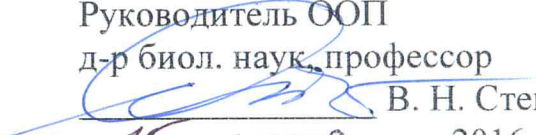


Министерство образования и науки Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
Институт биологии, экологии, почвоведения,
сельского и лесного хозяйства
Кафедра цитологии и генетики

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Руководитель ООП
д-р биол. наук, профессор

В. Н. Стегний
« 15 » июня 2016 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

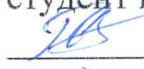
ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ
СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМОВ P-450 (CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19) И ГЕНА
БЕЛКА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ MDR1 С
РАЗВИТИЕМ ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННОЙ
ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

по основной образовательной программе подготовки магистров
направление подготовки 06.04.01 - Биология

Пожидаев Иван Вячеславович

Научный руководитель ВКР
д-р мед. наук, профессор

С. А. Иванова
подпись
« 15 » июня 2016 г.

Автор работы
студент группы №01011

И. В. Пожидаев
подпись

Томск-2016

АННОТАЦИЯ

Тема данной магистерской диссертации «Изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов системы цитохромов P-450 (CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19) и гена белка множественной лекарственной устойчивости (MDR1) с развитием лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией».

Одним из распространенных побочных эффектов антипсихотических препаратов является гиперпролактинемия, которая существенно снижает качество жизни пациентов, а также требует замены лекарственного средства или назначения корректирующих средств, что повышает стоимость лечения, и в целом затрудняет продолжение антипсихотической терапии.

Магистерская диссертация «Изучение ассоциаций полиморфных вариантов генов системы цитохромов P-450 (CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19) и гена белка множественной лекарственной устойчивости (MDR1) с развитием лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией» содержит таблиц – 3, использованных источников литературы – 116. Общий объем магистерской диссертации составляет 50 страниц. Структура работы представлена введением, обзором литературы, материалами и методами, результатами и обсуждением, выводами и списком литературы.

Практическая ценность магистерской диссертации заключается в том, что на основе проведенного исследования возможно разработать специализированные тесты, которые в перспективе могут быть востребованы в практическом здравоохранении для улучшения качества терапии.

В результате исследования были выявлены несколько ассоциаций полиморфных вариантов гена *MDR1* с развитием лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список условных сокращений	3
Введение	4
1 Литературный обзор	7
1.1 Шизофрения. Общий обзор психического заболевания	7
1.1.1 Этиология и патогенез шизофрении	7
1.1.2 Теории возникновения шизофрении	10
1.1.3 Генетика шизофрении	13
1.2 Особенности нейролептической терапии для лечения шизофрении	15
1.2.1 Гиперпролактинемия как побочный эффект применения нейролептиков	17
1.2.2 Влияние нейролептических препаратов на содержание пролактина в крови	19
1.3 Обзор исследуемых генов и их полиморфных вариантов	21
1.3.1 Система цитохромов Р-450 и полиморфные варианты CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19	21
1.3.2 Ген белка множественной лекарственной устойчивости MDR1	25
2 Материал и методы	27
2.1 Материал исследования	27
2.2 Выделение ДНК	28
2.3 Генотипирование по генам <i>CYP1A2</i> , <i>MDR1</i> , <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i>	30
2.4 Статистическая обработка полученных результатов	32
3 Результаты и обсуждение	33
Выводы	38
Список использованной литературы	39

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ГП – гиперпролактинемия

ПЦР–ОТ (PCR Real–Time) – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

CNV (Copy Number Variants) – вариация числа копий генов

CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19 – гены системы цитохромов P450

GWAS (Genome–Wide Association Studies) – Метод общегеномного скрининга ассоциаций

HRM (High Resolution Melt analysis) – метод кривой плавления высокого разрешения

MDR1 – Multiple Drug Resistance 1 (ген множественной лекарственной устойчивости 1)

Pgp – P–гликопротеин

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм

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

ВВЕДЕНИЕ

Для лечения шизофрении применяются нейролептические препараты, которые наряду с антипсихотическим действием, обладают спектром побочных нежелательных эффектов.

Основное число побочных эффектов атипичных антипсихотиков при их длительном использовании реализуется по нейроэндокринному механизму [Буланов В. С., 2004]. Одним из распространенных побочных эффектов этих препаратов является гиперпролактинемия, которая существенно снижает качество жизни пациентов, а также требует замены лекарственного средства или назначения корректирующих средств, что повышает стоимость лечения, и в целом затрудняет продолжение антипсихотической терапии.

