/Del гена *DRD2* у пациентов с различным по эффективности ответом на терапию не обнаружено (Грунина и соавт., 2020).

Таблица 3.5 – Показатели психического состояния пациентов до начала лечения в зависимости от генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2*

Генетический вариант гена <i>DRD2</i>	Генотип	Показатель шкалы PANSS			
		PANSS +	<i>p-Value</i>	Суммарный балл	<i>p-Value</i>
rs1799732 -141C Ins/Del	Ins Ins	22,0 (18,0÷25,0)	p=0,352	86,5 (77,0÷101,3)	p=0,965
	Ins Del	22,0 (19,5÷26,5)		88 (79,5÷105,0)	
	Del Del	19,0		86,0	

### 3.3. Уровни (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови, а также концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра до начала лечения в прогнозе безопасности терапии галоперидолом или оланзапином

#### 3.3.1. Анализ безопасности антипсихотической терапии

Нами проведен поиск ассоциаций между молекулярно-генетическими показателями рецепторов в МКПК и концентрацией дофамина в сыворотке крови пациентов с РШС и безопасностью проводимого лечения, а именно развитием побочных реакций при приеме АП.

В качестве побочной реакции нами рассмотрен набор веса, вызванный приемом АП, являющийся показателем метаболических нарушений при лечении. Прибавку массы тела считали значимой при увеличении массы тела пациента на 7% и более от начального за 28 дней приема АП (Вак et al., 2014). Среди пациентов частота набора массы тела, вызванной приемом АП, в группе с эффективной терапией галоперидолом составила 11% (n=4), в группе с малоэффективной терапией галоперидолом - 5% (n=1), в группе с эффективной терапией оланзапином - 27% (n=11) и в группе с малоэффективной терапией оланзапином - 20% (n=3).

Поскольку у 14 пациентов на фоне лечения была отмечена потеря веса более 7%, их данные не учитывали при обработке результатов по набору массы тела.

Также, в качестве побочных реакций были рассмотрены экстрапирамидные симптомы, такие как акатизия и лекарственный паркинсонизм, наличие/отсутствие которых оценивали с помощью шкалы акатизии Барнса (BARS) и Симпсона-Ангуса (SAS), соответственно.

Среди 112 пациентов частота встречаемости ЭПС в группе с эффективной терапией галоперидолом составила для паркинсонизма 55,9% (n=19) и акатизии 20,6% (n=7), в группе с малоэффективной терапией галоперидолом составила для паркинсонизма 70% (n=14) и акатизии 10% (n=2), в группе с эффективной терапией оланзапином составила для паркинсонизма 2,5% (n=1) и акатизии 5% (n=2) и в группе с малоэффективной терапией оланзапином составила для паркинсонизма 21,4% (n=3) и акатизии 7% (n=1). Нами показано, что прием галоперидола чаще приводил к развитию экстрапирамидных расстройств по сравнению с приемом оланзапина ( $p < 0,05$ ).

### **3.3.2. Уровни (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках периферической крови, а также концентрация дофамина в сыворотке крови пациентов в ассоциации с безопасностью галоперидолом или оланзапином**

Набор массы тела, вызванный приемом АП, не ассоциирован с уровнями экспрессии (мРНК, белок) изучаемых рецепторов биогенных аминов в МКПК, а также с концентрацией дофамина в сыворотке крови пациентов с РШС (таблица 3.6). При разделении групп по эффективности терапии, статистически значимых различий также не было обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Развитие акатизии, вызванной приемом АП, также не ассоциировано с уровнями экспрессии генов (мРНК, белок) изучаемых рецепторов биогенных аминов в МКПК, а также с концентрацией дофамина в сыворотке крови пациентов с РШС (таблица 3.7). При разделении групп по эффективности терапии, статистически значимых различий не было обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3.6 – Ассоциация уровней экспрессии генов (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в МКПК у пациентов с РШС с набором массы тела, вызванным приемом антипсихотических препаратов

Исследуемый показатель	Группы пациентов		<i>p-Value</i>
	Набор массы тела $\geq 7\%$ , галоперидол, n=5	Набор массы тела $< 7\%$ , галоперидол, n=42	
<i>DRD1</i>	2,26 (0,04÷7,56)	1,74 (0,15÷12,8)	0,734
<i>DRD2</i>	1,23 (0,28÷3,14)	2,66 (0,31÷6,66)	0,121
<i>DRD4</i>	1,52 (0,14÷6,22)	1,77 (0,23÷8,22)	0,156
<i>DRD5</i>	0,63 (0,27÷1,57)	1,44 (0,34÷8,22)	0,699
<i>ADRa1B</i>	1,96 (0,36÷8,55)	4,56 (0,62÷13,16)	0,286
<i>HRH1</i>	1,94 (0,51÷2,30)	2,52 (0,33÷5,45)	0,427
D1	1,21 (0,43÷1,63)	1,20 (0,44÷1,87)	0,607
D2	0,18 (0,16÷0,29)	0,18 (0,13÷0,23)	0,831
D3	0,23 (0,18÷0,45)	0,14 (0,07÷0,29)	0,459
ADRa1B	1,32 (0,32÷2,45)	1,64 (1,24÷2,9)	0,330
H1	0,81 (0,11÷2,84)	0,47 (0,03÷2,3)	0,400
Конц. дофамина	143,8 (24,0÷213,9)	103,1 (49,5÷184,1)	0,843
	Набор массы тела $\geq 7\%$ , оланзапин, n=14	Набор массы тела $< 7\%$ , оланзапин, n=37	
<i>DRD1</i>	1,09 (0,27÷12,01)	2,41 (0,17÷8,26)	0,514
<i>DRD2</i>	1,58 (0,12÷4,59)	2,24 (0,24÷5,82)	0,231
<i>DRD4</i>	2,26 (0,12÷6,39)	4,21 (0,36÷7,22)	0,426
<i>DRD5</i>	0,87 (0,18÷11,36)	2,34 (0,15÷6,47)	0,631
<i>ADRa1B</i>	3,35 (0,16÷27,86)	5,3 (0,77÷13,68)	0,625
<i>HRH1</i>	1,49 (0,13÷14,01)	2,92 (0,17÷5,43)	0,547
D1	0,65 (0,19÷2,18)	1,03 (0,56÷2,30)	0,670
D2	0,12 (0,19÷0,22)	0,17 (0,14÷0,24)	0,843
D3	0,14 (0,07÷2,35)	0,11 (0,07÷1,32)	0,659
ADRa1B	0,36 (1,64÷1,04)	1,61 (1,06÷2,55)	0,624
H1	1,22 (0,03÷3,88)	2,42 (1,03÷4,77)	0,211
Конц. дофамина	93,2 (38,7÷190,3)	86,6 (44,6÷153,7)	0,673

Таблица 3.7 – Ассоциация уровней экспрессии генов (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в МКПК у пациентов с РШС с развитием акатизии, вызванной приемом антипсихотических препаратов

Исследуемый показатель	Группы пациентов		<i>p-Value</i>
	Наличие акатизии BARS $\geq$ 2, галоперидол, n=9	Отсутствие акатизии BARS<2, галоперидол, n=47	
<i>DRD1</i>	0,91 (0,10÷3,21)	2,06 (0,17÷14,94)	0,285
<i>DRD2</i>	1,06 (0,28÷3,12)	2,89 (0,23÷6,70)	0,186
<i>DRD4</i>	0,99 (0,15÷11,3)	1,60 (0,15÷6,31)	0,930
<i>DRD5</i>	0,77 (0,18÷2,36)	1,58 (0,24÷9,12)	0,391
<i>ADRa1B</i>	0,40 (0,07÷5,51)	4,48 (0,83÷14,04)	0,867
<i>HRH1</i>	0,59 (0,05÷1,85)	3,34 (0,15÷6,56)	0,107
Конц. дофамина	95,0 (51,9÷187,8)	101,2 (19,2÷158,0)	0,834
D1	0,7 (0,51÷1,09)	0,76 (0,27÷1,16)	0,975
D2	0,18 (0,12÷0,31)	0,18 (0,13÷0,2)	0,762
D3	0,12 (0,18÷0,28)	0,17 (0,08÷0,44)	0,984
ADRa1B	0,99 (0,44÷1,53)	1,66 (1,14÷2,76)	0,400
H1	0,43 (0,032÷1,54)	0,60 (0,24÷2,78)	0,429
	Наличие акатизии BARS $\geq$ 2, оланзапин, n=3	Отсутствие акатизии BARS<2, оланзапин, n=53	
<i>DRD1</i>	1,32	2,91 (0,24÷12,04)	0,602
<i>DRD2</i>	3,76	2,14 (0,28÷5,66)	0,483
<i>DRD4</i>	4,20	3,43 (0,29÷9,37)	0,829
<i>DRD5</i>	1,67	2,57 (0,16÷7,79)	0,756
<i>ADRa1B</i>	3,48	6,12 (0,93÷17,5)	0,783
<i>HRH1</i>	2,95	2,72 (0,17÷7,98)	0,896
Конц. дофамина	151,9	88,4 (54,9÷152,1)	0,216
D1	0,72	0,23 (0,7÷2,08)	0,578
D2	0,15	0,18 (0,14÷0,23)	0,593
D3	1,56	0,12 (0,07÷1,10)	0,412
ADRa1B	1,27	1,87 (1,07÷2,59)	0,845
H1	2,27	2,56 (0,92÷4,74)	0,987

Таблица 3.8 – Ассоциация уровней экспрессии генов (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в МКПК у пациентов с РШС с развитием паркинсонизма, вызванного приемом антипсихотических препаратов

Исследуемый показатель	Группы пациентов		<i>p-Value</i>
	Наличие паркинсонизма SAS $\geq$ 3, галоперидол, n=33	Отсутствие паркинсонизма SAS<3, галоперидол, n=23	
<i>DRD1</i>	1,36 (0,19÷9,56)	2,92 (0,18÷14,74)	0,924
<i>DRD2</i>	1,06 (0,28÷3,12)	1,23 (0,12÷5,35)	0,592
<i>DRD4</i>	1,80 (0,20÷8,22)	0,59 (0,08÷3,18)	0,097
<i>DRD5</i>	1,44 (0,36÷7,66)	3,97 (0,38÷9,55)	0,759
<i>ADRa1B</i>	2,17 (0,36÷10,56)	2,49 (0,63÷24,32)	0,867
<i>HRH1</i>	2,10 (0,12÷5,21)	3,10 (0,12÷5,45)	0,683
Конц. дофамина	103,8 (51,4÷190,0)	73,9 (22,1÷140,4)	0,224
D1	0,77 (0,38÷1,30)	0,70 (0,18÷0,79)	0,181
D2	0,18 (0,13÷0,21)	0,18 (0,11÷0,25)	0,447
D3	0,16 (0,08÷0,32)	0,22 (0,12÷0,33)	0,874
ADRa1B	1,43 (0,9÷2,34)	3,01 (1,1÷7,15)	0,153
H1	0,80 (0,14÷2,81)	0,30 (0,03÷1,72)	0,264
	Наличие паркинсонизма SAS $\geq$ 3, оланзапин, n=4	Отсутствие паркинсонизма SAS<3, оланзапин, n=52	
<i>DRD1</i>	2,41 (0,75÷22,01)	2,90 (0,25÷11,7)	0,857
<i>DRD2</i>	1,94 (1,21÷4,89)	2,17 (0,26÷5,66)	0,483
<i>DRD4</i>	5,60 (1,41÷15,9)	2,70 (0,21÷7,9)	0,511
<i>DRD5</i>	2,57 (0,16÷5,51)	2,53 (0,20÷6,57)	0,717
<i>ADRa1B</i>	3,20 (1,16÷14,74)	6,34 (1,52÷17,09)	0,783
<i>HRH1</i>	2,90 (1,35÷5,17)	3,03 (0,46÷7,61)	0,855
Конц. дофамина	59,8 (18,6÷129,0)	94,7 (55,2÷176,3)	0,232
D1	1,36 (0,82÷3,87)	0,70 (0,2÷1,95)	0,422
D2	0,22 (0,15÷5,42)	0,19 (0,13÷0,23)	0,648
D3	1,27 (0,63÷4,32)	0,11 (0,07÷0,93)	0,462
ADRa1B	1,58 (1,02÷2,45)	1,87 (1,07÷2,68)	0,601
H1	2,26 (1,82÷3,89)	2,56 (0,67÷4,60)	0,616

По результатам нашего исследования ассоциаций между изучаемыми характеристиками рецепторов биогенных аминов в МКПК, а также концентрацией дофамина в сыворотке крови пациентов в актуальном психическом состоянии, и развитием лекарственного паркинсонизма не наблюдалось (таблица 3.8).

Таким образом в нашем исследовании не обнаружено доказательств того, что уровни мРНК генов и уровни белка рецепторов в МКПК, а также концентрацию дофамина в сыворотке крови пациентов в актуальном психическом состоянии (до начала лечения) можно использовать в качестве маркеров риска развития нежелательных реакций при проведении антипсихотической терапии.

### 3.3.3. Генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* в ассоциации с безопасностью терапии галоперидолом или оланзапином

Было показано, что набор массы тела, вызванный приемом АП, статистически значимо ассоциируется с носительством генотипа Ins/Ins ( $p=0,032$ ) (таблица 3.9) (Грунина и соавт., 2020).

Ассоциаций носительства генетического варианта -141C Ins/Del гена *DRD2* с формированием паркинсонизма и акатизии на фоне терапии галоперидолом или оланзапином выявлено не было (Грунина и соавт., 2020).

Таблица 3.9 – Изменение массы тела у пациентов на фоне терапии в зависимости от генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2*

Генетический вариант <i>DRD2</i>	Генотип	Пациенты с РШС (n=98)		Статистика
		Набор массы тела <7%, n=80	Набор массы тела ≥7%, n=18	
rs1799732 -141C Ins/Del	Ins Ins n (частота)	62 (0,78)	16 (0,88)	$\chi^2=6,860$ , $p=0,032$
	Ins Del n (частота)	18 (0,22)	1 (0,06)	
	Del Del n (частота)	0 (0,00)	1 (0,06)	

### 3.4. Динамика уровней (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках, а также концентрации дофамина в сыворотке крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра на фоне терапии галоперидолом или оланзапином

Для изучения динамики изменения изучаемых показателей у пациентов с РШС на фоне АП терапии, сравнивали уровень (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов, а также концентрацию дофамина в сыворотке крови до и после начала лечения.

В ходе исследования выявлено, что терапия как галоперидолом, так и оланзапином в течение 28 дней не оказывала значимого влияния на уровни мРНК изучаемых рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС (Насырова и соавт., 2016). Также не выявлено ассоциаций изменения значений уровней мРНК генов изучаемых рецепторов в МКПК с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином ( $p > 0,05$  для групп пациентов, разделенных по эффективности). На рисунке 3.6 показана динамика изменения относительных уровней мРНК генов всех изучаемых рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС до начала и на 28 день терапии галоперидолом или оланзапином. Обобщенные данные по всем изученным показателям представлены ниже в таблице 3.10.

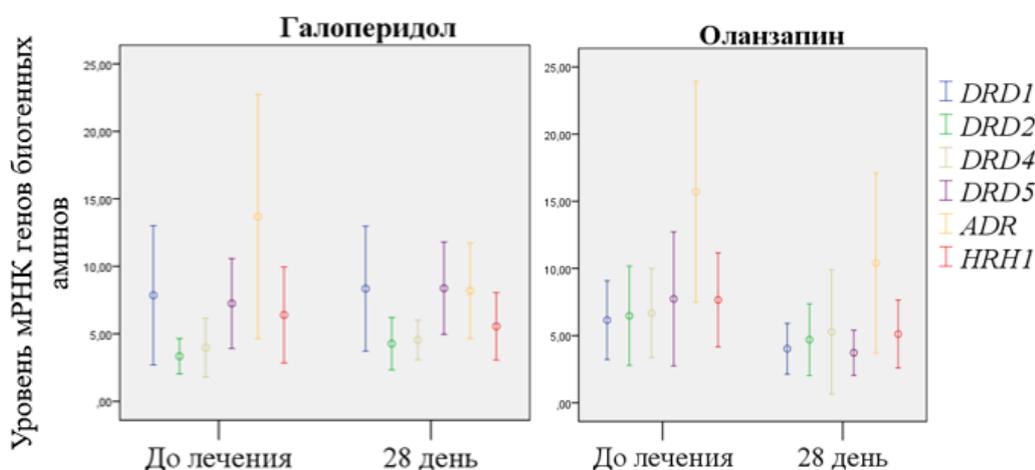


Рисунок 3.6 – Сравнительный анализ уровней мРНК генов всех изучаемых рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС до начала и на 28 день терапии галоперидолом или оланзапином

При оценке динамики изменения уровней белка рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС на фоне терапии было показано, что лечение галоперидолом приводило к снижению уровня дофаминового рецептора D1 в МКПК с 0,76 (0,37÷1,16) до 0,16 (0,02÷0,44),  $p=0,001$ . Отмечено, что в группе пациентов, получавших оланзапин, происходило снижение значений, но без достижения статистически значимых различий: до лечения 0,67 (0,22÷1,01) и после лечения 0,25 (0,05÷0,47),  $p=0,366$  (таблица 3.10) (Тараскина и др., 2018). Полученные результаты согласуются с основной теорией о механизме воздействия типичных антипсихотических препаратов (галоперидола), как блокаторах дофаминовых рецепторов (Kaag et al., 2019). При этом, можно говорить о том, что изменение значений уровня рецептора не ассоциировано с эффективностью терапии, т.е. снижение уровня дофаминового рецептора D1 в МКПК происходит как в группе эффективной терапии галоперидолом (0,79 (0,28÷1,15) до начала лечения по сравнению с 0,12 (0,008÷0,34) через 28 дней,  $p=0,007$ ), так и в группе малоэффективной терапии галоперидолом (0,75 (0,48÷1,18) до начала лечения по сравнению с 0,10 (0,015÷0,35) через 28 дней,  $p=0,025$ ), рисунок 3.7 (Насырова и соавт., 2016; Заботина и соавт., 2022).