Причем, несмотря на достаточно широкий спектр возникающих при терапии антипсихотиками пролактин-ассоциированных побочных эффектов, представленность гиперпролактинемии в статусе больных далеко не всегда коррелирует с уровнем пролактина в крови [Горобец Л. Н., 2008].

Несмотря на то, что о многих клинических признаках гиперпролактинемии известно давно, к настоящему моменту отсутствуют масштабные эпидемиологические исследования данной проблемы. Имеются лишь единичные данные, в которых частота встречаемости симптомов гиперпролактинемии при терапии нейролептиками колеблется в пределах от 3% до 90%.

Без терапии антипсихотиками уровень пролактина у больных шизофренией не отличается от такового в общей популяции (вне периода лактации) и варьирует от 1 до 25 нг/л [Kuruvilla A. et al., 1993]. В ряду доступных сегодня атипичных антипсихотиков максимально высокие показатели гиперпролактинемии выявляются при терапии рисперидоном (у женщин в предклимактерическом периоде, получающих рисперидон, зафиксировано повышение уровня пролактина до 100–200 нг/л).

Для повышения эффективности нейролептиков ведется поиск генетических маркеров эффективности, а для минимизации побочных эффектов – протективных маркеров. В результате фармакогенетических исследований по изучению роли полиморфных участков генов в формировании ответа на психотропные препараты и развитии побочных эффектов, вызванных этими препаратами у больных шизофренией, рядом зарубежных ученых идентифицированы гены (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *MDR1*, *RGS4*, *5HT2C*, *TPH1* и др.), которые могут быть вовлечены в разнообразие фенотипов, например таких как ответ на нейролептики или развитие неблагоприятных побочных эффектов (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *5HT2A*, *5HT2C*, *SLC6A3*, *CYP1A2*, *APOE*, *MnSOD*), вызванных нейролептиками. Полученные результаты противоречивы, что в первую очередь может быть объяснено величиной, а также этнической и половой гетерогенностью выборок.

P-гликопротеин (Pgp) обеспечивает защиту организма от ксенобиотиков, препятствуя их всасыванию и ускоряя выведение [Schwab et. al., 2003; Marzolini et. al., 2004]. Экспрессия *MDR1* у мужчин в 2,4 раза выше, чем у женщин. Этот феномен может определять зависимость фармакокинетики некоторых лекарственных средств от пола [Cummins L., 2002].

Цитохромы P-450 (*CYP 450*) – суперсемейство ферментов, которые катализируют окислительный метаболизм различных химических веществ, включая большинство лекарств. Один из них, фермент *CYP2D6*, вовлечен в реакции окисления около 30 различных лекарств, таких как бета-адренергик, антиаритмики, психотропные, антидиабетические лекарства.

Выявление клинико-биологических ассоциаций различных аллелей и генотипов позволит создать основу для разработки методов прогнозирования риска развития побочных эффектов у больных шизофренией, длительно получающих антипсихотики, и методов профилактики данных нарушений, что значительно увеличит качество жизни и долгосрочный прогноз у этих пациентов.

В качестве генов–кандидатов на роль ответственных за особенности антипсихотического эффекта нейролептиков рассматриваются гены системы цитохромов Р–450 *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2C19*, а также ген белка множественной лекарственной устойчивости *MDR1*.

Цель исследования: выяснение роли полиморфных вариантов генов *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2C19* и *MDR1* в патогенезе развития лекарственно–индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией.

Задачи исследования:

1. Провести генотипирование образцов ДНК пациентов с шизофренией с гиперпролактинемией и пациентов без гиперпролактинемии по изучаемым генам;

2. Выявить возможные ассоциации различных генотипов исследуемых генов системы цитохромов Р–450 *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2C19* с побочными эффектами от антипсихотической терапии у больных шизофренией;

3. Выявить возможные ассоциации различных генотипов исследуемого гена белка множественной лекарственной устойчивости *MDR1* с побочными эффектами от антипсихотической терапии у больных шизофренией.

Работа выполнена на базе ФГБУ НИИПЗ СО РАМН в отделе биологической психиатрии и наркологии, в лаборатории молекулярной генетики и биохимии под руководством заведующей – д-р. мед. наук, профессора С. А. Ивановой, в сотрудничестве с ИХБФМ СО РАМН г. Новосибирска в лаборатории фармакогеномики (заведующий лабораторией – канд. биол. наук М. Л. Филипенко), а также отделением Геномного Анализа Медицинского Центра университета Гронингена в Нидерландах (заведующий отделением – Pieter van der Vlies).

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Шизофрения. Общий обзор психического заболевания

1.1.1 Этиология и патогенез шизофрении

Шизофрения (от др.-греч. σχίζω – раскалываю и φρήν – ум, рассудок), ранее лат. Dementia praecox («слабоумие преждевременное») является полиморфным психическим расстройством или группой психических расстройств, связанных с распадом процессов мышления и эмоциональных реакций [Schizophrenia, Concise Medical Dictionary, 2010].

Такого же мнения придерживаются и Бородулин В. И. и Ланцман М. Н.: шизофрения – группа психических заболеваний неясной этиологии, в развитии которых некоторую роль играют, видимо, общие эндогенные механизмы и которые не проявляются до определенного периода жизни. Заболевание, как правило, приводит к формированию специфических изменений личности («шизофренический дефект психики» – замкнутость, эмоциональное обеднение, снижение активности, появление странностей в поведении, чужаковатость), которые создают больному сложности адаптации в обществе, снижают его трудоспособность, нередко ведут к инвалидности [Бородулин В. И., Ланцман М. Н., 2006].

Для шизофрении характерны сильные расстройства мышления и восприятия. Зачастую шизофрения проявляется в виде слуховых галлюцинаций, различного рода бред (параноидный или фантастический), полная дезорганизация речи и мышления. Всё это происходит на фоне ощутимой социальной изоляции и сниженной работоспособностью. Также Bleuler E. использовал множественное число, именуя болезнь шизофрениями [Bleuler E., 1911].

Общий риск заболевания, по данным исследований, составляет 0,4–0,6 % (4–6 случаев на 1000 человек) [E. M. Goldner et al., 2002; Bhugra D., 2006]. Также по данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) шизофренией болеют около 21 миллиона человек по всему миру, она не так сильно распространена, как прочие психические заболевания. На сегодняшний день шизофренией болеют около 12 миллионов мужчин и около 9 миллионов женщин (Шизофрения [Электронный ресурс] // Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). – 2016. – URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs397/en/>).

Исследования, проведенные на подобную тематику в 2002 году дали приблизительно такой же результат в 0,55% [E. M. Goldner et al., 2002].

В ходе исследований также было установлено, что шизофрения не имеет какой–либо гендерной предрасположенности, и мужчины и женщины подвержены ей в равной степени, однако у мужчин, как правило, начинается раньше, и основная заболеваемость приходится на 20–28 лет, в то время как у женщин она приходится на 26–32 года [Castle D. et al., 1991]. Достаточно редко шизофренией заболевают в раннем возрасте у детей [Kumra S. et al., 2001], и очень редки случаи возникновения её в среднем и пожилом возраста [Hassett A., Ames D., Chiu E., 2005].

Шизофрения также может приводить и к инвалидности. В 1999 году было проведено масштабное исследование, которое охватило 14 стран. Результатом стал такой факт, что активный психоз является более сильным фактором, приводящим к инвалидности, чем слепота, но чуть более слабым, чем полный паралич [Ustin T. B. et al., 1999].

Однако существуют убедительные доказательства, что болезнь протекает более сложно и многообразно, и не установлено никакой связи с постепенным возрастанием хронических дефектов [Тёлле Р., 1999; Абрамов В. А., Табачников С. И., Подкорытов В. С., 2004; Jobe T. H., Narrow M., 2005; Harrison G. et al., 2011; Zipursky R. B., Reilly T. J., Murray R. M., 2013].

Ранее существовала некоторая общая гипотеза, что шизофрения постоянно прогрессирует [Энн С. Д., Дж. Т. Койл, 2007; Zipursky R. B., Reilly T. J., Murray R. M., 2013], но на сегодняшний день большинство специалистов в данной области её не придерживаются, т.к. она абсолютно не подтверждена никакими методами нейровизуализации и исследованиями функций мышления и сознания [Zipursky R. B., Reilly T. J., Murray R. M., 2013], наблюдениями в клинических условиях и патоморфологическими данными [Энн С. Д., Дж. Т. Койл, 2007].