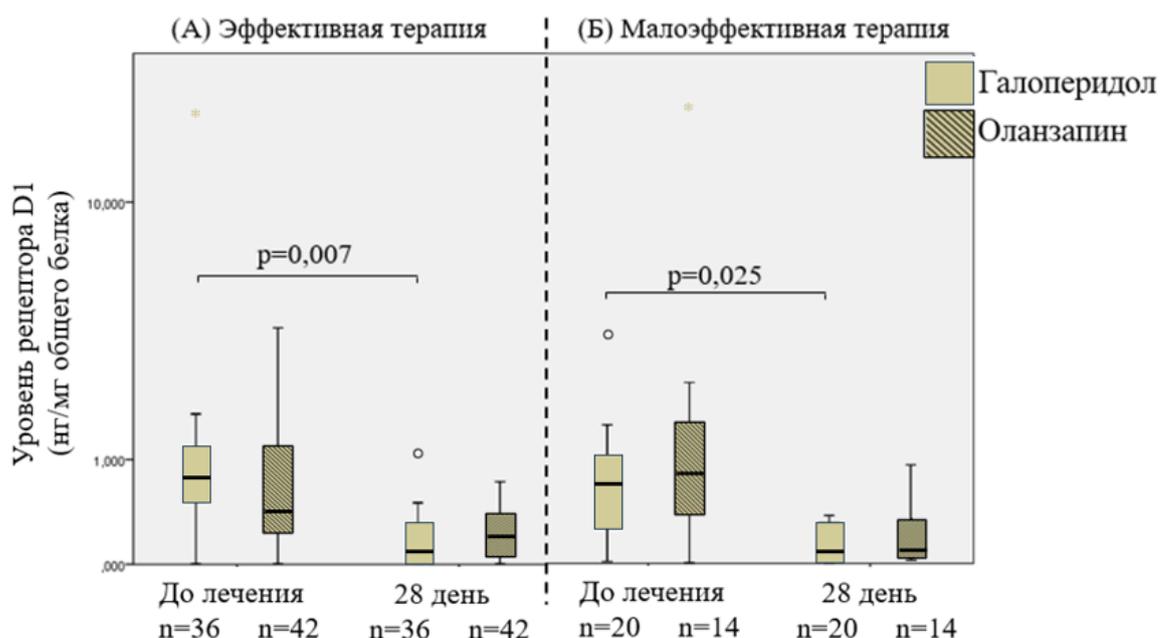


Рисунок 3.7 – Уровень белка дофаминового рецептора D1 в мононуклеарных клетках пациентов с РШС в зависимости от эффективности терапии

Также была проанализирована динамика снижения уровня белка рецептора D1 путем вычитания у каждого пациента из значений уровня белка в первой точке исследования (C1) значений уровня белка через 28 дней терапии (C2):  $C_{\text{delta}}=C1-C2$ . Обнаружена положительная корреляция между уровнем белка рецептора D1 до терапии (C1) и изменением уровня белка через 28 дней лечения ( $C_{\text{delta}}$ ): терапия галоперидолом –  $r=0,679$ ,  $p=0,005$ ; оланзапином –  $r=0,748$ ,  $p=0,005$  (критерий Спирмена) (Заботина и др., 2022).

При изучении изменения концентрации дофамина в крови пациентов при приеме АП выявлено статистически значимое снижение уровня дофамина в сыворотке крови пациентов с эффективным ответом на терапию оланзапином при сравнении значений до начала лечения и через 28 дней (с  $94,7$  ( $60,0 \div 153,4$ ) до  $75,6$  ( $32,7 \div 152,1$ ),  $p=0,034$ ) (рисунок 3.8 А). У остальных пациентов, по усредненным данным, к 14-му дню наблюдалось снижение уровня дофамина в сыворотке крови, что свидетельствует о положительном ответе на терапию, однако к 28 дню терапии уровень дофамина снова повышался (рисунок 3.8 Б) (таблица 3.10) (Taraskina et al., 2017). В таблице 3.10 представлены обобщенные данные по влиянию галоперидола и оланзапина на изученные в настоящем исследовании показатели.

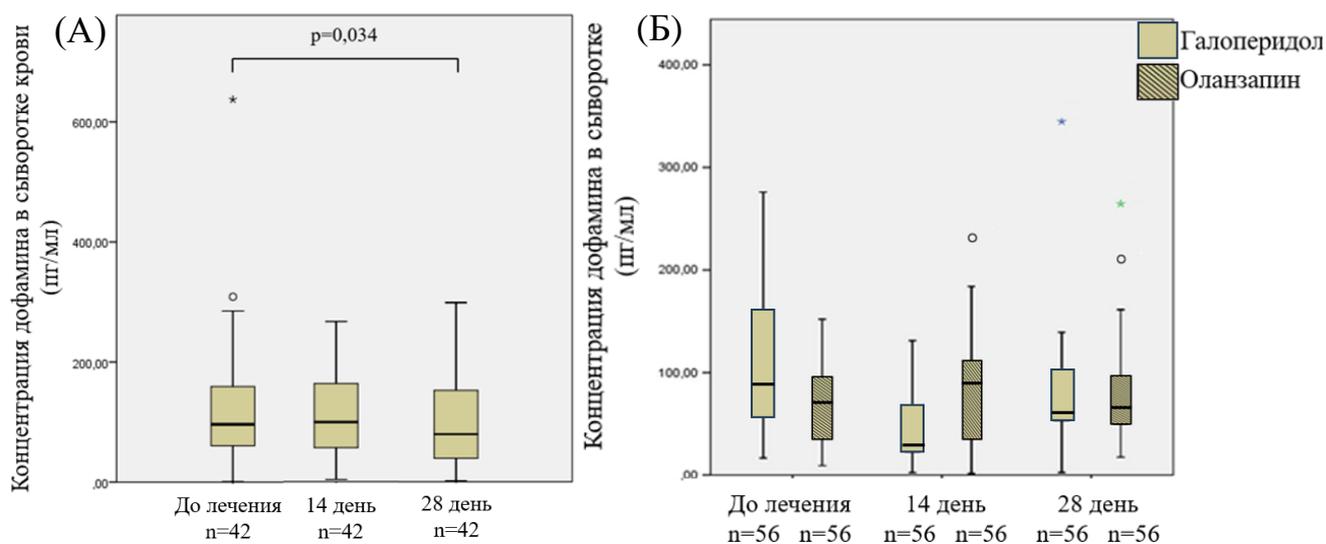


Рисунок 3.8 – Динамика концентрации дофамина в сыворотке крови пациентов (А) в группе с эффективной терапией оланзапином, (Б) в общей группе на фоне терапии галоперидолом или оланзапином

Таблица 3.10 – Динамика уровней рецепторов (мРНК, белок) биогенных аминов в мононуклеарных клетках, а также концентрации дофамина в сыворотке крови пациентов на фоне терапии галоперидолом или оланзапином

Изучаемый показатель	Группы пациентов		<i>p-Value</i>
	До начала терапии, галоперидол, n=56	28 день терапии, галоперидол, n=56	
<i>DRD1</i>	1,41 (0,15÷10,61)	3,20 (0,23÷12,40)	0,194
<i>DRD2</i>	1,71 (0,20÷5,97)	2,08 (0,31÷6,08)	0,879
<i>DRD4</i>	1,56 (0,14÷5,57)	3,78 (1,18÷7,25)	0,228
<i>DRD5</i>	1,25 (0,22÷8,09)	3,75 (0,92÷10,39)	0,241
<i>ADRa1B</i>	3,38 (0,36÷11,18)	4,38 (0,57÷13,27)	0,719
<i>HRH1</i>	1,77 (0,16÷5,18)	1,52 (0,23÷6,55)	0,675
D1	0,76 (0,37÷1,16)	0,16 (0,22÷1,01)	0,001*
D2	0,18 (0,13÷0,20)	0,10 (0,14÷0,18)	0,674
D3	0,18 (0,09÷0,32)	0,13 (0,05÷0,20)	0,089
ADRa1B	1,54 (0,88÷2,76)	1,82 (0,98÷3,43)	0,903
H1	0,60 (0,04÷2,70)	0,33 (0,03÷3,50)	0,715
Конц. дофамина	101,2 (42,25÷184,1)	83,5 (48,7÷186,1)	0,978
	До начала терапии, оланзапин, n=56	28 день терапии, оланзапин, n=56	
<i>DRD1</i>	1,89 (0,24÷8,31)	0,81 (0,20÷5,10)	0,158
<i>DRD2</i>	1,89 (0,22÷5,59)	1,23 (0,07÷3,53)	0,333
<i>DRD4</i>	3,43 (0,20÷8,11)	1,99 (0,12÷5,39)	0,261
<i>DRD5</i>	2,30 (0,16÷6,54)	1,07 (0,19÷4,16)	0,046
<i>ADRa1B</i>	4,76 (0,39÷17,0)	2,62 (0,12÷11,3)	0,068
<i>HRH1</i>	2,72 (0,20÷8,13)	0,78 (0,08÷5,26)	0,092
D1	0,67 (0,22÷1,01)	0,25 (0,05÷0,47)	0,366
D2	0,18 (0,13÷0,23)	0,17 (0,13÷0,18)	0,866
D3	0,13 (0,07÷1,18)	0,11 (0,06÷0,18)	0,056
ADRa1B	1,87 (1,05÷2,68)	1,27 (0,90÷1,60)	0,231
H1	2,27 (0,95÷4,06)	0,43 (0,04÷5,08)	0,273
Конц. дофамина	89,7 (53,62÷153,8)	70,1 (39,0÷150,6)	0,135

\*p-value &lt;0,05

Также необходимо отметить, что при изучении показателей рецепторов биогенных аминов в МКПК и концентрации дофамина в сыворотке пациентов на 28 день лечения, обнаружены следующие ассоциации с развитием лекарственного паркинсонизма. Диагноз лекарственный паркинсонизм поставлен 66% пациентов через 28 дней приема галоперидола, и 9% пациентов через 28 дней приема оланзапина. Выявлено, что развитие лекарственного паркинсонизма на 28 день приема галоперидола в группе малоэффективной терапии (n=20) статистически значимо связано со снижением уровня дофаминового рецептора D1 ( $p = 0,025$ ), рисунок 3.9, медианные значения до лечения и на 28 день: 0,71 (0,29÷1,38) и 0,07 (0,01÷0,27), соответственно. В группе пациентов с эффективной терапией такой ассоциации не прослеживается ( $p = 0,317$ , n=36) (Заботина и соавт., 2022).

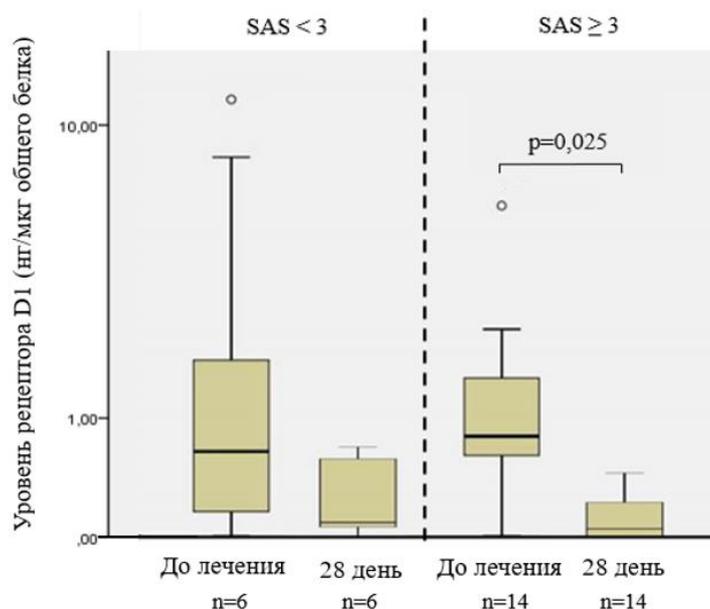


Рисунок 3.9 – Снижение уровня рецептора D1 у пациентов в группе малоэффективной терапии галоперидолом. SAS<3 – отсутствие паркинсонизма; SAS≥3 – наличие паркинсонизма

Кроме того, в группе эффективной терапии оланзапином и без симптомов паркинсонизма уровень мРНК гена *ADRa1B* снижался на 28 день лечения по сравнению с уровнем до начала лечения (0 день: 5,8 (0,22÷15,87); 28 день: 1,6 (0,11÷6,73),  $p = 0,006$ , n=27), (рисунок 3.10). Ассоциаций между уровнем

экспрессии (мРНК, белок) остальных изучаемых рецепторов и развитием паркинсонизма при антипсихотической терапии не выявлено, также не обнаружено ассоциаций между уровнем экспрессии рецепторов и развитием акатизии и набора массы у пациентов с РШС после получения терапии.

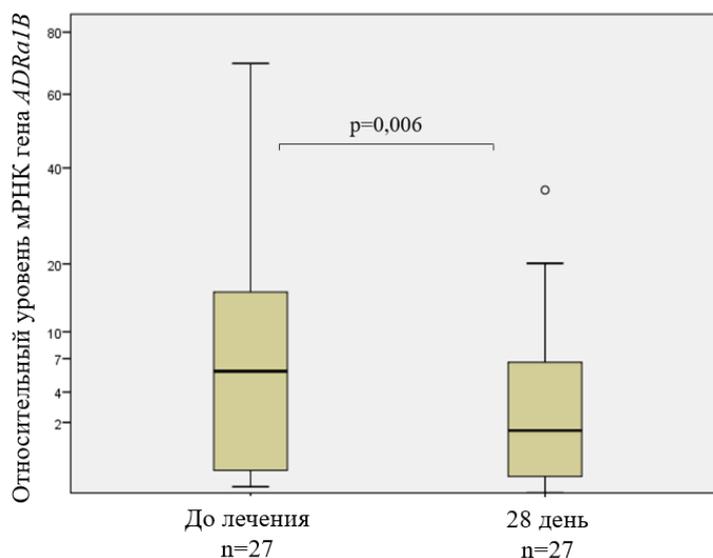


Рисунок 3.10 – Уровень мРНК гена *ADRa1B* в МКПК пациентов с РШС в группе эффективной терапии без симптомов паркинсонизма на фоне лечения оланзапином

Нами показано, что проявление экстрапирамидных симптомов на 28 день лечения положительно коррелирует с уровнем дофамина в сыворотке крови пациентов группы малоэффективной терапии оланзапином ( $r=0,609$ ,  $p=0,025$ , корреляционный тест Спирмена) (Taraskina et al., 2017), что может являться дополнительным маркером безопасности антипсихотической терапии (таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Корреляция уровня дофамина в сыворотке крови с баллами шкалы экстрапирамидных симптомов (SAS) у пациентов с РШС при приеме галоперидола или оланзапина

Уровень дофамина (пг/мл) Шкала SAS	До лечения	14 день	28 день	До лечения	14 день	28 день
Эффективная терапия	Галопердол			Оланзапин		
До лечения	0,041	-0,270	-0,275	-0,008	-0,146	0,012
14 день	-0,082	0,127	0,298	-0,146	-0,118	-0,128
28 день	-0,275	-0,319	0,298	0,012	-0,024	-0,094
Малоэффективная терапия	Галопердол			Оланзапин		
До лечения	-0,397	0,397	0,408	-0,463	0,506	-0,051
14 день	-0,188	0,088	0,196	0,323	0,095	-0,104
28 день	-0,083	0,141	0,499	-0,280	0,230	0,609*

\*p-value <0,05

### 3.5. Корреляция уровней (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра

Нами выявлена статистически значимая корреляция уровней мРНК всех изучаемых генов рецепторов биогенных аминов в МКПК между собой с коэффициентом корреляции  $r$  более 0,6 ( $p < 0,01$ ) (таблицы 3.12 и 3.13), таким образом при увеличении экспрессии одного гена пропорционально увеличивался уровень экспрессии другого, и наоборот (Насырова и соавт., 2016). На рисунке 3.11 представлены в качестве примера графики положительной корреляция между уровнями мРНК *DRD2* и *DRD5* на 28 день приема пациентами галоперидола ( $r=0,926$ ,  $p=0,001$ ) и оланзапина ( $r = 0,919$ ,  $p=0,001$ ) (критерий Спирмена) (Taraskina et al., 2017).

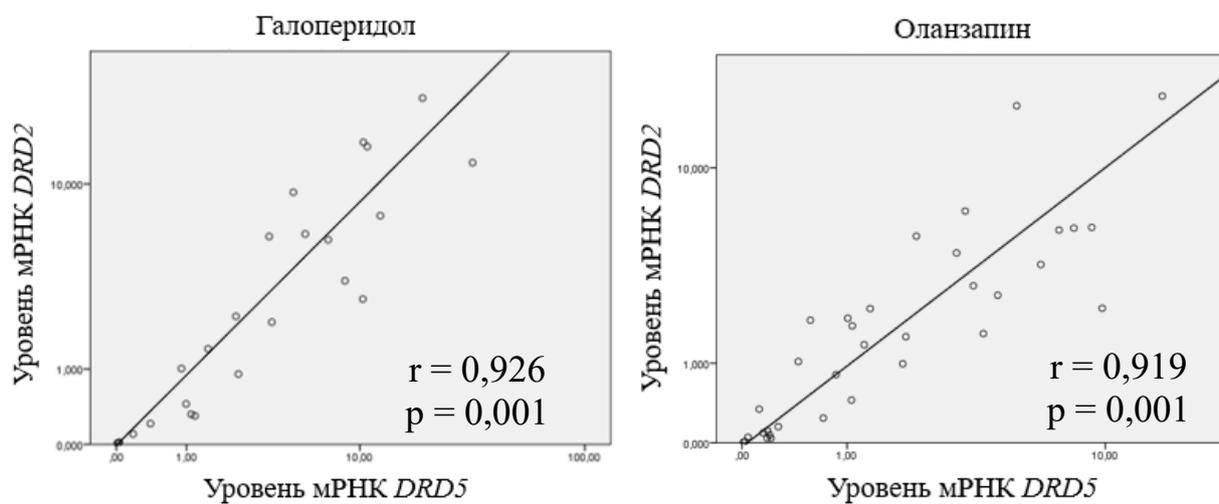


Рисунок 3.11 – Корреляция между уровнями мРНК генов *DRD2* и *DRD5* у пациентов на 28 день приема галоперидола или оланзапина

Таблица 3.12 – Корреляция уровней мРНК генов рецепторов в группе пациентов, принимавших галоперидол

	Эффективная терапия (снижение шкалы PANSS $\geq 20$ %)						Малоэффективная терапия (снижение шкалы PANSS $< 20$ %)					
	<i>DRD1</i>	<i>DRD2</i>	<i>DRD4</i>	<i>DRD5</i>	<i>ADRa1B</i>	<i>HRH1</i>	<i>DRD1</i>	<i>DRD2</i>	<i>DRD4</i>	<i>DRD5</i>	<i>ADRa1B</i>	<i>HRH1</i>
До начала лечения												
<i>DRD1</i>	1,000						1,000					
<i>DRD2</i>	0,905**	1,000					0,880**	1,000				
<i>DRD4</i>	0,889**	0,947**	1,000				0,635*	0,670**	1,000			
<i>DRD5</i>	0,851**	0,938**	0,921**	1,000			0,934**	0,831**	0,883**	1,000		
<i>ADRa1B</i>	0,663**	0,899**	0,623**	0,690**	1,000		0,952**	0,783**	0,476	0,994**	1,000	
<i>HRH1</i>	0,688**	0,934**	0,720**	0,885**	0,911**	1,000	0,872**	0,890**	0,631*	0,902**	0,876**	1,000
28 день												
<i>DRD1</i>	1,000						1,000					
<i>DRD2</i>	0,600*	1,000					0,841**	1,000				
<i>DRD4</i>	0,302	0,673**	1,000				0,780**	0,891**	1,000			
<i>DRD5</i>	0,007	0,926**	0,636*	1,000			0,976**	0,945**	0,909**	1,000		
<i>ADRa1B</i>	0,205	0,717*	0,549*	0,855**	1,000		0,817**	0,976**	0,830**	0,943**	1,000	
<i>HRH1</i>	0,689*	0,728**	0,690**	0,861**	0,646**	1,000	0,500*	0,914**	0,806**	0,945**	0,758*	1,000

\*\*p-value&lt;0,01, \*p-value&lt;0,05

Таблица 3.13 – Корреляция уровней мРНК генов рецепторов в группе пациентов, принимавших оланзапин

	Эффективная терапия (снижение шкалы PANSS $\geq 20$ %)						Малозффективная терапия (снижение шкалы PANSS $< 20$ %)					
	<i>DRD1</i>	<i>DRD2</i>	<i>DRD4</i>	<i>DRD5</i>	<i>ADRa1B</i>	<i>HRH1</i>	<i>DRD1</i>	<i>DRD2</i>	<i>DRD4</i>	<i>DRD5</i>	<i>ADRa1B</i>	<i>HRH1</i>
До начала лечения												
<i>DRD1</i>	1,000						1,000					
<i>DRD2</i>	0,935**	1,000					0,958**	1,000				
<i>DRD4</i>	0,894**	0,891**	1,000				0,770**	0,811**	1,000			
<i>DRD5</i>	0,924**	0,921**	0,881**	1,000			0,857*	0,850**	0,536*	1,000		
<i>ADRa1B</i>	0,848**	0,674**	0,912**	0,718**	1,000		0,972**	0,965**	0,720**	0,850**	1,000	
<i>HRH1</i>	0,926**	0,929**	0,898**	0,881**	0,736**	1,000	0,927**	0,923**	0,627*	0,738*	0,956**	1,000
28 день												
<i>DRD1</i>	1,000						1,000					
<i>DRD2</i>	0,932**	1,000					0,893**	1,000				
<i>DRD4</i>	0,833**	0,872**	1,000				0,806**	0,886**	1,000			
<i>DRD5</i>	0,849**	0,919**	0,880**	1,000			0,979**	0,939**	0,731*	1,000		
<i>ADRa1B</i>	0,886**	0,909**	0,929**	0,919**	1,000		0,984**	0,859**	0,816**	0,988**	1,000	
<i>HRH1</i>	0,904**	0,900**	0,904**	0,863**	0,950**	1,000	0,949**	0,877**	0,802*	0,952**	0,943**	1,000

\*\*p-value&lt;0,01, \*p-value&lt;0,05

Кроме того, нами показаны значимые корреляции между показателями уровней белка изучаемых рецепторов до начала терапии ( $r > 0,4$ ,  $p \leq 0,05$ ) (таблица 3.14), при этом корреляция к 28-му дню сохранялась в группе пациентов, получавших галоперидол, для рецепторов D1 и D3 ( $r = 0,528$ ,  $p = 0,011$ ) и для пар рецепторов D1/ADRa1B и D3/ADRa1B (D1/ADRa1B:  $r = -0,599$ ,  $p = 0,040$ ; D3/ADRa1B:  $r = -0,464$ ,  $p = 0,030$ ).

Таблица 3.14 – Корреляция уровней белка изучаемых рецепторов

	D1	D2	D3	ADRa1B	H1
До начала лечения					
D1	1,000				
D2	0,429*	1,000			
D3	0,767**	0,278*	1,000		
ADRa1B	-0,509**	-0,126	-0,197	1,000	
H1	0,471**	0,505**	0,282	-0,210	1,000
28 день терапии галоперидолом					
D1	1,000				
D2	0,406	1,000			
D3	0,528*	0,367	1,000		
ADRa1B	-0,599**	-0,310	-0,464*	1,000	
H1	0,090	0,143	0,775*	-0,103	1,000
28 день терапии оланзапином					
D1	1,000				
D2	0,714	1,000			
D3	0,583	0,464	1,000		
ADRa1B	-0,250	-0,600	-0,015	1,000	
H1	0,086	0,600	0,886*	0,100	1,000

\*\*p-value<0,01, \*p-value<0,05

### **3.6. Культивирование *in vitro* мононуклеарных клеток периферической крови пациентов с расстройствами шизофренического спектра в присутствии галоперидола или оланзапина**

#### **3.6.1. Уровни мРНК генов *DRD1, DRD2, DRD4, DRD5, ADRa1B* и *HRH1* в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра при культивировании *in vitro* в присутствии галоперидола или оланзапина**

В настоящем исследовании было проведено культивирование МКПК в течение 72 часов *in vitro* в присутствии соответствующего АП галоперидола или оланзапина (на 1 мл среды добавляли 0,8 или 0,25 мкг соответственно), а также, в качестве контроля, культивирование МКПК осуществляли без добавления АП. Оценку уровней мРНК изучаемых генов осуществляли после культивирования и сопоставляли с уровнем экспрессии до лечения пациентов (уровень мРНК в МКПК без культивирования). Показано, что воздействие как галоперидолом, так и оланзапином приводило к статистически значимому изменению уровней мРНК изучаемых генов в культуре МКПК пациентов ( $p < 0,05$ ) (таблица 3.15). При культивировании МКПК *in vitro* без воздействия АП (контроль) не обнаружено значимого изменения профиля экспрессии изучаемых генов по сравнению с уровнем без культивирования ( $p > 0,05$ ) (Grunina et al., 2019).

Таблица 3.15 – Влияние галоперидола и оланзапина на уровни мРНК генов рецепторов в МКПК пациентов при культивировании *in vitro*

Ген	Без культивирования	После культивирования	<i>p-Value</i>
Галоперидол, n=56			
<i>DRD1</i>	1,41 (0,15÷10,61)	1,05 (0,53÷5,67)	0,039*
<i>DRD2</i>	1,71 (0,20÷5,97)	2,19 (0,70÷11,43)	0,001*
<i>DRD4</i>	1,56 (0,15÷5,57)	6,65 (0,83÷12,23)	0,0001*
<i>DRD5</i>	1,25 (0,22÷8,09)	0,85 (0,41÷1,75)	0,197
<i>ADRA1B</i>	3,38 (0,36÷11,18)	8,68 (1,47÷38,5)	0,0001*
<i>HRH1</i>	1,77 (0,16÷5,18)	1,71 (0,64÷6,52)	0,169
Оланзапин, n=56			
<i>DRD1</i>	1,89 (0,24÷8,31)	4,23 (0,8÷9,16)	0,102
<i>DRD2</i>	1,89 (0,22÷5,59)	3,32 (1,64÷8,38)	0,480
<i>DRD4</i>	3,43 (0,20÷8,11)	7,73 (3,63÷12,8)	0,002*
<i>DRD5</i>	2,30 (0,16÷6,54)	5,86 (2,33÷11,16)	0,028*
<i>ADRA1B</i>	4,76 (0,39÷17,0)	9,32 (4,17÷24,93)	0,003*
<i>HRH1</i>	2,72 (0,20÷8,13)	3,63 (1,86÷6,16)	0,194

\*p-value<0,05

### 3.6.2. Ассоциация уровней мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRA1B* и *HRH1* в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра при культивировании *in vitro* с эффективностью терапии галоперидолом или оланзапином

В ходе культивирования МКПК как галоперидолом, так и оланзапином, выявлено значимое повышение значений уровня мРНК генов в группе пациентов с малоэффективной терапией при сравнении с уровнем без культивирования. При этом у пациентов с эффективной терапией значения оставались почти неизменными (таблицы 3.16 и 3.17). Таким образом, при культивировании МКПК в присутствии галоперидола или оланзапина обнаружены значимые различия в уровне экспрессии генов рецепторов биогенных аминов у пациентов, различающихся по ответу на лечение.

Таблица 3.16 – Уровни мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов без культивирования и через 72 часа культивирования с галоперидолом

Ген	Без культивирования	После культивирования	<i>p-Value</i>
Эффективная терапия, n=36			
<i>DRD1</i>	1,09 (0,72÷2,57)	1,14 (0,24÷6,05)	0,058
<i>DRD2</i>	1,06 (0,28÷3,12)	1,40 (0,54÷9,10)	0,078
<i>DRD4</i>	0,68 (0,13÷2,37)	5,03 (0,47÷7,36)	0,013*
<i>DRD5</i>	1,44 (0,22÷8,50)	0,99 (0,41÷8,30)	0,910
<i>ADRa1B</i>	2,17 (0,36÷10,56)	4,66 (1,34÷36,85)	0,078
<i>HRH1</i>	1,27 (0,16÷3,96)	3,71 (0,86÷26,01)	0,071
Малоэффективная терапия, n=20			
<i>DRD1</i>	2,92 (0,18÷14,74)	1,05 (0,95÷9,03)	0,317
<i>DRD2</i>	1,23 (0,12÷5,35)	4,75 (0,59÷10,90)	0,004*
<i>DRD4</i>	1,83 (0,38÷8,12)	8,18 (1,64÷12,49)	0,001*
<i>DRD5</i>	4,68 (0,54÷9,78)	4,07 (1,47÷13,20)	0,074
<i>ADRa1B</i>	4,68 (0,63÷10,32)	10,69 (1,71÷86,71)	0,002*
<i>HRH1</i>	2,36 (0,22÷5,63)	6,49 (1,10÷18,47)	0,002*

\*p-value<0,05

Таблица 3.17 – Уровни мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов без культивирования и через 72 часа культивирования с оланзапином.

Ген	Без культивирования	После культивирования	<i>p-Value</i>
Эффективная терапия, n=42			
<i>DRD1</i>	1,09 (0,14÷5,90)	4,17 (0,61÷8,80)	0,251
<i>DRD2</i>	1,11 (0,18÷4,72)	2,91 (1,06÷6,75)	0,297
<i>DRD4</i>	1,39 (0,14÷7,86)	7,73 (3,83÷11,51)	0,162
<i>DRD5</i>	0,52 (0,14÷5,51)	4,26 (1,24÷9,71)	0,133
<i>ADRa1B</i>	3,10 (0,15÷14,74)	7,04 (2,01÷21,80)	0,201
<i>HRH1</i>	1,77 (0,12÷6,34)	4,0 (1,03÷6,15)	0,480
Малоэффективная терапия, n=14			
<i>DRD1</i>	3,15 (1,34÷16,10)	19,56 (1,56÷41,67)	0,180
<i>DRD2</i>	4,53 (1,46÷12,05)	6,36 (1,93÷29,32)	0,739
<i>DRD4</i>	3,81 (0,87÷10,66)	8,88 (2,31÷13,93)	0,007*
<i>DRD5</i>	4,57 (2,25÷10,56)	10,20 (3,20÷29,80)	0,173
<i>ADRa1B</i>	6,12 (1,94÷24,35)	25,81 (7,52÷73,01)	0,001*
<i>HRH1</i>	4,78 (2,55÷11,30)	13,65 (4,14÷45,2)	0,017*

\*p-value<0,05

Динамика уровня мРНК генов в МКПК пациентов с различным ответом на прием АП, показана на примере гена *ADRa1B* на рисунке 3.12, отражающем уровень мРНК гена без культивирования, через 72 часа культивирования без АП (контроль) и через 72 часа культивирования в присутствии АП. Уровень мРНК гена *ADRa1B* достоверно повышался у пациентов в группе малоэффективной терапии оланзапином (с 6,12 (1,94÷24,35) до 25,81 (7,52÷73,01),  $p=0,001$ ). На рисунке 3.12 также показан повышенный уровень мРНК гена *ADRa1B* после культивирования в присутствии оланзапина в группе малоэффективной терапии (25,81 (7,52÷73,01) по сравнению с группой эффективной терапии (7,04 (2,01÷21,80),  $p=0,016$  (Grunina et al., 2019).

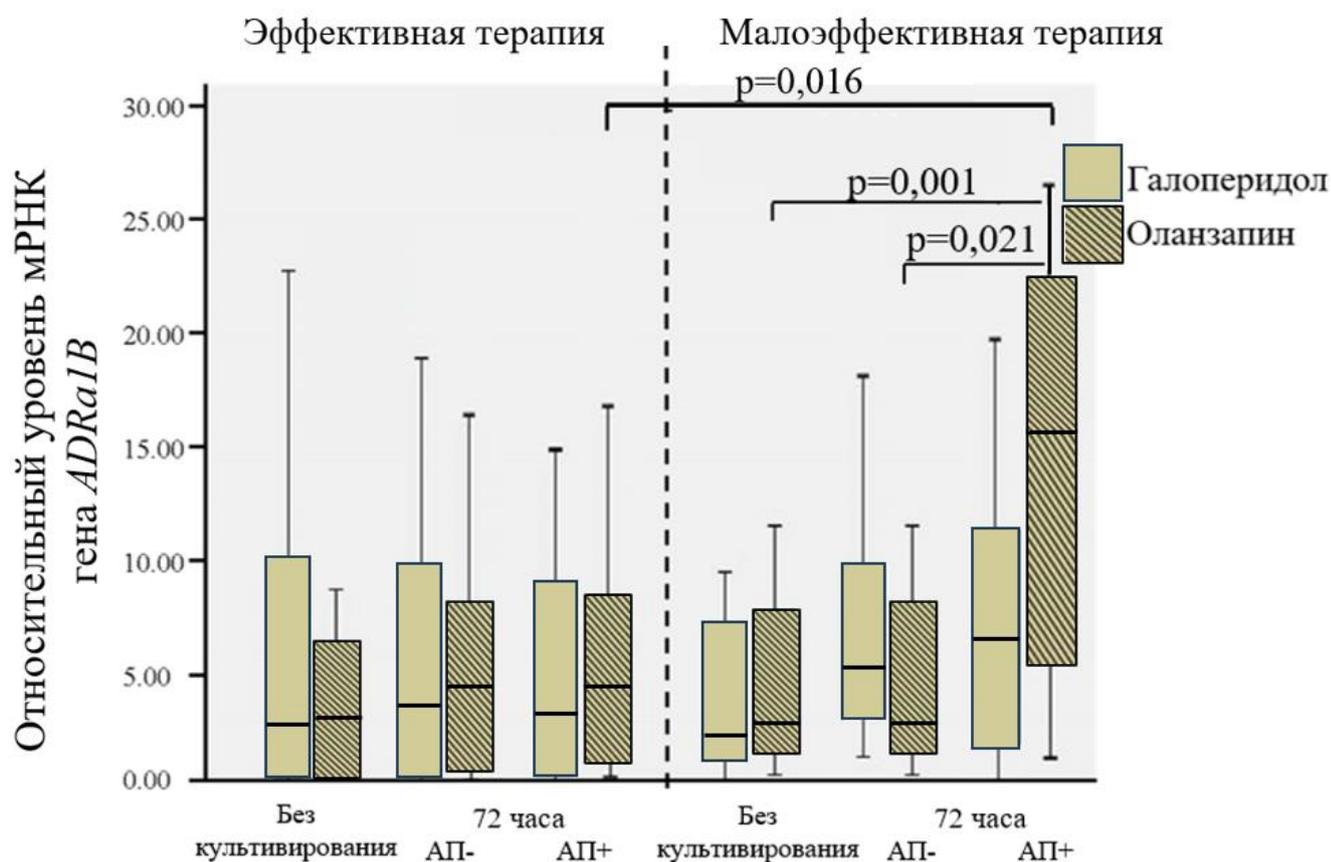


Рисунок 3.12 – Динамика уровня мРНК гена *ADRa1B* в МКПК пациентов с различным ответом на лечение галоперидолом или оланзапином при культивировании *in vitro* в течение 72 часов. «АП-» – МКПК, культивируемые без воздействия антипсихотического препарата; «АП+» – МКПК, культивируемые в присутствии антипсихотического препарата

Таблица 3.18 – Уровни мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК после культивирования *in vitro* у пациентов с РШС с различным по эффективности ответом на терапию

Ген	Эффективная терапия, галоперидол, n=36	Малоэффективная терапия, галоперидол, n=20	<i>p-Value</i>
<i>DRD1</i>	1,14 (0,24÷6,05)	1,05 (0,95÷9,03)	0,477
<i>DRD2</i>	1,22 (0,75÷11,14)	4,75 (0,59÷10,90)	0,716
<i>DRD4</i>	2,13 (0,12÷7,46)	9,25 (1,49÷12,82)	0,081
<i>DRD5</i>	0,65 (0,36÷1,06)	1,75 (0,54÷15,87)	0,099
<i>ADRA1B</i>	4,66 (1,34÷36,85)	10,69 (1,71÷86,71)	0,621
<i>HRH1</i>	1,15 (0,52÷6,06)	4,21 (0,65÷7,35)	0,656
	Эффективная терапия, оланзапин, n=42	Малоэффективная терапия, оланзапин, n=14	
<i>DRD1</i>	4,17 (0,61÷8,80)	19,56 (1,56÷41,67)	0,113
<i>DRD2</i>	3,32 (1,55÷7,05)	6,36 (1,93÷29,32)	0,323
<i>DRD4</i>	7,73 (4,03÷11,71)	8,88 (2,31÷13,93)	0,828
<i>DRD5</i>	4,92 (1,51÷9,65)	11,0 (4,76÷48,50)	0,068
<i>ADRA1B</i>	7,04 (2,01÷21,80)	25,81 (7,52÷73,01)	0,016*
<i>HRH1</i>	3,58 (1,65÷5,82)	13,65 (3,50÷48,30)	0,035*

\*p-value<0,05

Наибольшая достоверность различий показана для генов *ADRA1B* и *HRH1* после культивирования МКПК в присутствии оланзапина между группами пациентов с эффективной и малоэффективной терапией ( $p=0,016$  и  $p=0,035$ , соответственно) (таблица 3.18). При эффективной терапии оланзапином показатели для *ADRA1B* и *HRH1* составили 7,04 (2,01÷21,80) и 4,0 (1,03÷6,15), в случае малоэффективной – 25,81 (7,52÷73,01) и 13,65 (3,50÷48,30) соответственно (рисунок 3.13). При этом для гена *ADRA1B* уровень мРНК у пациентов с эффективной терапией и малоэффективной терапией различался в 4,6 раза, а для гена *HRH1* в 3,6 раза.

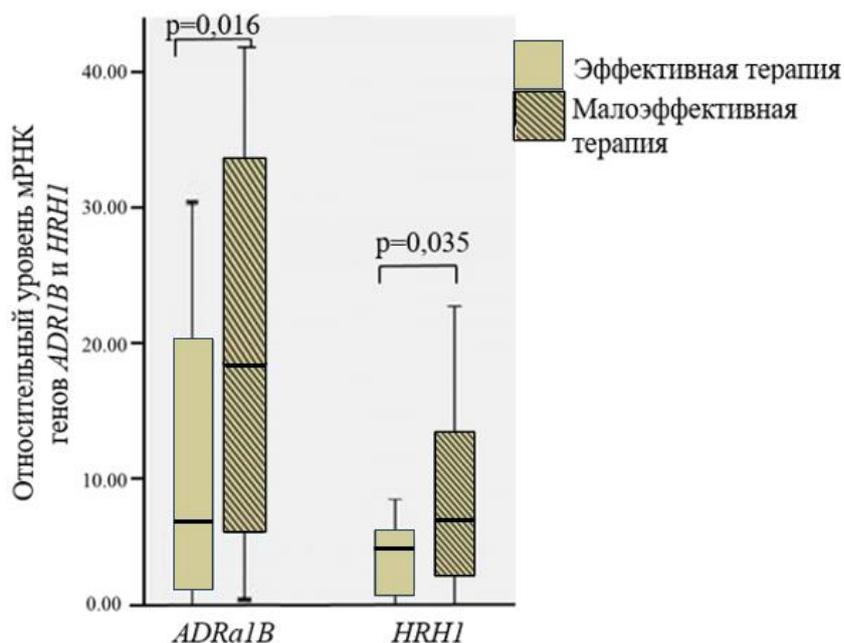


Рисунок 3.13 – Уровни мРНК генов *ADRA1B* и *HRH1* в МКПК, культивируемых под воздействием оланзапина в группах с различным по эффективности ответом на терапию

Таким образом, в настоящем исследовании продемонстрировано, что уровни мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК, культивируемых *in vitro* в присутствии АП, может быть предложен в качестве маркера прогноза фармакотерапии пациентов с РШС.