Этиология шизофрении до конца неизвестна. Скорее всего, шизофрения является гетерогенным расстройством, и очень немногие из обсуждаемых этиологических факторов являются характерными исключительно для нее. [Каплан Г. И., Сэдок Б. Дж., 1994]. Основной моделью, интегрирующей эти предположительные этиологические факторы, является модель предрасположенности к влиянию стрессов (stress model). Она постулирует, что субъект может иметь специфическое предрасположение (diathesis), которое, соприкасаясь с определенными стрессовыми влияниями окружающей среды, способствует развитию симптомов шизофрении [Каплан Г. И., Сэдок Б. Дж., 1994]. Фактор или компонент, связанный с влиянием окружающей среды, может быть биологическим (например, инфекция) или психологическим (например, ситуация в семье, вызывающая стресс, смерть близкого человека). Биологическая основа диатеза может быть затем подразделена на эпигенетические влияния, такие как злоупотребление некоторыми препаратами, психосоциальные стрессы или травмы. [Каплан Г. И., Сэдок Б. Дж., 1994]. До тех пор пока не будет обнаружен специфический этиологический фактор, обуславливающий шизофрению, модель предрасположенности к стрессу представляет собой наиболее приемлемый способ для обобщения имеющихся клинических данных и теорий [Каплан Г. И., Сэдок Б. Дж., 1994].

Патогенез шизофрении является достаточно сложным и, в большей степени, неясным, однако генетическая составляющая, условия жизни в ранний

период ребенка, психосоциальные взаимодействия, а также различные нейробиологические нарушения играют очень важную роль. В последнее время теории, связанные с нейробиологией получили наибольшее распространение и привлекли особый интерес ученых, но единой причины пока что не установлено.

На сегодняшний день очень сложно вычислить процент относительного генетического влияния и процент влияния окружающей среды. В качестве примера можно привести пересечение симптомов биполярного расстройства тяжелой формы и клинической депрессии, которые в своей сумме могут вызывать шизофренические расстройства, о чем говорят полученные данные в ходе недавних исследований [Harrison P. J., Owen M. J., 2003].

Также эти результаты подтверждают тезис, который гласит, что наследственный фактор играет здесь особую роль, но не главную, т.к. начальный период заболевания сильно зависит от факторов окружающей среды [Day R. et al., 1987].

1.1.2 Теории возникновения шизофрении

К настоящему времени у больных шизофренией выявлены многообразные патологические изменения разной степени постоянства и достоверности на нейрофизиологическом, биохимическом, анатомическом, клеточном уровнях. Однако сформулировать и убедительно обосновать концепцию патогенеза шизофрении не удается.

Из изменений биоэлектрической активности особенно часто обнаруживают угнетение альфа-ритма. Многочисленны гипотезы, объясняющие патогенез шизофрении с позиций нарушенного функционирования тех или иных нейромедиаторных систем (норадренергической, серотонинергической, ГАМК-ергической). Наибольшее распространение получила дофаминовая концепция, в соответствии с которой

усиление активности дофаминергической системы в одних структурах мозга и ее угнетение в других является ведущим или одним из ведущих патогенетических механизмов шизофрении.

Некоторые исследования показывают значительные изменения нескольких областей головного мозга при данном заболевании [Flashman L. A., Green M. F., 2004], в частности, у пациентов, которые показывали наиболее негативную симптоматику, имели увеличенные объемы желудочков мозга [Johnstone E. C. et al., 1976], что явно указывает на деградирование серого вещества.

Но всё также остаётся неясной этиология этих структурных изменений; убедительные доказательства нейротоксичности психоза также отсутствуют [Zipursky R. B., Reilly T. J., Murray R. M., 2013]. Не исключено, что регулярно выявляемые структурные изменения, прежде всего у пациентов с тяжёлыми формами заболевания и после длительного течения, могут быть связаны со вторичными процессами – например, возникать вследствие социальной изоляции либо вследствие массивной фармакотерапии [Мосолов С. Н., 2012]. Структуру мозга может трансформировать пролонгированная терапия антипсихотиками, согласно результатам недавних исследований [Molina V. et al., 2005; Moncrieff J., Leo J., 2010]. Структурные изменения отмечаются не только у пациентов с шизофренией, но и у некоторых лиц, страдающих аффективными расстройствами (расширение желудочков; уплощение борозд, свидетельствующее о снижении корковой массы) [Попов Ю. В., Вид В. Д., 1997].