В культивируемых МКПК также наблюдалась корреляции экспрессии исследуемых генов (таблица 3.19).

Таблица 3.19 – Корреляция уровня мРНК генов в МКПК при культивировании *in vitro*

	Эффективная терапия (снижение шкалы PANSS $\geq 20\%$ )						Малозффективная терапия (редукция шкалы PANSS $< 20\%$ )					
	<i>DRD1</i>	<i>DRD2</i>	<i>DRD4</i>	<i>DRD5</i>	<i>ADRa1B</i>	<i>HRH1</i>	<i>DRD1</i>	<i>DRD2</i>	<i>DRD4</i>	<i>DRD5</i>	<i>ADRa1B</i>	<i>HRH1</i>
Галоперидол												
<i>DRD1</i>	1,000						1,000					
<i>DRD2</i>	0,794**	1,000					0,750*	1,000				
<i>DRD4</i>	0,952**	0,556*	1,000				0,571	0,891**	1,000			
<i>DRD5</i>	0,617	0,709*	0,600	1,000			0,400	0,980**	0,975**	1,000		
<i>ADRa1B</i>	0,888**	0,865**	0,445	0,905**	1,000		0,900*	0,929**	0,717*	0,960**	1,000	
<i>HRH1</i>	0,901*	0,933**	0,895**	0,733*	0,905**	1,000	0,717*	0,955**	0,855**	0,900*	0,857*	1,000
Оланзапин												
<i>DRD1</i>	1,000						1,000					
<i>DRD2</i>	0,645**	1,000					0,800	1,000				
<i>DRD4</i>	0,768**	0,724**	1,000				0,700	0,905**	1,000			
<i>DRD5</i>	0,800**	0,746**	0,753**	1,000			0,949	0,975**	0,493	1,000		
<i>ADRa1B</i>	0,787**	0,689*	0,838*	0,811**	1,000		0,900*	0,950**	0,685*	0,955**	1,000	
<i>HRH1</i>	0,727**	0,845**	0,815**	0,835**	0,646**	1,000	0,980**	0,943**	0,893**	0,900*	0,929**	1,000

\*\*p-value  $< 0,01$ , \*p-value  $< 0,05$

Исходя из приведенных выше данных, можно резюмировать, что лечение как галоперидолом, так и оланзапином в течение 28 дней не оказывала значимого влияния на уровни мРНК изучаемых рецепторов в МКПК пациентов с РШС (Насырова и соавт., 2016). Однако, мы видим, что изменение уровней мРНК генов биогенных рецепторов, происходящее в культуре в зависимости от применяемого препарата и ответа пациента на применяемый препарат, может служить предиктором эффективности терапии (Grunina et al., 2019).

На рисунке 3.14 показаны обобщенные данные уровней мРНК для всех генов рецепторов, измеренных в МКПК пациентов с РШС с различным по эффективности ответом на терапию до начала лечения, при культивировании *in vitro* и на 28 день терапии галоперидолом или оланзапином.

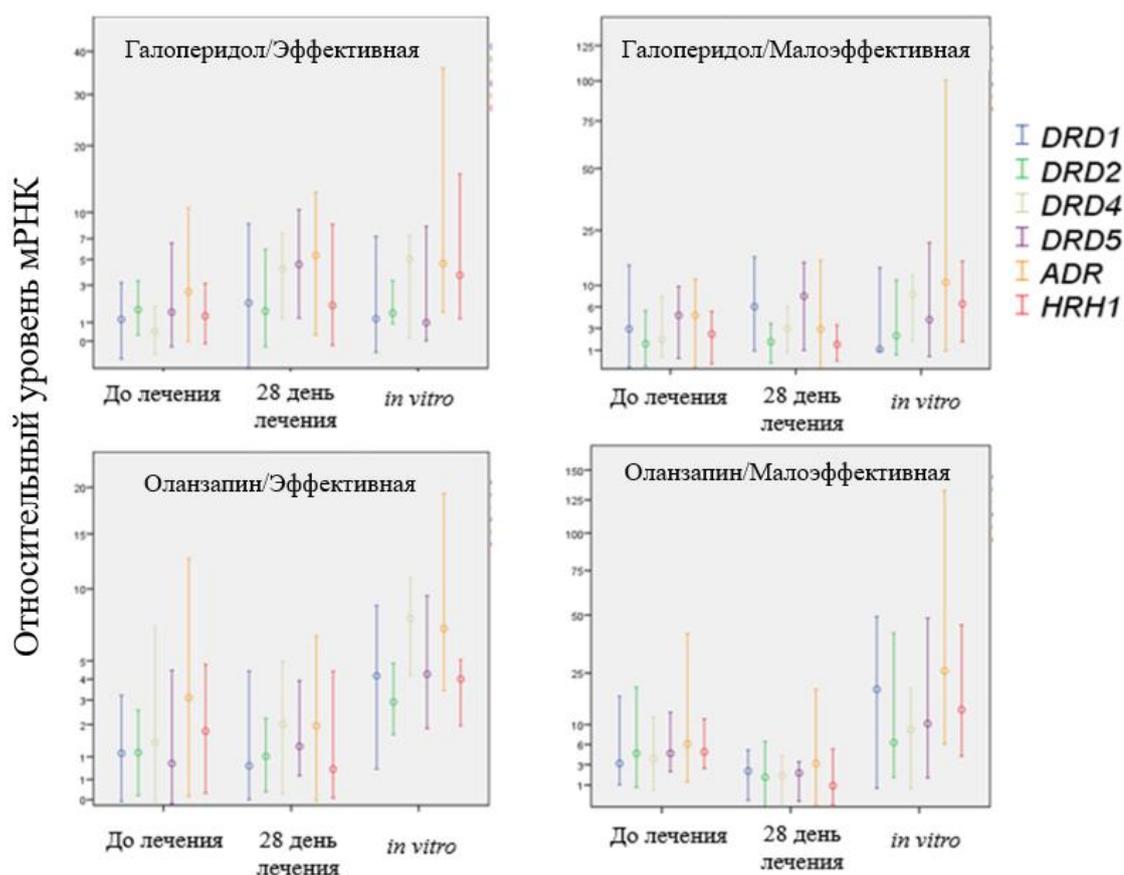


Рисунок 3.14 – Сравнительный анализ влияния галоперидола и оланзапина на уровни мРНК для всех генов рецепторов, измеренные в МКПК пациентов с РШС с различным по эффективности ответом на терапию до начала лечения, при культивировании *in vitro* и на 28 день терапии

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено оценке ассоциации молекулярно-генетических показателей рецепторов биогенных аминов, а именно уровней мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5* дофаминовых рецепторов, гена *ADRA1B* адренергического рецептора и гена *HRH1* гистаминового рецептора, уровней дофаминовых рецепторов D1, D2, D3, адренергического рецептора *ADRA1B* и гистаминового рецептора H1 в МКПК, а также концентрации внеклеточного дофамина в крови пациентов с РШС, с эффективностью и безопасностью терапии галоперидолом или оланзапином. Параллельно мы проводили культивирование МКПК пациентов в присутствии препаратов терапии *in vitro*, после чего также оценивали ассоциацию уровней экспрессии вышеуказанных генов рецепторов биогенных аминов с эффективностью и безопасностью проводимой терапии. Основной задачей исследования был анализ изменения молекулярно-генетических показателей мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК в ответ на применяемый лекарственный препарат у пациентов с РШС, и *in vitro* на культуре клеток.

Основываясь на доказательствах о том, что нарушения функционирования аминергических систем – дофаминовой, гистаминовой и адренергической – в центральной нервной системе (ЦНС), играют ключевую роль в патогенезе РШС, нами были исследованы молекулярно-генетические характеристики рецепторов, относящихся к данным системам, в МКПК пациентов с РШС. В настоящее время предполагается, что мононуклеарные клетки могут отражать изменения экспрессии генов, связанные с поведенческими и нейрохимическими нарушениями при психических заболеваниях (Fernandez-Egea, 2016). Показано, что МКПК несут на своей мембране основные типы рецепторов биогенных аминов, подобно нейронам в головном мозге (McKenna et al. 2002; Kirillova et al. 2008; GenisMendoza et al., 2016), синтезируют и высвобождают дофамин (Bergquist et al. 1994). В настоящее время во многих исследованиях МКПК используются в качестве модельного объекта для изучения систем нейротрансмиссии при психоневрологических

заболеваниях и попытке прогноза ответа пациентов на лечение АП (Numata et al., 2008; Escamilla et al., 2018; Crespo-Facorro, 2021, Wysokiński et al., 2021).

Данное исследование состояло из трех этапов. Первый этап – поиск маркеров, ассоциированных с развитием РШС. Второй этап – поиск ассоциаций уровня рецепторов (мРНК, белок) в МКПК пациентов с эффективностью и безопасностью терапии галоперидолом и оланзапином. Третий этап – поиск возможных предикторов эффективности и безопасности антипсихотической терапии при культивировании первичной линии МКПК пациентов с РШС. В ранее проведенных исследованиях осуществлялась оценка уровней экспрессии генов и количества белков различных рецепторов, ассоциированных с развитием РШС, у пациентов с первым психотическим эпизодом (Numata et al., 2007), у пациентов длительное время принимающих АП (Wysokiński et al., 2021), а также в динамике проводимой терапии АП (Kuzman et al, 2009). Однако расширенного исследования рецепторов биогенных аминов, подобно нашему, не проводилось.

Уровень мРНК до начала терапии, при сравнении с уровнем мРНК у здоровых лиц, может служить маркером риска развития психических расстройств. Таким образом, на первом этапе нами оценен уровень мРНК генов рецепторов, а также генетический вариант rs1799732 (–141C Ins/Del) гена *DRD2*, в МКПК пациентов с РШС до начала лечения (в актуальном психозе) и у лиц контрольной группы. Включение в настоящее исследование пациентов, имеющих установленный диагноз РШС с первым психотическим эпизодом и ранее не принимавших АП, позволило провести анализ возможных маркеров развития заболевания, а именно сопоставить уровень мРНК генов рецепторов в МКПК пациентов с РШС и в контроле. В группе пациентов с РШС уровень мРНК гена *DRD1* был ниже, чем в контрольной группе. Ранее, пониженный уровень экспрессии гена *DRD1* относительно контрольной группы без психических нарушений, был обнаружен в посмертальных образцах префронтальной коры у пациентов с РШС (Kaalund et al., 2014), а с помощью ПЭТ показано пониженное содержание рецепторов D1 в префронтальной коре у пациентов с шизофренией, ранее не принимавших нейролептики (Stenkrona et al., 2019). Однако, данные

исследований роли гена *DRD1* в патогенезе шизофрении довольно противоречивы, и даже противоположны.

Также нами выявлен повышенный уровень мРНК гена *HRH1* гистаминового рецептора H1 в МКПК пациентов с РШС в актуальном психотическом состоянии по сравнению с контрольной группой. Ранее оценку экспрессии гена *HRH1* проводили на холинергических нейронах пациентов с хронической шизофренией, получающих длительное лечение АП, была показана сниженная экспрессия гена *HRH1* по сравнению с контрольной группой (Cheng et al., 2021). Оценка уровня мРНК гена *HRH1* в МКПК пациентов с РШС до начала лечения проведена нашей группой впервые.

На сегодняшний день для пациентов с первым психотическим эпизодом также показана активация системы иммунно-воспалительного ответа, повышение концентрации в сыворотке интерлейкина 6 и других провоспалительных цитокинов (Uphthegrove et al., 2014; Maes et al., 2021; Тараскина и соавт., 2018).

Вовлечение дофаминергической системы в развитие шизофрении подтверждается ассоциациями данного заболевания с генетическими вариантами генов, кодирующими белки нейротрансмиссии дофамина (O'Donovan, 2019; Trubetskoj et al., 2022). Интерес исследователей к генетическим вариантам *DRD2* обусловлен высоким сродством рецептора дофамина D2 к АП и сцеплением локуса хромосомы 11q, где расположен *DRD2* (11q22-q23), с развитием шизофрении (Lewis et al., 2003). В нашем исследовании мы не обнаружили значимых различий в частоте встречаемости генотипов –141C Ins/Del гена *DRD2* между группами пациентов с РШС и контроля. В других исследованиях была показана ассоциация развития психических расстройств с мажорной аллелью –141InsC (Arinami et al., 1997) и с минорной аллелью (Kampman et al., 2003). По-видимому, риск развития РШС, ассоциированный с генетическими вариантами –141C Ins/Del, незначителен, зависим от этнического контекста и от конкретного типа психического расстройства (Wang et al., 2016). В ходе данного исследования нам не удалось доказать влияние генетического варианта –141C Ins/Del в наших исследуемых группах ни на патогенез РШС, ни на относительный уровень экспрессии гена *DRD2*

в МКПК пациентов с РШС и в контрольной группе, ни на нормализацию психического состояния пациентов (снижение баллов по шкале PANSS) на фоне антипсихотической терапии как галоперидолом, так и оланзапином (Грунина и соавт., 2020).

Для того, чтобы понять, действует ли получаемый пациентом АП на симптомы заболевания, применяют различные шкалы. В нашем исследовании психическое состояние пациентов оценивали с помощью шкалы позитивных и негативных симптомов PANSS (Kay et al., 1987). Показателем подтверждения антипсихотической активности препарата у больных с РШС, считается снижение суммарного балла по шкале PANSS более чем на 20%. Исходя из этого, мы условно поделили пациентов на группу эффективной терапии (снижение шкалы PANSS более 20%) и на группу малоэффективной терапии (снижение шкалы PANSS менее 20%). Положительный ответ на лечение (статистически значимое снижение суммарного балла PANSS,  $p < 0,001$ ) обнаружен как при лечении галоперидолом, так и при лечении оланзапином (Taraskina et al., 2017). Терапия галоперидолом оказалась эффективной для 62% пациентов, а терапия оланзапином - для 74%. Отличий в действии между препаратами обнаружено не было. Редукция суммарного балла PANSS вероятно связана со снижением показателей позитивных симптомов и общих психопатологических характеристик в группе лечения оланзапином и снижением позитивных симптомов в группе лечения галоперидолом. В недавно проведенном длительном (в течение года) исследовании по сравнению влияния АП на симптомы шизофрении с применением шкалы PANSS, показано уменьшение общих психопатологических симптомов и улучшение качества жизни пациентов при терапии оланзапином (Stabell et al., 2023).

Уровни мРНК и белка, измеренные у пациентов с первым психотическим эпизодом до начала приема АП, являются важными показателями не только для изучения патогенеза заболеваний, но и для прогноза эффективности терапии (Kwak et al., 2001; Maes et al., 2021). По результатам второго этапа нашего исследования группа пациентов с эффективной терапией оланзапином характеризуется

пониженным уровнем мРНК гена *DRD1* и пониженным уровнем белка D1, по сравнению с группой малоэффективной терапии оланзапином (Заботина и соавт., 2022). Можно сделать вывод о том, что пониженный уровень рецептора D1 (мРНК, белок) в МКПК пациентов с РШС до начала лечения ассоциирован с эффективным ответом на терапию оланзапином. В общем, в группе пациентов с эффективной нормализацией психического статуса отмечены более низкие уровни как мРНК, так и белка рецепторов биогенных аминов в МКПК до начала лечения в сравнении с пациентами с малоэффективной терапией АП (Grunina et al., 2019). Необходимо отметить, что уровень мРНК генов, скорее всего, не может отражать количество белка рецепторов на мембране клеток. Поскольку белки подвергаются различным посттранскрипционным/посттрансляционным модификациям и уровень мРНК гена не всегда отражает уровень белка (Vogel and Marcotte, 2012).

Работы, посвященные оценке ассоциации профиля экспрессии генов рецепторов в МКПК с эффективностью терапии различными АП носят единичный характер (Crespo-Facorro et al., 2021; Cui et al., 2021; Allen and Bishop, 2019), поскольку в основном экспрессию генов рецепторов биогенных аминов оценивали в качестве потенциального диагностического маркера РШС, и этому посвящен большой пласт исследований (Глава Обзор литературы 1.4).

В настоящем исследовании показано, что терапия АП в течение 28 дней не оказывала влияния на относительные уровни мРНК всех изученных генов рецепторов в МКПК у пациентов с РШС (Taraskina et al., 2017; Заботина и соавт., 2022). В работе, проведенной ранее другой группой исследователей на лимфоцитах пациентов с шизофренией при терапии антипсихотиками в течение 4 недель, обнаружено изменение экспрессии только гена *DRD2* при терапии галоперидолом, в то время как лечение оланзапином не приводило к изменению уровня экспрессии ни одного из пяти подтипов дофаминовых рецепторов по сравнению с показателями до лечения (Shariati et al., 2009). Это в целом согласуется с полученными нами данными об отсутствии влияния АП на экспрессию генов рецепторов моноаминов в МКПК при лечении. Обсуждается, однако, что галоперидол и оланзапин могут влиять на генетический аппарат клетки. Так,

показано, что терапия галоперидолом индуцирует эпигенетические изменения, снижает экспрессию микроРНК, влияющих на ДНК метилтрансферазы, повышает общее метилирование ДНК, изменяет экспрессию генов белков, ассоциированных с процессами метилирования ДНК, а также передачи сигнала в ЦНС (Ferno et al., 2005; Minet-Ringuet et al., 2007; Gardiner et al., 2014; Swathy et al., 2017). Оланзапин также может влиять на экспрессию ряда генов, например, увеличивает уровень мРНК супероксиддисмутазы и рецепторов для факторов роста нервов p75 (Li et al., 1999).

Существуют работы по анализу профиля экспрессии генов МКПК с целью выявлению генов, на которые могут воздействовать АП. В частности, анализ профилей мРНК в крови пациентов с шизофренией до начала и после 3 месяцев лечения АП второго поколения, выявил 6 генов (*ADAMTS2*, *CD177*, *CNTNAP3*, *ENTPD2*, *RFX2* и *UNC45B*), подверженных влиянию антипсихотиков и ассоциируемых с улучшением симптоматики заболевания (Sainz et al., 2013), а также 17 генов, ассоциируемых с побочными реакциями препаратов (Crespo-Facorro et al., 2015).

При оценке уровня белка рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с РШС на фоне антипсихотической терапии, нами показано снижение количества дофаминового рецептора D1 на 28 день лечения галоперидолом, не связанное с эффективностью ответа пациентов на терапию (Тараскина и соавт., 2018). При этом, в группе пациентов, получавших оланзапин, показатель снижался, но статистически значимых различий достигнуто не было. Ранее показано, что при культивировании лимфоцитов *in vitro* уровень рецепторов D1 оставался неизменным под действием галоперидола и оланзапина, но повышался при воздействии атипичного нейролептика кветиапина (Wysokinski et al., 2021). В нашем исследовании снижение уровня белка D1 коррелировало с его начальным уровнем, при этом транскрипционная активность оставалась неизменной, что возможно связано с деградацией белка в эндосомах. Известно, что рецепторы, сопряженные с G-белком, образуют на поверхностях клеток димеры и олигомеры. Описаны комплексы D1-D1, D1-D2, D1-D3, D1-HRH3 (Agnati et al., 2016).

Блокирование галоперидолом рецепторов D2, по всей видимости, приводит к активации рецепторов D1 дофамином и дальнейшей реакции десенситизации (Попова и соавт., 2013), то есть важно соотношение количества рецепторов друг к другу (Заботина и соавт., 2022).

Нами впервые показана корреляция экспрессии дофаминовых, адренергического и гистаминового рецепторов в МКПК пациентов с РШС (Насырова и соавт., 2016; Taraskina et al., 2017), что доказывает существование взаимодействий между путями моноаминовых нейротрансмиттеров. Известно, что гистаминовые и адренергические рецепторы модулируют функцию дофамина и влияют на дофаминзависимые реакции и экспрессию генов, стабилизирующих нейротрансмиссию (Mäki-Marttunen et al., 2023). Уровни мРНК генов рецепторов коррелировали друг с другом в МКПК пациентов и до начала лечения, и через 28 дней антипсихотического лечения. Примечательно, что корреляции между *DRD1* и другими генами пропадают на 28 день терапии. Такой дисбаланс можно объяснить пониженным уровнем экспрессии *DRD1* при РШС до начала терапии. Полученные нами результаты подтверждаются недавно проведенной работой, где корреляция экспрессии показана между дофаминовыми рецепторами, за исключением D1 и D2, в группе больных шизофренией, уже получающих терапию АП (Wysokinski et al., 2021). Новизна нашей работы состоит в том, что уровни мРНК и белка рецепторов были нами измерены как до начала лечения (в актуальном психозе), так и после терапии. То есть мы можем сопоставить показатели рецепторов и сделать вывод о воздействии АП на экспрессионный профиль. Обратную корреляцию дофаминергических и адренергических рецепторов на 28 день лечения можно объяснить компенсаторным механизмом, при котором блокирование галоперидолом дофаминовых рецепторов приводит к повышению активности адренергической системы (Ахмадулина и соавт., 2022).

В настоящем исследовании впервые проанализирована ассоциация уровня мРНК генов и белка рецепторов моноаминов в МКПК пациентов с РШС с развитием наиболее часто возникающих побочных реакций, вызванных приемом АП, – экстрапирамидных (паркинсонизм, акатизия), а также набора массы тела,

являющегося первым признаком метаболических нарушений при воздействии терапии.

Проблема экстрапирамидных симптомов (ЭПС), осложняющих терапию препаратами антипсихотического действия, является актуальной с момента внедрения данных лекарственных средств в клиническую практику. ЭПС являются наиболее часто встречающимся типом побочных реакций, среди которых лекарственный паркинсонизм регистрируется в 15-60% случаев, а в ряде случаев (около 1%) проявляется в злокачественной форме, с высоким риском летального исхода (Langan J. et al., 2012). Мы охарактеризовали спектр ЭПС (паркинсонизм, акатизия) в группах пациентов, принимавших галоперидол или оланзапин, и показали, что прием галоперидола через 28 дней чаще приводил к развитию ЭПС по сравнению с приемом оланзапина ( $p < 0,05$ ). При приеме галоперидола паркинсонизм наблюдали у 33 (67,4%) пациентов, а акатизию у 9 (18,4%). Тогда как при приеме оланзапина паркинсонизм наблюдали у 4 (8,7%) пациентов, а акатизию у 3 (6,5%) пациентов. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы, подтверждающими, что прием галоперидола чаще сопровождается двигательными дисфункциями, а прием оланзапина метаболическими нарушениями (Dossenbach et al., 2008; Zhang et al., 2013; Vuoli et al., 2016; Grunder et al., 2016; Sifakis et al., 2018). Считается, что атипичные АП (такие как оланзапин) обладают более высокой эффективностью в отношении негативных и когнитивных симптомов шизофрении по сравнению с типичными АП, особенно у пациентов с плохим ответом на лечение (Kaar et al., 2019). Атипичные АП, как правило, воздействуют больше на адренергические, гистаминергические и серотонинергические рецепторы и имеют меньшее антагонистическое действие на D<sub>2</sub>-рецепторы, чем типичные АП, и, таким образом, реже приводят к развитию экстрапирамидных побочных симптомов. Тем не менее, применение атипичных АП может привести к увеличению массы тела, а следовательно, и к дальнейшим осложнениям, таким как несоблюдение режима приема лекарственных средств, диабет и сердечно-сосудистые заболевания. Показано, что пациенты с первым психотическим эпизодом, ранее не получавшие АП имеют более высокий риск

гиперлипидемии по сравнению с пациентами, уже принимающими АП (Wu et al., 2023). Механизмы, лежащие в основе увеличения массы тела, вызванного приемом АП, пока остаются неясными из-за сложных взаимодействий между системами, участвующими в регуляции энергетического баланса.

В ходе нашего исследования набор массы тела, вызванный приемом АП, оценивали на 28 день терапии как увеличение начальной массы тела на 7% и более (Bak et al., 2014). Было показано, что набор массы тела значимо ассоциируется с носительством генотипа *Ins/Ins* и не зависит от уровня мРНК *DRD2* в ЛПК у пациентов. Таким образом генотип *Ins/Ins* может быть рассмотрен в качестве маркера прогноза антипсихотик-индуцированного набора массы тела (Грунина и соавт., 2020). Ранее набор веса при приеме рисперидона и оланзапина был показан для носителей аллеля *Del* (Lencz et al., 2010). Ассоциация генетического варианта *rs1799732* гена *DRD2* с антипсихотик-индуцированным метаболическим синдромом показана на выборке больных шизофренией женщин (Paderina et al., 2022).

Также нами был оценен уровень дофамина в сыворотке крови пациентов с РШС до начала лечения, через 14 и 28 дней терапии. Увеличение уровня дофамина в нейрональных путях мозга связывают с проявлением острых психозов и позитивных симптомов при шизофрении (Howes et al., 2009). Изменение уровня дофамина в крови наблюдается у пациентов с нарушением баланса нейротрансмиттеров в мозге, например, при зависимостях (Liu et al., 2015; Moussouttas et al., 2015). Повышение концентрации дофамина показано у пациентов с высокими баллами психометрических шкал (Cai et al., 2011). В нашей работе мы не обнаружили статистически значимых корреляций между уровнем дофамина и баллами PANSS, однако концентрация дофамина в крови пациентов до начала лечения была выше нормальных физиологических значений (Taraskina et al., 2017). Можно сделать вывод, что высокий уровень дофамина в периферической крови действительно ассоциирован с психическими расстройствами (шизофрения и острый психоз), но его нельзя использовать как специфический маркер или судить по нему об эффективности терапии заболевания.

Таким образом, по второму этапу работы, направленному на изучение роли показателей рецепторов (мРНК, белок) в МКПК, а также уровня дофамина в сыворотке крови пациентов с РШС, в прогнозе эффективности и безопасности антипсихотической терапии, можно сделать следующие выводы:

- Пониженный базовый уровень рецептора D1 (мРНК, белок) ассоциирован с эффективным ответом на терапию оланзапином (Заботина и соавт., 2022).
- Изменение уровня мРНК генов рецепторов МКПК на фоне приема антипсихотических препаратов не ассоциировано с ответом пациента на терапию (Grunina et al., 2019).
- При терапии галоперидолом в МКПК пациентов с РШС наблюдается статистически значимое снижение уровня дофаминовых рецепторов D1, не ассоциированное с эффективностью терапии (Тараскина и соавт., 2018).
- Генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* не ассоциирован с нормализацией психического состояния пациентов на фоне антипсихотической терапии как галоперидолом, так и оланзапином, и не влияет на уровень мРНК гена *DRD2* (Грунина и соавт., 2020).
- Развитие лекарственного паркинсонизма на 28 день антипсихотической терапии галоперидолом ассоциировано со снижением уровня рецептора D1 в МКПК пациентов (Заботина и соавт., 2022) и коррелирует с уровнем дофамина в сыворотке крови пациентов группы малоэффективной терапии оланзапином (Taraskina et al., 2017).
- Антипсихотик-индуцированный набор массы тела значимо ассоциируется с носительством генотипа Ins/Ins генетического варианта rs1799732 (-141C Ins/Del) гена *DRD2* (Грунина и соавт., 2020).

На третьем этапе исследования нами оценен уровень мРНК вышеуказанных генов рецепторов нейротрансмиссии в МКПК после культивирования *in vitro* под воздействием АП, соответствующего проводимой пациенту терапии. Целью данного этапа была проверка гипотезы о возможности создания персонализированной модели прогноза эффективности назначаемого лечения на

основании воздействия АП на экспрессию рецепторов моноаминов при культивировании МКПК *in vitro*. В конечном итоге данная схема исследования позволила нам сопоставить эффективность терапии с индивидуальными показателями пациентов, как в крови, так и *in vitro*.

В ходе исследования нами показано, что моделирование воздействия АП на культуре моноклеарных клеток, лучше отражает прогноз терапии, чем оценка уровня экспрессии в крови пациентов с РШС (Грунина и соавт., 2020). Таким образом, уровень мРНК генов биогенных аминов в МКПК, культивируемых *in vitro* в присутствии АП, может быть предложен в качестве предиктора прогноза терапии пациентов РШС.

Показано, что культуры лимфобластов могут индивидуально отвечать на различные лекарственные препараты (Morag A. et al., 2010), что возможно объясняется эпигенетическими и генетическими особенностями. Другой исследовательской группой показано незначительное изменение уровней экспрессии дофаминовых и серотониновых рецепторов в первичной культуре МКПК, полученных от здоровых доноров при культивировании *in vitro* с галоперидолом и оланзапином (Wysokiński et al., 2021). Однако в упомянутом исследовании не была исследована ассоциативная связь с эффективностью лечения пациентов, а клетки для культивирования были получены от лиц контрольной группы без психических нарушений.

В работе с похожим дизайном исследователи оценили влияние клозапина и его метаболитов на плотность гистаминовых рецепторов (H1-H4) в нейронах крыс (*in vitro*) и крови пациентов с шизофренией. Было показано, что клозапин (атипичный антипсихотик) в терапевтических дозах значимо влияет на рецепторы гистамина H1 (Humbert-Claude et al., 2012), что согласуется с полученными нами результатами при культивировании *in vitro*.

На культивируемых Т-лимфоцитах было проведено полногеномное исследование по выявлению механизмов влияния антипсихотических препаратов на уровень мРНК генов в периферических тканях и определены взаимодействия микроРНК-мРНК, которые могут лежать в основе развития побочных реакций при

приеме АП. При воздействии галоперидола показаны значительные изменения экспрессии генов и микро-РНК, ответственных за окислительный стресс и клеточный метаболизм, а также связанных с нарушением двигательных функций и паркинсонизма (Gardiner et al., 2014).

Таким образом, использование МКПК, как клеточной модели изучения изменений в экспрессии рецепторов биогенных аминов особенно актуально в отношении прогноза эффективности фармакологической терапии и риска возникновения нежелательных побочных реакций.

Нашей группой впервые проведено исследование молекулярно-генетических показателей (уровня мРНК генов и белка рецепторов биогенных аминов в МКПК, а также концентрации внеклеточного дофамина в сыворотке крови) рецепторов у пациентов с РШС, включающее оценку исследуемых параметров у пациентов с первым психотическим эпизодом в ходе антипсихотической терапии галоперидолом или оланзапином (0 и 28 дни), и параллельно в ходе модулирования антипсихотической терапии на культуре МКПК *in vitro*.

В настоящее время необходимо проведение дополнительных исследований, направленных на скринирование установленных в научных исследованиях предикторов эффективности и безопасности антипсихотической терапии, до включения в алгоритм персонализированных подходов, и определение клинической эффективности и прогностической значимости изучаемых параметров.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Шизофрения представляет собой гетерогенное психическое заболевание с широким спектром клинических и биологических проявлений. В настоящее время точная диагностика и подбор эффективного лечения для пациентов затруднены и остаются актуальной проблемой. В развитие и течение расстройств шизофренического спектра значительный вклад вносит дисбаланс нейротрансмиттерных систем. Изучение особенностей нейротрансмиссии при психических расстройствах возможно с использованием легкодоступного материала — мононуклеарных клеток периферической крови (Kirillova et al., 2008; Shariarti et al., 2009; Buttarelli et al., 2011; Liu, 2013). Показано, что МКПК подходят для изучения нарушения экспрессии генов, количества белков, эпигенетических паттернов, метаболических и воспалительных молекул у людей с шизофренией (Lai et al., 2014; Tomasik et al., 2014), а также подвержены воздействию антипсихотических препаратов. Однако, анализ литературных данных позволяет сделать заключение об отсутствии в настоящее время прогностических маркеров развития расстройств шизофренического спектра и прогноза эффективности и безопасности лечения (Penedo et al., 2021).

Настоящее исследование посвящено оценке ассоциации молекулярно-генетических показателей рецепторов биогенных аминов с эффективностью и безопасностью терапии антипсихотическими препаратами галоперидолом и оланзапином.

На первом этапе исследования был проведен поиск маркеров, ассоциированных с развитием РШС. Установлено, что базовый уровень экспрессии генов рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с первым психотическим эпизодом может отражать патологические нарушения, характерные для психических расстройств.

На втором этапе были оценены изменения показателей (мРНК, белок) рецепторов биогенных аминов в МКПК и изменение концентрации внеклеточного дофамина в крови пациентов с РШС в динамике при терапии АП, а также проведен поиск ассоциаций изученных показателей с эффективностью и безопасностью

терапии галоперидолом и оланзапином. Выявлено, что при терапии галоперидолом происходит снижение уровня дофаминового рецептора D1 в МКПК, ассоциированное с развитием лекарственного паркинсонизма на 28 день терапии. Однако изменение уровня рецепторов (мРНК, белок) в МКПК на фоне терапии галоперидолом или оланзапином не ассоциировано с эффективностью терапии. В ходе исследования выявлены корреляции уровней мРНК генов всех изученных рецепторов, то есть при увеличении уровня мРНК одного гена пропорционально увеличивался уровень другого, и наоборот.

На третьем этапе выполнены эксперименты по изучению возможности использования клеточной культуры МКПК пациентов с первым психотическим эпизодом для разработки модели прогноза терапии. При культивировании МКПК *in vitro* в присутствии галоперидола или оланзапина, уровень мРНК генов рецепторов значительно повышался в группе малоэффективной терапии по сравнению с группой эффективной терапии (для обоих препаратов). Таким образом уровень мРНК генов рецепторов биогенных аминов в МКПК, культивируемых в присутствии АП, может быть предложен в качестве предиктора эффективности лечения пациентов с психическими расстройствами.

Включение в настоящее исследование пациентов с диагнозом расстройства шизофренического спектра с первым психотическим эпизодом и ранее не получавших лечение АП, позволило провести анализ возможных маркеров развития заболевания. Взятие образцов у пациентов до, во время и после 4-недельной терапии позволило сделать выводы о воздействии препаратов на молекулярно-генетические показатели рецепторов биогенных аминов в МКПК пациентов с шизофренией и их связи с результатами терапии. Дальнейшее изучение маркеров эффективности и безопасности терапии позволит разработать необходимые критерии для персонализированного назначения антипсихотических препаратов.

## ВЫВОДЫ

1. Первый психотический эпизод расстройств шизофренического спектра ассоциирован с пониженным уровнем мРНК гена *DRD1* и с повышенным уровнем мРНК гена *HRH1* в мононуклеарных клетках периферической крови.
2. При терапии галоперидолом наблюдается статистически значимое снижение уровня белка дофаминового рецептора D1 в мононуклеарных клетках периферической крови.
3. В группе эффективной терапии оланзапином выявлено статистически значимое снижение уровня экспрессии (мРНК, белок) дофаминового рецептора D1 в мононуклеарных клетках пациентов с расстройствами шизофренического спектра в актуальном психическом состоянии по сравнению с пациентами с малоэффективной терапией оланзапином.
4. Генетический вариант rs1799732 (-141C Ins/Del) не оказывает влияния на риск развития РШС и относительный уровень экспрессии гена *DRD2* в мононуклеарных клетках периферической крови. При этом генотип Ins/Ins гена *DRD2* ассоциирован с набором массы тела, вызванным приемом АП, и может быть рассмотрен в качестве маркера прогноза безопасности терапии.
5. Уровни мРНК генов *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DRD5*, *ADRa1B* и *HRH1* в МКПК пациентов с РШС коррелируют между собой, как до, так и после лечения галоперидолом или оланзапином, а также при культивировании *in vitro*.
6. Повышение уровня мРНК генов *ADRa1B* и *HRH1* при культивировании *in vitro* (72 часа) мононуклеарных клеток пациентов с расстройствами шизофренического спектра с оланзапином ассоциировано с малоэффективной терапией.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- АП – антипсихотические препараты
- БСА – бычий сывороточный альбумин
- ВОЗ – всемирная организация здравоохранения
- ВТО – вентрально-теgmentальная область
- ДА – дофамин (3,4-дигидроксифенилэтиламин)
- ДАС – дофаминергическая система
- ДИ – доверительный интервал
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДР – дофаминовый рецептор
- ИМТ – индекс массы тела
- ИПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки
- ИФА – иммуноферментный анализ
- кДНК – комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
- МАО – моноаминоксидаза
- МКБ-10 – Международная классификация болезней 10-го пересмотра
- МКПК – моноклеарные клетки периферической крови
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- ПААГ – полиакриамидный гель
- п.н. – пары нуклеотидов
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- РШС – расстройства шизофренического спектра
- САЗ – синдром алкогольной зависимости
- ТГ – тирозингидроксилаза
- ЦНС – центральная нервная система
- цАМФ – 3'-5'-циклический аденозинмонофосфат
- ЭДТА – этилендиаминтетрауксовая кислота динатриевая соль

ЭПС – экстрапирамидные симптомы

*ADRA1B* – ген адренергического альфа-1В рецептора

BARS (Barnes Akathisia Rating Scale) – шкала акатизии Барнса

*HRH1* – ген рецептора гистамина H1

*HTR2A* – ген рецептора серотонина (5-гидрокси-триптамина) 2A

*DRD1* – ген рецептора дофамина D1

*DRD2* – ген рецептора дофамина D2

*DRD3* – ген рецептора дофамина D3

*DRD4* – ген рецептора дофамина D4

*GAPDH* – ген, кодирующий белок глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу

*GNB2L1* – human guanine nucleotide binding protein beta polypeptide 2-like

CNV – вариация числа копий участков ДНК

COMT – катехол-О-метилтрансфераза

dNTP – дезоксирибонуклеозидтрифосфат

ddNTP – дидезоксирибонуклеозидтрифосфат

DAT – дофаминовый транспортёр

GPCR – рецептор, сопряжённый с G-белком

GWAS – полногеномное ассоциативное исследование

L-ДОФА – L-3,4-дегидроксифенилаланин

nAch – никотин ацелохолин

NMDA – N-метил-D-аспартат

PANSS – шкала позитивных и негативных симптомов

PRS – показатель полигенного риска

SAS (Simpson-Angus Scale for Extrapyramidal Symptoms) - шкала экстрапирамидных побочных эффектов Симпсона-Ангуса

SDS – додецилсульфат натрия

SNP – однонуклеотидный полиморфный вариант

TaqMan – флуоресцентно меченый зонд

Tris – трис-гидроксиметил-аминометан

VMAT – везикулярный моноаминный переносчик

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Ахмадулина, А.О. Феномен акатизии: клиническая характеристика, классификация, дифференциальная диагностика, лечение / А.О. Ахмадулина, О.С. Левин, М.Г. Полуэктов // Фармакология & Фармакотерапия. – 2022. – №2.
2. Бойко, А.С. Гены дофаминовых рецепторов и транспортера у больных шизофренией: ассоциации с клиническими характеристиками заболевания / А.С. Бойко, И.В. Пожидаев, О.З. Падерина, А.В. Семке // Обзорение психиатрии и медицинской психологии. – 2019. – № 4-1. – С. 93–94.
3. Грунина, М.Н. Мононуклеарные клетки периферической крови *in vitro*. Модель персонализации антипсихотической терапии / М.Н. Грунина, А.М. Заботина, М.М. Пчелина, Р.Ф. Насырова, Д.Н. Сосин, Е.Е. Ершов, А.Е. Тараскина, Е.М. Крупицкий // Цитология. – 2018. – № 60(7). – С. 549–554.
4. Грунина, М.Н. Рецептор дофамина D2 (DRD2) лимфоцитов периферической крови как биомаркер прогноза антипсихотической терапии / М.Н. Грунина, А.М. Заботина, А.С. Журавлев, М.М. Пчелина, Е.В. Волкова, Р.Ф. Насырова, А.Е. Тараскина, Е.М. Крупицкий // Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. – 2020. – Т. 27(1). – С. 45–56.
5. Ершов, Е.Е. Уровень экспрессии мРНК рецепторов нейротрансмиссии на лимфоцитах периферической крови как возможный биомаркер антипсихотик-индуцированного увеличения массы тела / Е.Е. Ершов, А.Е. Тараскина, А.М. Заботина, Р.Ф. Насырова, Д.Н. Сосин, М.Н. Грунина, Е.М. Крупицкий // Психотерапия и психосоциальная работа в психиатрии. Выпуск IV. Под ред. О.В. Лиманкина, С.М. Бабина. – СПб.: Издательство «Таро». – 2017. – С. 68–73.
6. Заботина, А.М. Экспрессия рецептора дофамина DRD1 (мРНК, белок) в лимфоцитах периферической крови и прогноз антипсихотической терапии / А.М. Заботина, А.С. Журавлев, М.Н. Грунина, Р.Ф. Насырова, Е.В. Волкова, А.А. Тюрин, О.В. Лиманкин, А.П. Отмахов, Е.М. Крупицкий, Н.Г. Незнанов, А.Е. Тараскина // Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. – 2022. – Т. XXIX. – № 3. – С. 45–53.

7. Казаковцев, Б.А. Психиатрическая помощь населению Российской Федерации в 2019 году: Аналитический обзор / Б.А. Казаковцев, Н.К. Демчева, А.В. Яздовская, О.В. Сидорюк, Т.А. Николаева. – М.: ФГБУ «НМИЦПН им. В.П. Сербского» Минздрава России, 2020. – 145 с.
8. Кротова, Н.А. Зебраданио (zebrafish) как новая перспективная модель в трансляционной нейробиологии / Н.А. Кротова, А.М. Лакстыгал, А.С. Таранов, Н.П. Ильин, М.В. Бытов, А.Д. Волгин, Т.Г. Амстиславская, К.А. Демин, А.В. Калуев // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105. – № 11. – С. 1417–1435.
9. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование: Перевод с англ. / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
10. Насырова, Р.Ф. Введение в психофармакогенетику / Р.Ф. Насырова, М.В. Иванов, Н.Г. Незнанов. – СПб: Издательский центр СПб НИПНИ им. В. М. Бехтерева, 2015. — 272 с.
11. Насырова, Р.Ф. Инструменты персонифицированной оценки эффективности антипсихотической терапии: рецепторы нейротрансмиссии на лимфоцитах периферической крови / Р.Ф. Насырова, А.Е. Тараскина, Д.Н. Сосин, К.А. Сосина, Е.Е. Ершов, А.М. Заботина, М.Н. Грунина, Е.М. Крупицкий // Сибирское медицинское обозрение. – 2016. – № 2(98). – С. 57–64.
12. Попова, Н.В. Клатрин-зависимый эндоцитоз и белки-адаптеры / Н.В. Попова, И.Е. Деев, А.Г. Петренко // Acta Naturae. – 2013. – Т. 5(3). – С. 62–73.
13. Пожидаев, И.В. Ассоциативные исследования полиморфных вариантов генов адренергических рецепторов и тардивной дискинезии при шизофрении / И.В. Пожидаев, Д.З. Падерина, О.Ю. Федоренко, А.С. Бойко, Е.Г. Корнетова, Н.А. Бохан, С.А. Иванова // Медицинская генетика. – 2021. – Т. 20(3). – С. 36–40.
14. Руководство по эксплуатации систем ПЦР реального времени с флуоресцентной детекцией CFX96 Touch, CFX96 TouchDeepWell, CFXConnect и CFX384 Touch.

15. Тараскина, А.Е. Влияние антипсихотических препаратов на рецепторы моноаминов мононуклеарных клеток периферической крови: Аффинитет-сцепленный механизм / А.Е. Тараскина, А.М. Заботина, Р.Ф. Насырова, Д.Н. Сосин, К.А. Сосина, Е.Е. Ершов, М.Н. Грунина, Е.М. Крупицкий. // Биомедицинская химия. – 2018. – Т. 64(2). – С. 201–207.

16. Тараскина, А.Е. Количество лимфоцитов, экспрессирующих на плазматической мембране D2- рецепторы дофамина, у человека в норме и при синдроме алкогольной зависимости / А.Е. Тараскина, М.Н. Морозова, Н.В. Бычкова, Н.И. Давыдова, А.Л. Шварцман // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6(15). – № 3. – С. 273–280.

17. Тараскина, А.Е. Дофаминергическая нейротрансмиссия лимфоцитов периферической крови – потенциальный биомаркер психических и неврологических расстройств / А.Е. Тараскина, Р.Ф. Насырова, М.Н. Грунина, А.М. Заботина, Д.В. Иващенко, Е.Е. Ершов, Д.Н. Сосин, К.А. Кирничная, М.В. Иванов, Е.М. Крупицкий // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 9. – С. 65–69.

18. Aberg, K.A. A comprehensive family-based replication study of schizophrenia genes / K.A. Aberg, Y. Liu, J. Bukszár, J.L. McClay, A.N. Khachane, O.A. Andreassen, D. Blackwood, A. Corvin, S. Djurovic, H. Gurling, R. Ophoff, C.N. Pato, M.T. Pato, B. Riley, T. Webb, K. Kendler, M. O'Donovan, N. Craddock, G. Kirov, M. Owen, D. Rujescu, D. St Clair, T. Werge, C.M. Hultman, L.E. Delisi, P. Sullivan, E.J. van den Oord // JAMA Psychiatry. – 2013. – Vol. 70(6). – P. 573–581.

19. Agnati, L.F. Role of iso-receptors in receptor-receptor interactions with a focus on dopamine iso-receptor complexes / L.F. Agnati, D. Guidolin, C. Cervetto, D.O. Borroto-Escuela, K. Fuxe // Rev Neurosci. – 2016. – Vol. 27(1). – P. 1–25.

20. Al Hadithy, A.F. Pharmacogenetics of parkinsonism, rigidity, rest tremor, and bradykinesia in African-Caribbean inpatients: Differences in association with dopamine and serotonin receptors / A.F. Al Hadithy, B. Wilffert, R.E. Stewart, N.M. Looman, R. Bruggeman, J.R. Brouwers, G.E. Matroos, J. van Os, H.W. Hoek, P.N. van Harten // Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. – 2008. – Vol. 147. – P. 890–897.

21. Andreassen, O.A. Boosting the power of schizophrenia genetics by leveraging new statistical tools / O.A. Andreassen, W.K. Thompson, A.M. Dale // *Schizophr. Bull.* – 2014. – Vol. 40. – P. 13–17.
22. Ahmadian, S. D3 as a possible marker based on D1–D4 dopamine receptors expression in paranoid schizophrenia patients / S. Ahmadian, G. Delavari, D. Ghanbari, D. Zaeifi // *J. Mol. Biomarkers Diagn.* – 2014. – Vol. 5.
23. Arrang, J.M. Histamine and schizophrenia / J.M. Arrang // *Int Rev Neurobiol.* – 2007. – Vol. 78. – P. 247-287.
24. Arreola, R. Immunomodulatory Effects Mediated by Dopamine / R. Arreola, S. Alvarez-Herrera, G. Pérez-Sánchez, E. Becerril-Villanueva, C. Cruz-Fuentes, E.O. Flores-Gutierrez, M.E. Garcés-Alvarez, D.L. de la Cruz-Aguilera, E. Medina-Rivero, G. Hurtado-Alvarado, S. Quintero-Fabián, L. Pavón // *J Immunol Res.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 3160486.
25. Bak, M. Almost all antipsychotics result in weight gain: a meta-analysis / M. Bak, A. Fransen, J. Janssen, J. van Os, M. Drukker // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(4). – P. e94112.
26. Bakker, P.R. Candidate gene-based association study of antipsychotic-induced movement disorders in long-stay psychiatric patients: A prospective study / P.R. Bakker, E. Bakker, N. Amin, C.M. van Duijn, J. van Os, P.N. van Harten // *PLoS ONE.* – 2012. – Vol. 7. – P. e36561.
27. Barnes, T.R.E. The Barnes Akathisia rating scale—revisited / T.R.E. Barnes // *Journal of Psychopharmacology.* – 2003. – Vol. 17(4). – P. 365–370.
28. de Bartolomeis, A. Canonical and Non-Canonical Antipsychotics' Dopamine-Related Mechanisms of Present and Next Generation Molecules: A Systematic Review on Translational Highlights for Treatment Response and Treatment-Resistant Schizophrenia / A. de Bartolomeis, M. Ciccarelli, G. De Simone, B. Mazza, A. Barone, L. Vellucci // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24(6). – P. 5945.
29. Baselmans, B.M.L. Risk in Relatives, Heritability, SNP-Based Heritability, and Genetic Correlations in Psychiatric Disorders: A Review / B.M.L. Baselmans, L. Yengo, W. van Rheenen, N.R. Wray // *Biol Psychiatry.* – 2021. – Vol. 89(1). – P. 11–19.

30. Basu, B. D1 and D2 dopamine receptor-mediated inhibition of activated normal T cell proliferation is lost in Jurkat T leukemic cells / B. Basu, C. Sarkar, D. Chakrobortyetal // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – Vol. 285(35). – P. 27026–27032.
31. Beaulieu, J.M. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors / J.M. Beaulieu, R.R. Gainetdinov // *Pharmacol Rev*. – 2011. – Vol. 63(1). – P. 182–217.
32. Beaulieu, J.M. Dopamine receptors - IUPHAR Review 13 / J.M. Beaulieu, S. Espinoza, R.R. Gainetdinov // *Br J Pharmacol*. – 2015. – Vol. 172(1). – P. 1–23.
33. Bergen, S.E. CNV Analysis Group and the Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, O'Donovan M.C., Smoller J.W., Sullivan P.F., Sebat J., Neale B., Kendler K.S. Joint Contributions of Rare Copy Number Variants and Common SNPs to Risk for Schizophrenia / S.E. Bergen, A. Ploner, D. Howrigan // *Am J Psychiatry*. – 2019. – Vol. 176(1). – P. 29–35.
34. Bergquist, J. Nuclear factor-kappa B is involved in the catecholaminergic suppression of immunocompetent cells / J. Bergquist, B. Ohlsson & A. Tarkowski // *Ann N Y Acad Sci*. – 2000. – Vol. 917. – P. 281–289.
35. Boneberg, E.M. D3 dopamine receptor mRNA is elevated in T cells of schizophrenic patients whereas D4 dopamine receptor mRNA is reduced in CD4+ -T cells / E.M. Boneberg, E. von Seydlitz, K. Pröpster, H. Watzl, B. Rockstroh, H. Illges // *J. Neuroimmunol*. – 2006. – Vol. 173(1–2). – P. 180–187.
36. Boyd, K.N. Dopamine receptor signaling, current, and future antipsychotic drugs / K.N. Boyd, R.B. Mailman // *Handb Exp. Pharmacol*. – 2012. – № 212. – P. 53–86.
37. Buoli, M. Haloperidol versus second-generation antipsychotics in the long-term treatment of schizophrenia / M. Buoli, R.S. Kahn, M. Serati, et al. // *Hum Psychopharmacol*. – 2016. – Vol. 31(4). – P. 325–331.
38. Cai, H.L. Abnormal plasma monoamine metabolism in schizophrenia and its correlation with clinical responses to risperidone treatment / H.L. Cai, P.F. Fang, H.D. Li, et al. // *Psychiatry Res*. – 2011. – Vol. 188(2). – P. 197–202.

39. Carli, M. Atypical Antipsychotics and Metabolic Syndrome: From Molecular Mechanisms to Clinical Differences / M. Carli, S. Kolachalam, B. Longoni, A. Pintaudi, M. Baldini, S. Aringhieri, I. Fasciani, P. Annibale, R. Maggio, M. Scarselli // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14(3). – P. 238.
40. Cheng, L. The Histaminergic System in Neuropsychiatric Disorders / L. Cheng, J. Liu, Z. Chen // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11(9). – P. 1345.
41. Clark, D.A. Expression of the alpha 1A-adrenergic receptor in schizophrenia / D.A. Clark, D. Mancama, R.W. Kerwin, M.J. Arranz // *Neurosci Lett*. – 2006. – Vol. 401(3). – P. 248–251.
42. Collo, G. Negative Symptoms of Schizophrenia and Dopaminergic Transmission: Translational Models and Perspectives Opened by iPSC Techniques / G. Collo, A. Mucci, M. Giordano Giulia, E. Merlo Pich, and S. Galderisi // *Front Neurosci*. – 2020. – Vol. 14. – P. 632.
43. Cosentino, M. Dopaminergic modulation of oxidative stress and apoptosis in human peripheral blood lymphocytes: evidence for a D1-like receptor-dependent protective effect / M. Cosentino, E. Rasini, C. Colombo // *Free Radic. Biol. Med*. – 2004. – Vol. 36(10). – P. 1233–1240.
44. Crespo-Facorro, B. Schizophrenia gene expression profile reverted to normal levels by antipsychotics / B. Crespo-Facorro, C. Prieto, J. Sainz // *Int J Neuropsychopharmacol*. – 2014. – Vol. 18 – №4.
45. Davis, K.L. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization / K.L. Davis, R.S. Kahn, G. Ko, M. Davidson // *Am J Psychiatry*. – 1991. – Vol. 148 – P. 1474–1486.
46. Deng, C. The role of histaminergic H1 and H3 receptors in food intake: a mechanism for atypical antipsychotic-induced weight gain? / C. Deng, K. Weston-Green, X.-F. Huang // *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry*. – 2010. – Vol. 34(1). – P. 1–4.
47. Dossenbach, M. Long-term antipsychotic monotherapy for schizophrenia: disease burden and comparative outcomes for patients treated with olanzapine, quetiapine, risperidone, or haloperidol monotherapy in a pan-continental observational

study / M. Dossenbach, J. Pecenak, A. Szulc, V. Irimia, M. Anders, D. Logozar-Perkovic, D. Peciukaitiene, M. Kotler, A.B. Smulevich, T.M. West, A.J. Lowry, T. Treuer // *J Clin Psychiatry*. – 2008. – Vol. 69(12). – P. 1901–15

48. Dubertret, C. The 3' region of the DRD2 gene is involved in genetic susceptibility to schizophrenia / C. Dubertret, L. Gouya, N. Hanoun // *Schizophr Res*. – 2004. – Vol. 67(1). – P. 75–85.

49. Elman, I. Effects of Risperidone on the Peripheral Noradrenergic System in Patients with Schizophrenia: A Comparison with Clozapine and Placebo / I. Elman, D. Goldstein, A. Green // *Neuropsychopharmacol*. – 2002. – Vol. 27. – P. 293–300.

50. Escamilla, R. Association study between COMT, DRD2, and DRD3 gene variants and antipsychotic treatment response in Mexican patients with schizophrenia / R. Escamilla, B. Camarena, R. Saracco, A. Fresán, S. Hernández, A. Aguilar-García // *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. – 2018. – Vol. 14. – P. 2981–2987.

51. Efimova, E.V. Dopamine transporter mutant animals: a translational perspective / E.V. Efimova, R.R. Gainetdinov, E.A. Budygin, T.D. Sotnikova // *J Neurogenet*. – 2016. – Vol. 30(1). – P. 5–15.

52. Ferrada, C. Interactions between histamine H3 and dopamine D2 receptors and the implications for striatal function / C. Ferrada, S. Ferré, V. Casadó, A. Cortés, Z. Justinova, C. Barnes, E.I. Canela, S.R. Goldberg, R. Leurs, C. Lluís, R. Franco // *Neuropharmacology*. – 2008. – Vol. 55(2). – P. 190–197.

53. Fernandez-Egea, E. Peripheral immune cell populations associated with cognitive deficits and negative symptoms of treatment-resistant schizophrenia / E. Fernandez-Egea, P.E. Vértes, S.M. Flint // *PloS One*. – 2016. – Vol. 11(5).

54. Fernø, J. Antipsychotic drugs activate SREBP regulated expression of lipid biosynthetic genes in cultured human glioma cells: a novel mechanism of action? / J. Fernø, M. Raeder, A. Vik-Mo // *Pharmacogenomics J*. – 2005. – Vol. 5(5). – P. 298–304.

55. Flaherty, E.K. Using hiPSCs to model neuropsychiatric copy number variations (CNVs) has potential to reveal underlying disease mechanisms / E.K. Flaherty, K.J. Brennand // *Brain Res*. – 2017. – Vol. 1655. – P. 283–293.