Среди гипотез развития шизофрении старейшей и наиболее признанной является дофаминовая (Dopamine, DA) гипотеза. Она возникла благодаря клиническим наблюдениям и была эмпирически подтверждена действенностью антипсихотиков и более непосредственно – исследованиями. Первая формулировка DA–гипотезы представляла болезнь результатом гиперактивной DA–трансмиссии. Такой вывод был сделан на основании ранних наблюдений,

показавших, что психостимуляторы активируют дофаминовые рецепторы, нерезерпиновые нейролептики являются антагонистами дофамина, а сам дофамин играет важную роль в экстрапирамидальной моторной системе. Большая часть концептуальных свидетельств была представлена в ключевой публикации Арвида Карлссона, в которой говорилось о присутствии дофамина в мозге и о влиянии нейролептиков на индексы моноаминов [Carlsson A., Lindqvist M., 1963; Дофаминовая гипотеза шизофрении [Электронный ресурс] // Научно–образовательный сайт "Современные Нейронауки". – 2012. – URL: <http://www.neuroscience.ru/entry.php?b=25>].

Идея о глутаматергическом нарушении при шизофрении была впервые высказана Kim J. S. и коллегами в 1980 году [Kim J. S. et al., 1980] на основании обнаруженного ими снижения количества глутамата в спинномозговой жидкости больных шизофренией. Согласно глутаматной гипотезе шизофрении, болезнь характеризуется нарушением функций N–метил–D–аспартатных (NMDA) рецепторов.

Содержание серотонина в значительной мере зависит от активности его переносчика, который регулирует скорость обратного захвата серотонина в нейронах. Ген переносчика серотонина имеет в своей структуре полиморфные участки, различающиеся числом повторяющихся последовательностей. Особый интерес представляет участок в области, примыкающей к промотору (5–HTTLPR). Влияние полиморфизма 5–HTTLPR на состояние серотонинергической системы изучали как у здоровых людей, так и у больных некоторыми психическими и неврологическими заболеваниями [Anderson G. M. et al., 2002; Kaiser R. et al., 2002; Juhasz G. et al., 2003; Cross S. et al., 2008]. Однако результаты этих работ не позволяют сделать однозначный вывод о том, влияет ли генотип на биохимические показатели, связанные с обменом серотонина. Показано, что у больных шизофренией и здоровых лиц функциональное состояние серотонинергической системы достоверно различается [Iqbal N., van Praag H. M. 1995; Pivac N. et al., 1997]. Показатели

состояния серотониновой системы у больных варьируют в зависимости от ряда факторов, например, от клинических проявлений болезни, особенностей применяемых фармакологических средств [Брусов О. С. и др., 2007].

1.1.3 Генетика шизофрении

В настоящее время идет активный поиск генетических факторов, определяющих психические заболевания; тем не менее результаты в этой области всё еще очень скудны. На сегодняшний день превалирует гипотеза о генетической гетерогенности шизофрении [Загрянная М. В., Малашичев Е. Б., 2014]. Идентификация генов, связанных с шизофренией, затруднена по ряду причин:

- выявление слабого влияния генов требует анализа очень больших выборок, при этом различные комбинации аллелей могут проявляться по-разному;

- Аллели риска часто различаются между популяциями;

- Неоднородность клиники проявления шизофрении: существует гипотеза, что это – полиморфное расстройство или даже группа психических расстройств [Tamminga С. А., Holcomb Н. Н., 2005; Загрянная М. В., Малашичев Е. Б., 2014].

Для раскрытия роли генов в этиологии шизофрении используют несколько вариантов исследования:

- 1) Исследование сцепления (linkage study) [Иванов И. В., Ижевская В. Л., 2005; Загрянная М. В., Малашичев Е. Б., 2014] осуществляется путем выявления локусов хромосом, обнаруживающих неслучайное сцепление с болезнью в семьях высокого риска. Недостатком этого метода является его небольшое разрешение: выявленный участок хромосомы может содержать несколько миллионов пар оснований, а значит, тысячи генов [Paylor R. et al.,

2006; Shashi V. et al., 2006; Kobrynski L. J., Sullivan K. E., 2007; Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014].

2) Метод общегеномного скрининга ассоциаций genome-wide association studies (GWAS)– основан на использовании генетической карты гаплотипов человека HarMap в сочетании с техникой биочипов высокого разрешения. В результате исследований в геноме человека было установлено распределение тысяч полиморфных сайтов – однонуклеотидных замен (SNP) и созданы карты гаплотипов – устойчивых сочетаний вариаций SNP в пределах однонитевой (гаплоидной) последовательности ДНК [Горбунова В. Н., Баранов В. С., 1997; Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014]. Метод GWAS позволяет выявлять все SNP, достоверно сцепленные с тем или иным заболеванием. Точное положение каждого SNP на физической карте генома позволяет идентифицировать ген-кандидат и определять все аллельные варианты, ассоциированные с болезнью [Баранов В. С., 2009; Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014].