56. Franco, R. The emergence of neurotransmitters as immune modulators / R. Franco, R. Pacheco, C. Lluis, G.P. Ahern, P.J. O'Connell // *Trends Immunol.* – 2007. – Vol. 28(9). – P. 400–407.
57. Gainetdinov, R.R. Functional hyperdopaminergia in dopamine transporter knock-out mice / R.R. Gainetdinov, S.R. Jones, M.G. Caron // *Biol Psychiatry.* – 1999. – Vol. 46(3). – P. 303–11.
58. Gajski, G. Evaluation of the in vitro cytogenotoxicity profile of antipsychotic drug haloperidol using human peripheral blood lymphocytes / G. Gajski, M. Gerić, V. Garaj-Vrhovac // *Environ Toxicol Pharmacol.* – 2014. – Vol. 38(1). – P. 316–324.
59. Ganguli, R. Autoimmunity in schizophrenia: a review of recent findings / R. Ganguli, J.S. Brar, K.N. Chengappa, Z.W. Yang, V.L. Nimgaonkar, B.S. Rabin // *Ann Med.* – 1993. – Vol. 25(5). – P. 489–496.
60. Gao, K. Subjective versus objective weight gain during acute treatment with second-generation antipsychotics in schizophrenia and bipolar disorder / K. Gao, F. Fang, Z. Wang, J.R. Calabrese // *J Clin Psychopharmacol.* – 2016. – Vol. 36(6). – P. 637–642.
61. Gasso, P. Searching for functional SNPs or rare variants in exonic regions of DRD3 in risperidone-treated patients / P. Gasso, S. Mas, C. Oliveira, M. Bioque, E. Parellada, M. Bernardo, G. Trias, J. Comeche, A. Lafuente // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2011. – Vol. 21. – P. 294–299.
62. Gardiner, E. Antipsychotic drug-associated gene-miRNA interaction in T-lymphocytes / E. Gardiner, A. Carroll, P.A. Tooney, M.J. Cairns // *Int J Neuropsychopharmacol.* – 2014. – Vol. 17(6). – P. 929–43.
63. Genis-Mendoza, A.D. Effect on the expression of drd2 and drd3 after neonatal lesion in the lymphocytes, nucleus accumbens, hippocampus and prefrontal cortex: comparative analysis between juvenile and adult Wistar rats / A.D. Genis-Mendoza, C.A. Tovilla-Zarate, L. Lopez-Narvaez // *Hereditas.* – 2016 – Vol. 153. – P. 13.
64. Glatt, S.J. Comparative gene expression analysis of blood and brain provides concurrent validation of SELENBP1 up-regulation in schizophrenia / S.J. Glatt, I.P.

Everall, W.S. Kremen, J. Corbeil, R. Šášik, N. Khanlou // *Proc Nat Acad Sci USA*. – 2005. – Vol. 102. – P. 15533–15538.

65. Godlewska, B.R. Olanzapine-induced weight gain is associated with the -759C/T and -697G/C polymorphisms of the HTR2C gene / B.R. Godlewska, L. Olajossy-Hilkesberger, M. Ciwoniuk, M. Olajossy, H. Marmurowska-Michałowska, J. Limon, J. Landowski // *Pharmacogenomics J*. – 2009. – Vol. 9. – P. 234-241

66. Grace, A.A. Dopamine System Dysregulation by the Ventral Subiculum as the Common Pathophysiological Basis for Schizophrenia Psychosis, Psychostimulant Abuse, and Stress / A.A. Grace // *Neurotox Res*. – 2010. – Vol. 18(3-4). – P. 367–376.

67. Grant, P. Dopaminergic foundations of schizotypy as measured by the German version of the Oxford-Liverpool Inventory of Feelings and Experiences (O-LIFE)-a suitable endophenotype of schizophrenia / P. Grant, Y. Kuepper, E.A. Mueller, C. Wielpuetz, O. Mason, J. Hennig // *Frontiers in human neuroscience*. – 2013. – Vol. 7. – P. 1.

68. Grant, P. Psychosis-proneness correlates with expression levels of dopaminergic genes / P. Grant, F. Gabriel, Y. Kuepper, C. Wielpuetz, J. Hennig // *Eur Psychiatry*. 2014. – Vol. 29(5). – P. 304-306.

69. Grinchii, D. Mechanism of Action of Atypical Antipsychotic Drugs in Mood Disorders / D. Grinchii, E. Dremencov // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21(24). – P. 9532.

70. Grunder, G. Effects of first-generation antipsychotics versus second-generation antipsychotics on quality of life in schizophrenia: a double-blind, randomized study / G. Grunder, M. Heinze, J. Cordes // *Lancet Psychiatry*. – 2016. – Vol. 3(8). – P. 717–729.

71. Grunina, M.N. Mononuclear cells of peripheral blood in vitro. A model of antipsychotic therapy personalization / M.N. Grunina, A.M. Zabolina, M.M. Pchelina, R.F. Nasyrova, D.N. Sosin, E.E. Ershov, A.E. Taraskina, E.M. Krupitsky // *Cell and Tiss. Biol*. – 2019. – Vol. 13(1). – P. 64–69.

72. Guerrin, C.G.J. The dual hit hypothesis of schizophrenia: Evidence from animal models / C.G.J. Guerrin, J. Doorduyn, I.E. Sommer, E.F.J. de Vries // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2021. – Vol. 131. – P. 1150–1168.

73. Güzey, C. Antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia: Associations with dopamine and serotonin receptor and transporter polymorphisms / C. Güzey, M.G. Scordo, E. Spina, V.M. Landsem, O. Spigset // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 63. – P. 233–241.

74. Harris LW, Pietsch S, Cheng TM, Schwarz E, Guest PC, Bahn S. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(10). – P. e46368.

75. Hemby, S.E. Gene expression profile for schizophrenia: discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex / S.E. Hemby, S.D. Ginsberg, B. Brunk, S.E. Arnold, J.Q. Trojanowski, J.H. Eberwine // *Arch Gen Psychiatry.* – 2002. – Vol. 59(7). – P. 631–640.

76. Hilker, R. Heritability of schizophrenia and schizophrenia spectrum based on the nationwide danish twin register / R. Hilker, D. Helenius, B. Fagerlund, A. Skytthe, K. Christensen, T.M. Werge // *Biol. Psychiatry.* – 2018. – Vol. 83. – P. 492–498.

77. Holt, R.I. Obesity, serious mental illness and antipsychotic drugs / R.I. Holt, R.C. Peveler // *Diabetes Obes Metab.* – 2009. – Vol. 11. – P. 665–679.

78. Howes, O.D. Schizophrenia: an integrated sociodevelopmental-cognitive model / O.D. Howes and R.M. Murray // *Lancet.* – 2014. – Vol. 383(9929). – P. 1677–1687.

79. Hwang, R. Dopamine D4 and D5 receptor gene variant effects on clozapine response in schizophrenia: replication and exploration / R. Hwang, A.K. Tiwari, C.C. Zai, D. Felsky, E. Remington, T. Wallace // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 37(1). – P. 62–75.

80. Hu, W. The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous system disorders: An update / W. Hu, Z. Chen // *Pharmacol Ther.* – 2017. – Vol. 175. – P. 116-132.

81. Humbert-Claude, M. Involvement of histamine receptors in the atypical antipsychotic profile of clozapine: a reassessment in vitro and in vivo / M. Humbert-

Claude, E. Davenas, F. Gbahou, L. Vincent, J.M. Arrang // *Psychopharmacology* (Berl). – 2012. – Vol. 220(1). – P. 225-41.

82. Javitt, D. *Schizophrenia* / D. Javitt & J. Kantrowitz // Springer Science+Business Media, LLC. – 2009.

83. Jin, C.Y. Altered histamine H3 receptor radioligand binding in post-mortem brain samples from subjects with psychiatric diseases / C.Y. Jin, O. Anichtchik, P. Panula // *Br. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 157. – P. 118–129.

84. Jones, C.A. Animal models of schizophrenia / C.A. Jones, D.J. Watson, K.C. Fone // *Br J Pharmacol.* – 2011. – Vol. 164(4). – P. 1162–1194.

85. Iakovidou-Kritsi, Z. Genotoxic and cytostatic effect of atypical antipsychotic drugs in normal human lymphocytes cultures / Z. Iakovidou-Kritsi, K. Akritopoulou, M. Ekonomopoulou // *Review of Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics - International Edition.* – 2008. – Vol. 22(2). – P. 166–168.

86. Iwabuchi, K. Histamine H1 receptors in schizophrenic patients measured by positron emission tomography / K. Iwabuchi, C. Ito, M. Tashiro, M. Kato, M. Kano, M. Itoh, R. Iwata, H. Matsuoka, M. Sato, K. Yanai // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2005. – Vol. 15. – P. 185–191.

87. Kaar, S.J. Antipsychotics: Mechanisms underlying clinical response and side-effects and novel treatment approaches based on pathophysiology / S.J. Kaar, S. Natesan, R. McCutcheon, O.D. Howes // *Neuropharmacology.* – 2019. – Vol. 172. – P. 107704.

88. Kampman, O. Dopamine receptor D2 -141 Insertion/Deletion polymorphism in a Finnish population with schizophrenia / O. Kampman, S. Anttila, A. Illi, T. Lehtimäki, K.M. Mattila, M. Roivas, E. Leinonen // *Psychiatry Res.* – 2003. – Vol. 121(1). – P. 89–92.

89. Kay, S.R. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia / S.R. Kay, A. Fiszbein, L.A. Opler // *Schizophrenia Bull.* – 1987. – Vol. 13. – P. 261.

90. Kestler, L.P. Dopamine receptors in the brains of schizophrenia patients: a meta-analysis of the findings / L.P. Kestler, E. Walker, E.M. Vega // *Behav Pharmacol.* – 2001. – Vol. 12(5). – P. 355–371.
91. Khandaker, G.M. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment / G.M. Khandaker, L. Cousins, J. Deakin, B.R. Lennox, R. Yolken, P.B. Jones // *Lancet Psychiatry.* – 2015. – Vol. 2(3). – P. 258–270.
92. Koch, E. Polygenic liability for antipsychotic dosage and polypharmacy - a real-world registry and biobank study / E. Koch, A. Kämpe, M. Alver, S. Sigurðarson, G. Einarsson, J. Partanen, R.L. Smith, P. Jaholkowski, H. Taipale, M. Lähteenvuo, N.E. Steen, O.B. Smeland, S. Djurovic, E. Molden; FinnGen; Estonian Biobank Research Team; E. Sigurdsson, H. Stefánsson, K. Stefánsson, A. Palotie, L. Milani, K.S. O'Connell, O.A. Andreassen // *Neuropsychopharmacology.* – 2024. – Vol. 49(7). – P. 1113-1119.
93. Koning, J.P. Association of two DRD2 gene polymorphisms with acute and tardive antipsychotic-induced movement disorders in young Caucasian patients / J.P. Koning, J. Vehof, H. Burger, B. Wilffert, A. Al Hadithy, B. Alizadeh, P.N. van Harten, H. Snieder; Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP) investigators // *Psychopharmacology (Berl).* – 2012. – Vol. 219(3). – P. 727–736.
94. Kondratyev, N.V. Bench Research Informed by GWAS Results / N.V. Kondratyev, M.V. Alfimova, A.K. Golov, V.E. Golimbet // *Cells.* – 2021. – Vol. 10(11). – P. 3184.
95. Kustrimovic, N. Expression of dopaminergic Receptors on human CD4+ T lymphocytes: flow cytometric analysis of naive and memory subsets and relevance for the neuroimmunology of neurodegenerative disease / N. Kustrimovic, E. Rasini, M. Legnaro, F. Marino, and M. Cosentino // *Journal of Neuroimmune Pharmacology.* – 2014. – Vol. 9(3). – P. 302–312.
96. Kwak, Y.T. Change of dopamine receptor mRNA expression in lymphocyte of schizophrenic patients / Y.T. Kwak, M.S. Koo, C.H. Choi, I. Sunwoo // *BMC Med. Genet.* – 2001. – Vol. 2. – P. 3.

97. Lai, C.-Y. Biomarkers in schizophrenia: A focus on blood-based diagnostics and theranostics / C.-Y. Lai, E. Scarr, M. Udawela, I. Everall, W.J. Chen, B. Dean // *World J Psychiatr.* – 2014. – Vol. 6(1). – P. 102–117.
98. Langan, J. Antipsychotic dose escalation as a trigger for Neuroleptic Malignant Syndrome (NMS): literature review and case series report / J. Langan, D. Martin, P. Shahajan, and D. Smith // *BMC Psychiatry.* – 2012. – Vol. 12. – P. 214.
99. Lencz, T. DRD2 promoter region variation predicts antipsychotic-induced weight gain in first episode schizophrenia / T. Lencz, D.G. Robinson, B. Napolitano, S. Sevy, J.M. Kane, D. Goldman, A.K. Malhotra // *Pharmacogenet Genomics.* – 2010. – Vol. 20(9). – P. 569–572.
100. Levite, M. Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases / M. Levite // *Acta Physiol.* – 2016. – Vol. 216(1). – P. 42–89.
101. Levite, M. Dopamine in the immune system: dopamine receptors in immune cells, potent effects, endogenous production and involvement in immune and neuropsychiatric diseases / M. Levite // *Nerve-driven-immunity – Neurotransmitters and Neuropeptides in the Immune System.* Springer. – 2012. – P. 1–45.
102. Levite, M. Dopamine interacts directly with its D3 and D2 receptors on normal human T cells, and activates beta1 integrin function / M. Levite, Y. Chowers, Y. Ganor, M. Besser, R. HersHKovits, L. Cahalon // *Eur. J. Immunol.* – 2001. – Vol. 31(12). – P. 3504–3512.
103. Lewis, D.A. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment / D.A. Lewis, P. Levitt // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2002. – Vol. 25. - P. 409-432.
104. Lett, T.A. Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain: review and clinical implications / T.A. Lett, T.J. Wallace, N.I. Chowdhury, A.K. Tiwari, J.L. Kennedy, D.J. Müller // *Mol Psychiatry.* – 2012. – Vol. 17. – P. 242-266
105. Li, X.M. Differential effects of olanzapine on the gene expression of superoxide dismutase and the low affinity nerve growth factor receptor / X.M. Li, J. Chlan-Fourney, A.V. Juorio // *J. Neurosci. Res.* – 1999. – Vol. 1. – № 56(1). – P.72–75.

106. Li, Z. COMT, 5-HTR2A, and SLC6A4 mRNA Expressions in First-Episode Antipsychotic-Naïve Schizophrenia and Association with Treatment Outcomes / Z. Li, Y. He, H. Han, Y. Zhou, X. Ma, D. Wang, J. Zhou, H. Ren, L. Yuan, J. Tang, X. Zong, M. Hu, X. Chen // *Front Psychiatry*. – 2018. – V.9. – P. 577.

107. Lian, J. Betahistine ameliorates olanzapine-induced weight gain through modulation of histaminergic, NPY and AMPK pathways / J. Lian, X.-F. Huang, N. Pai, C. Deng // *Psychoneuroendocrinology*. – 2014. – Vol. 48. – P. 77-86.

108. Lipska, B.K. Gene expression in dopamine and GABA systems in an animal model of schizophrenia: effects of antipsychotic drugs / B.K. Lipska, D.N. Lerman, Z.Z. Khaing, C.S. Weickert, D.R. Weinberger // *Eur J Neurosci*. – 2003. – Vol. 18. – P. 391–402.

109. Liu, Y.R. ADRA1A gene is associated with BMI in chronic schizophrenia patients exposed to antipsychotics / Y.R. Liu, E.W. Loh, T.H. Lan, S.F. Chen, Y.H. Yu, Y.H. Chang, C.J. Huang, T.M. Hu, K.M. Lin, Y.T. Yao, H.J. Chiu // *Pharmacogenomics J*. – 2010. – Vol. 10(1). – P30–39.

110. Liu, L. Identification of the mRNA expression status of the dopamine D2 receptor and dopamine transporter in peripheral blood lymphocytes of schizophrenia patients / L. Liu, G. Yuan, Z. Cheng, G. Zhang, X. Liu, H. Zhang // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8(9). – P. e75259.

111. Luo, C. Pharmacogenetic Correlates of Antipsychotic-Induced Weight Gain in the Chinese Population / C. Luo, J. Liu, X. Wang, X. Mao, H. Zhou, Z. Liu // *Neurosci Bull*. – 2019. – Vol. 35(3). – P. 561–580.

112. Ma, L. Association between dopamine receptor gene polymorphisms and effects of risperidone treatment: A systematic review and meta-analysis / L. Ma, X. Zhang, Q. Xiang, S. Zhou, N. Zhao, Q. Xie, X. Zhao, Y. Zhou, Y. Cui // *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. – 2019. – Vol. 124(1). – P. 94–104.

113. Ma, J. Association Between the COMT Val158Met Polymorphism and Antipsychotic Efficacy in Schizophrenia: An Updated Meta-Analysis / J. Ma, M. Zhao, W. Zhou, M. Li, C. Huai, L. Shen, T. Wang, H. Wu, N. Zhang, Z. Zhang, L. He, S. Qin // *Curr Neuropharmacol*. – 2021. – Vol. 19(10). – P. 1780–1790.

114. Maes, M. First Episode Psychosis and Schizophrenia Are Systemic Neuro-Immune Disorders Triggered by a Biotic Stimulus in Individuals with Reduced Immune Regulation and Neuroprotection / M. Maes, K. Plaimas, A. Suratane, C. Noto, B. Kanchanatawan // *Cells*. – 2021. – Vol. 10(11). – P. 2929.

115. Mäki-Marttunen, V. The role of norepinephrine in the pathophysiology of schizophrenia / V. Mäki-Marttunen, O.A. Andreassen, T. Espeseth // *Neurosci Biobehav Rev*. – 2020. – Vol. 118. – P. 298-314.

116. Maletic, V. The Role of Norepinephrine and Its  $\alpha$ -Adrenergic Receptors in the Pathophysiology and Treatment of Major Depressive Disorder and Schizophrenia: A Systematic Review / V. Maletic, A. Eramo, K. Gwin, S.J. Offord, R.A. Duffy // *Front Psychiatry*. – 2017. – Vol. 8. – P. 42.

117. Martel, J.C. Dopamine Receptor Subtypes, Physiology and Pharmacology: New Ligands and Concepts in Schizophrenia / J.C. Martel, S. Gatti McArthur // *Front Pharmacol*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1003.

118. Matt, S.M. Where is Dopamine and How Do Immune Cells See It?: Dopamine-Mediated Immune Cell Function in Health and Disease / S.M. Matt and P.J. Gaskill // *J Neuroimmune Pharmacol*. – 2020. – Vol. 15(1). – P. 114–164.

119. Meskanen, K. A Randomized Clinical Trial of Histamine 2 Receptor Antagonism in Treatment-Resistant Schizophrenia / K. Meskanen, H. Ekelund, J. Laitinen, P.J. Neuvonen, J. Haukka, P. Panula, J. Ekelund // *Journal of Clinical Psychopharmacology*. – 2013. – Vol. 33(4). – P. 472–478.

120. Minet-Ringuet, J. Alterations of chronic olanzapine treatment / J. Minet-Ringuet, P. Even, P. Valet // *Mol. Psychiatry*. – 2007. – Vol. 12(6). – P.562–571.

121. Mocci, G. Expression of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in prefrontal cortex pyramidal neurons projecting to nucleus accumbens. Potential relevance for atypical antipsychotic action / G. Mocci, L. Jimenez-Sanchez, A. Adell, R. Cortes, F. Artigas // *Neuropharmacology*. – 2014. – Vol. 79. – P. 49–58.

122. Montagu, K.A. Catechol Compounds in Rat Tissues and in Brains of Different Animals / K.A. Montagu // *Nature*. – 1957. – Vol. 180. – P. 244.

123. Morozova, M.A. Treatment Response and GWAS Risk Allele rs2514218 (C) of the Dopamine D2 Receptor Gene in Inpatients with Schizophrenia / M.A. Morozova, T.V. Lezheiko, T.A. Lepilkina, D.S. Burminskiy, S.S. Potanin, A.G. Beniashvili, G.E. Rupchev, V.E. Golimbet // *Neuropsychobiology*. – 2022. – Vol. 81(2). – P. 149–155.

124. Moussouttas, M. Plasma catecholamine profile of subarachnoid hemorrhage patients with neurogenic cardiomyopathy / M. Moussouttas, E. Mearns, A. Walters // *Cerebrovasc Dis Extra*. – 2015. – Vol. 5. – P. 57–67.

125. Nasyrova, R.F. Single-Nucleotide Polymorphisms as Biomarkers of Antipsychotic-Induced Akathisia: Systematic Review / R.F. Nasyrova, E.E. Vaiman, V.V. Repkina, A.K. Khasanova, A.R. Asadullin, G.A. Shipulin, K.S. Altynbekov, M. Al-Zamil, M.M. Petrova, N.A. Shnayder // *Genes (Basel)*. – 2023. – Vol. 14(3). – P. 616.

126. Perkovic, N.M. Catechol-O-methyltransferase rs4680 and rs4818 haplotype association with treatment response to olanzapine in patients with schizophrenia / N.M. Perkovic, M. Sagud, M. Zivkovic, S. Uzun, G. Nedic Erjavec, O. Kozumplik, D. Svob Strac, N. Mimica, A. Mihaljevic Peles, N. Pivac // *Sci Rep*. – 2020. – Vol. 10(1). – P. 10049.

127. Numata, S. TGFBR2 gene expression and genetic association with schizophrenia / S. Numata, S. Ueno, J. Iga, K. Yamauchi, S. Hongwei, R. Hashimoto, ... T. Ohmori // *Journal of Psychiatric Research*. – 2008. – Vol. 42(6). – P. 425–432.

128. O'Donovan, M.C. Application and Interpretations Of Genomics In Schizophrenia / M.C. O'Donovan // Copenhagen: ECNP. – 2019.

129. Owen, M.J. Genomic findings in schizophrenia and their implications / M.J. Owen, S.E. Legge, E. Rees, J.T.R. Walters, M.C. O'Donovan // *Mol Psychiatry*. – 2023. – Vol. 28(9). – P. 3638–3647.

130. Pacheco, R. Targeting dopamine receptor D3 signalling in inflammation / R. Pacheco // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – P. 7224–7225.

131. Paderina, D.Z. The gender-specific association of DRD2 polymorphism with metabolic syndrome in patients with schizophrenia / D.Z. Paderina, A.S. Boiko, I.V. Pozhidaev, I.A. Mednova, A.A. Goncharova, A.V. Bocharova, O.Y. Fedorenko, E.G.

Kornetova, A.V. Semke, N.A. Bokhan, A.J.M. Loonen, S.A. Ivanova // *Genes (Basel)*. – 2022. – Vol. 13(8). – P. 1312

132. Panariello, F. Weigt gain, schizophrenia and antipsychotics: New findings from animal model and pharmacogenomic studies / F. Panariello, V. De Luca, A. de Bartolomeis // *Schizophrenia Research & Treatment*. – 2011. – P. 16.

133. Panula, P. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease / P. Panula, S. Nuutinen // *Nat Rev Neurosci*. – 2013. – Vol. 14(7). – P. 472–87.

134. Penedo, M.A. The role of dopamine receptors in lymphocytes and their changes in schizophrenia / M.A. Penedo, T. Rivera-Baltanás, D. Pérez-Rodríguez, J. Allen, A. Borrajo, D. Alonso-Crespo, C. Fernández-Pereira, M. Nieto-Araujo, S. Ramos-García, C. Barreiro-Villar, H.J. Caruncho, J.M. Olivares, and R.C. Agís-Balboa // *Brain Behav Immun Health*. – 2021. – Vol. 12. – P. 100199.

135. Proudman, R.G.W. The affinity and selectivity of  $\alpha$ -adrenoceptor antagonists, antidepressants, and antipsychotics for the human  $\alpha$ 1A,  $\alpha$ 1B, and  $\alpha$ 1D-adrenoceptors / R.G.W. Proudman, A.S. Pupo, J.G. Baker // *Pharmacol Res Perspect*. – 2020. – Vol. 8(4). – P. e00602.

136. Rees, E. Evidence that duplications of 22q11.2 protect against schizophrenia / E. Rees, G. Kirov, A. Sanders, J.T.R. Walters, K.D. Chambert, J. Shi, J. Szatkiewicz, C. O'Dushlaine, L. Richards, E.K. Green, I. Jones, G. Davies, S.E. Legge, J.L. Moran, C. Pato, M. Pato, G. Genovese, D. Levinson, J. Duan, W. Moy, H.H.H. Göring, D. Morris, P. Cormican, K.S. Kendler, F. O'Neill, B. Riley, M. Gill, A. Corvin, N. Craddock, P. Sklar, C. Hultman, P.F. Sullivan, P.V. Gejman, S.A. McCarroll, M.C. O'Donovan, M.J. Owen // *Mol. Psychiatry*. – 2014. – Vol. 19. – P. 37–40.

137. Réus, G.Z. The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders / G.Z. Réus, G.R. Fries, L. Stertz, M. Badawy, I.C. Passos, T. Barichello, F. Kapczinski, J. Quevedo // *Neuroscience*. 2015. – Vol. 300. – P. 141–54.

138. Sahoo, S. Metabolic syndrome in drug-naïve first-episode psychosis treated with atypical antipsychotics / Sahoo S., Ameen S., Akhtar S. // *Aust N Z J Psychiatry*. – 2007. – Vol. 41(7). – P. 629.

139. Sainz, J. Inflammatory and immune response genes have significantly altered expression in schizophrenia / J. Sainz, I. Mata, J. Barrera, R. Perez-Iglesias, I. Varela, M.J. Arranz, M.C. Rodriguez, B. Crespo-Facorro // *Mol Psychiatry*. – 2013. – Vol. 18(10). – P. 1056–7.

140. Scharfetter, J. Pharmacogenetics of dopamine receptors and response to antipsychotic drugs in schizophrenia - an update / J. Scharfetter // *Pharmacogenomics*. – 2004. – Vol. 5(6). – P. 691–8.

141. Schneider, M. Psychiatric Disorders From Childhood to Adulthood in 22q11.2 Deletion Syndrome: Results From the International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 Deletion Syndrome / M. Schneider, M. Debbané, A.S. Bassett, E.W.C. Chow, W.L.A. Fung, M.B.M. van den Bree, M. Owen, K.C. Murphy, M. Niarchou, W.R. Kates, K.M. Antshel, W. Fremont, D.M. McDonald-McGinn, R.E. Gur, E.H. Zackai, J. Vorstman, S.N. Duijff, P.W.J. Klaassen, A. Swillen, D. Gothelf, T. Green, A. Weizman, T. Van Amelsvoort, L. Evers, E. Boot, V. Shashi, S.R. Hooper, C.E. Bearden, M. Jalbrzikowski, M. Armando, S. Vicari, D.G. Murphy, O. Ousley, L.E. Campbell, T.J. Simon, S. Eliez // *Am. J. Psychiatry*. – 2014. – Vol. 171. – P. 627–639.

142. Seeman, P. Dopamine and schizophrenia / P. Seeman // *Scholarpedia*. – 2007. – Vol. 2(10). – P. 3634.

143. Seeman, P. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors / P. Seeman, T. Lee, M. Chau-Wong, K. Wong // *Nature*. – 1976. – Vol. 261. – P. 717–9.

144. Seeman, P. Human brain D1 and D2 dopamine receptors in schizophrenia, Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's diseases / P. Seeman, N.H. Bzowej, H.C. Guan, C. Bergeron, G.P. Reynolds, E.D. Bird, P. Riederer, K. Jellinger, W.W. Tourtellotte // *Neuropsychopharmacology*. – 1987. – Vol. 1(1). – P. 5–15.

145. Shariati, G.H. Dopamine Receptor Gene Expression Changes in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Schizophrenic Patients Treated with Haloperidol and

Olanzapine / G.H. Shariati, G. Ahangari, M.R. Asadi, F. Poyafard, H.R. Ahmadkhaniha // *European Journal of Inflammation*. – 2009. – Vol. 7(2). – P. 71–76.

146. Shariati, G.R. Expression changes of serotonin receptor gene subtype 5HT3a in peripheral blood mononuclear cells from schizophrenic patients treated with haloperidol and Olanzapin / G.R. Shariati, G. Ahangari, A. Hossein-nezhad, S.M. Asadi, F. Pooyafard, H.R. Ahmadkhaniha // *Iran J Allergy Asthma Immunol*. – 2009. – Vol. 8(3). – P. 135–139.

147. Siafis, S. Antipsychotic Drugs: From Receptor-binding Profiles to Metabolic Side Effects / S. Siafis, D. Tzachanis, M. Samara, G. Papazisis // *Curr Neuropharmacol*. – 2018. – Vol. 16(8). – P. 1210–1223.

148. Simpson, E.H. A possible role for the striatum in the pathogenesis of the cognitive symptoms of schizophrenia / E.H. Simpson, C. Kellendonk, E. Kandel // *Neuron*. – 2010. – Vol. 65. – P. 585–596.

149. Simpson, G.M. A rating scale for extrapyramidal side effects / G.M. Simpson, J.W.S. Angus // *Acta Psychiatrica Scandinavica*. – 1970. – Vol. 45. – №.S212. – P. 11–19.

150. Snyder, S.H. The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor / S.H. Snyder // *Am J Psychiatry*. 1976. – Vol. 133(2). – P. 197–202.

151. Speyer, H. Reversibility of Antipsychotic-Induced Weight Gain: A Systematic Review and Meta-Analysis / H. Speyer, C. Westergaard, N. Albert, M. Karlsen, A.E. Stürup, M. Nordentoft, J. Krogh // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2021. – Vol. 12. – P. 577919.

152. Stabell, L.A. Clinical insight among persons with schizophrenia spectrum disorders treated with amisulpride, aripiprazole or olanzapine: a semi-randomised trial / L.A. Stabell, E. Johnsen, R.A. Kroken, E.M. Løberg, A. Blindheim, I. Joa, S.K. Reitan, M. Rettenbacher, P. Munk-Jørgensen, R. Gjestad // *BMC Psychiatry*. – 2023. – Vol. 23(1). – P. 482.

153. Stenkrona, P. D1-Dopamine Receptor Availability in First-Episode Neuroleptic Naive Psychosis Patients / P. Stenkrona, G.J. Matheson, C. Halldin, S. Cervenka, L. Farde // *Int J Neuropsychopharmacol*. – 2019. – Vol. 22(7). – P. 415–425.

154. Swathy, B. Haloperidol induces pharmacoepigenetic response by modulating miRNA expression, global DNA methylation and expression profiles of methylation maintenance genes and genes involved in neurotransmission in neuronal cells / B. Swathy, M. Banerjee // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12(9). – P. e0184209.

155. Takahashi, H. Functional significance of central D1 receptors in cognition: beyond working memory / H. Takahashi, M. Yamada, T. Suhara // *J Cereb Blood Flow Metab*. – 2012. – Vol. (32). – P. 1248–1258.

156. Taraskina, A.E. Potential diagnostic markers of olanzapine efficiency for acute psychosis: a focus on peripheral biogenic amines / A.E. Taraskina, R.F. Nasyrova, A.M. Zabolina, D.N. Sosin, K.A. Sosina, E.E. Ershov, M.N. Grunina, E.M. Krupitsky // *BMC psychiatry*. – 2017. – Vol. 17(1). – P. 394.

157. Terzić, T. Genetic polymorphisms in dopaminergic system and treatment-resistant schizophrenia / T. Terzić, M. Kastelic, V. Dolžan, B.K. Plesničar // *Psychiatr Danub*. – 2016. – Vol. 28(2). – P. 127–31.

158. Togar, B. The genotoxic potentials of some atypical antipsychotic drugs on human lymphocytes / B. Togar, H. Turkez, A. Tatar, I. Kirkpinar, A. Hacimuftuoglu, F. Geyikoglu, M.S. Keles, E. Dirican // *Toxicol Ind Health*. – 2012. – Vol. 28(4). – P. 327–33.

159. Trubetskoy, V. Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia / V. Trubetskoy, A.F. Pardiñas, T. Qi, G. Panagiotaropoulou ... S. Ripke, J.T.R. Walters, M.C. O'Donovan; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium // *Nature*. – 2022. – Vol. 604(7906). – P. 502–508.

160. Tseng, K.Y. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia / K.Y. Tseng, R.A. Chambers, B.K. Lipska // *Behav Brain Res*. – 2009. – Vol. 204(2). – P. 295–305.

161. Urhan-Kucuk, M. Is the dopamine D3 receptor mRNA on blood lymphocytes help to for identification and subtyping of schizophrenia? / M. Urhan-Kucuk, M.E. Erdal, M.E. Ozen, S. Kul, H. Herken // *Mol Biol Rep*. – 2011. – Vol. 38(4). – P. 2569–2572.

162. Vaiman, E.E. Candidate Genes Encoding Dopamine Receptors as Predictors of the Risk of Antipsychotic-Induced Parkinsonism and Tardive Dyskinesia in Schizophrenic Patients / E.E. Vaiman, N.A. Shnayder, M.A. Novitsky, V.S. Dobrodeeva, P.S. Goncharova, E.N. Bochanova, M.R. Sapronova, T.E. Popova, A.A. Tappakhov, R.F. Nasyrova // *Biomedicines*. – 2021. – Vol. 9(8). – P. 879.

163. van den Brink, W.J. Access to the CNS: Biomarker Strategies for Dopaminergic Treatments / W.J. van den Brink, S. Palic, I. Köhler, E.C.M. de Lange // *Pharm Res*. – 2018. – Vol. 35(3). – P. 64.

164. van der Weide, J. D3 dopamine receptor mRNA expression in lymphocytes: a peripheral marker for schizophrenia? / J. van der Weide, L.S. W Steijns, M.A. van der Geld, P.A. de Groot // *Acta Neuropsychiatr*. – 2003. – 15(2). – P. 91–93.

165. Vehof, J. Association of genetic variants of the histamine H1 and muscarinic M3 receptors with BMI and HbA1c values in patients on antipsychotic medication / J. Vehof, A.J. Risselada, A.F. Al Hadithy, H. Burger, H. Snieder, B. Wilffert, J. Arends, L. Wunderink, H. Kneegtering, D. Wiersma, D. Cohen, H. Mulder, R. Bruggeman // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2011. – Vol. 216(2). – P. 257–65.

166. Vogel, C. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses / C. Vogel, E.M. Marcotte // *Nat. Rev. Genet*. – 2012. – Vol. 13. – P. 227–232.

167. Wang, Y. The -141C Ins/Del and Taq1A polymorphism in the dopamine D2 receptor gene may confer susceptibility to schizophrenia in Asian populations / Y. Wang, L. Liu, L. Xin, D. Fan, N. Ding, Y. Hu, G. Cai, L. Wang, Q. Xia, X. Li, X. Yang, Y. Zou, F. Pan // *J Clin Neurosci*. – 2016. – Vol. 30. – P. 1–7.

168. Warnica, W. Copy Number Variable MicroRNAs in Schizophrenia and Their Neurodevelopmental Gene Targets / W. Warnica, D. Merico, G. Costain, S.E. Alfred, J. Wei, C.R. Marshall, S.W. Scherer, A.S. Bassett // *Biol. Psychiatry*. – 2014. – Vol. 77. – P. 158–166.

169. Weinstein, J.J. Pathway-Specific Dopamine Abnormalities in Schizophrenia / J.J. Weinstein, M.O. Chohan, M. Slifstein, L.S. Kegeles, H. Moore, A. Abi-Dargham // *Biol. Psychiatry*. – 2017. – Vol. 81. – P. 31–42.

170. Winship, I.R. An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia / I.R. Winship, S.M. Dursun, G.B. Baker, P.A. Balista, L. Kandratavicius, J.P. Maia-de-Oliveira, J. Hallak, J.G. Howland // *Can J Psychiatry*. – 2019. – Vol. 64(1). – P. 5–17.

171. Wong, T.S. G protein-coupled receptors in neurodegenerative diseases and psychiatric disorders / T.S. Wong, G. Li, S. Li, W. Gao, G. Chen, S. Gan, M. Zhang, H. Li, S. Wu, Y. Du // *Signal Transduct Target Ther*. – 2023. – Vol. 8(1). – P. 177.

172. Wu, S. Histamine H1 Receptor in Basal Forebrain Cholinergic Circuit: A Novel Target for the Negative Symptoms of Schizophrenia? / S. Wu, C. Gao, F. Han, H. Cheng // *Neurosci Bull*. – 2022. – Vol. 38(5). – P. 558–560.

173. Wu, T.Y. Influence of antipsychotic medications on hyperlipidemia risk in patients with schizophrenia: evidence from a population-based cohort study and in vitro hepatic lipid homeostasis gene expression / T.Y. Wu, N. Tien, C.L. Lin, Y.C. Cheah, C.Y. Hsu, F.J. Tsai, Y.J. Fang, Y.P. Lim // *Front Med (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1137977.

174. Wysokiński, A. Expression of Dopamine D1-4 and Serotonin 5-HT1A-3A Receptors in Blood Mononuclear Cells in Schizophrenia / A. Wysokiński, E. Kozłowska, E. Szczepocka, A. Łucka, J. Agier, E. Brzezińska-Błaszczyk, K. Sobierajska // *Front Psychiatry*. – 2021. – Vol. 12. – P. 645081.

175. Upthegrove, R. Cytokine function in medication-naive first episode psychosis: a systematic review and meta-analysis / R. Upthegrove, N. Manzanares-Teson, N.M. Barnes // *Schizophr Res*. – 2014. – Vol. 155(1-3). – P. 101–108.

176. Yamamoto, K. Psychiatric symptoms of noradrenergic dysfunction: a pathophysiological view / K. Yamamoto, T. Shinba, M. Yoshii // *Psychiatry Clin Neurosci*. – 2014. – Vol. 68(1). – P. 1–20.

177. Zhang, J.P. D2 receptor genetic variation and clinical response to antipsychotic drug treatment: a meta-analysis / J.P. Zhang, T. Lencz, A.K. Malhotra // *Am J Psychiatry*. – 2010. – Vol. 167(7). – P. 763–72.

178. Zhang, J.P. Pharmacogenetics and Antipsychotics: Therapeutic Efficacy and Side Effects Prediction / J.P. Zhang and A.K. Malhotra // *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. – 2011. – Vol. 7(1). – P. 9–37.

179. Zhao, Y. Relationship between genetic polymorphisms in the DRD5 gene and paranoid schizophrenia in northern Han Chinese / Y. Zhao, M. Ding, H. Pang, X.M. Xu, B.J. Wang // *Genet. Mol. Res.* – 2014. – Vol. 13(1). – P. 1609–1618.