3) В отличие от метода GWAS, технология поиска изменения числа копий генов (copy number variants (CNVs)) позволяет обнаруживать множество редких вариантов – участков хромосомы с делециями или дупликациями длиной от 1000 до нескольких миллионов пар оснований [Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014]. В случае дупликации может появиться лишняя копия гена, а при делеции становится одной копией меньше и, следовательно, понижается или повышается уровень экспрессии гена [Голимбет В. Е., Корень Е. В., 2010; Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014]. В ряде исследований установлено, что CNV являются факторами риска для психических расстройств, в том числе шизофрении, умственной отсталости и аутизма [International Schizophrenia Consortium, 2008; Walsh T. et al., 2008; Xu B. et al., 2008; Pinto D. et al., 2010; Cooper G. M. et al., 2011; Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014]. Более того, некоторые конкретные CNV, кроме шизофрении, связаны с риском и других психоневрологических фенотипов: аутизма, синдрома дефицита внимания и

гиперактивности, а также эпилепсии [Burbach J. P., van der Zwaag B., 2009; Загривная М. В., Малашичев Е. Б., 2014].

1.2 Особенности нейролептической терапии при лечении шизофрении

На сегодняшний день нейролептическая терапия является наиболее эффективным средством в борьбе с шизофренией. Лечение больных шизофренией проводится в основном нейролептиками, которые нацелено, действуют на шизофренические расстройства и обладают широким спектром действия. Со времени открытия в 1952 г. антипсихотического действия хлорпромазина (мегафен) и следующих сильнодействующих нейролептиков прогноз шизофренических психозов стал много благоприятнее. Начиная с 1950–х гг. несколько нейролептических (антипсихотических) препаратов различной эффективности стали доступны для лечения острых состояний и долговременной (поддерживающей) терапии.

Термин «нейролептики» часто используют как название антипсихотических препаратов первого поколения – так называемых типичных (классических) антипсихотиков [Нейролептики // Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – Справочник Машковского on–line].

Возможные эффекты, которые могут проявиться при приёме большинства современных нейролептиков, а именно активирующий и растормаживающий, седативный или снотворный, ярко иллюстрируют факт наличия «антипсихотического порога», который показывает, что ниже этого порога нейролептики не работают по прямому назначению. Чтобы нейролептик начал действовать, необходимо, чтобы дофаминовые рецепторы были заблокированы хотя бы на 65%. Уровень пролактина резко повышается, когда блокируются более 72% рецепторов. Если же блокируются более 78%, тогда возникают уже экстрапирамидные нарушения [Farah A., 2005]. Таким образом, если D2–рецепторы заблокированы от 60% до 70% мы получаем эффект, называемый

«терапевтическое окно», который позволяет успешно применять нейролептики и также успешно избегать различных экстрапирамидных расстройств.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что внедрение в клиническую практику достижений в области фармакогенетики и фармакогеномики создает возможности для индивидуализации фармакотерапии [Середин С.Б., 2004]. Идентификация соответствующего аллельного варианта, обуславливающего изменение фармакокинетики и/или фармакодинамики лекарственного средства, позволяет скорректировать терапию (доза, кратность и путь введения, замена лекарственного средства и т.д.) и повысить ее эффективности и безопасность [Rothstein M., 2003; Середин С. Б., 2004; Сычев Д. А., 2004]. В настоящее время изучается полиморфизм генов, которые контролируют синтез и функцию ферментов, участвующих в метаболизме лекарственных средств, в частности изоферментов цитохрома Р-450 (*CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*) и ферментов II фазы биотрансформации ксенобиотиков [Woolf T., 1999]. Выявление аллельных вариантов некоторых из этих генов уже сейчас используется в клинической практике для индивидуализации фармакотерапии [Meyer U., 2000; McLeod H., Evans W., 2001]. В последние годы начато изучение влияния на фармакокинетику лекарственных средств полиморфизмов генов транспортеров органических анионов (*OATP-C*, *OAT-1*, *OAT-3*), катионов (*OCT-1*) и Р-гликопротеин (*MDR1*) [Sweet D., Bush K., Nigam S., 2001; Mizuno et. al., 2003].

Основное отличие атипичных антипсихотиков (нейролептиков второго поколения) от типичных заключается в том, что в терапевтических дозах они реже вызывают экстрапирамидные нарушения. Особенности их терапевтического действия обусловлены блокирующим влиянием как на серотониновые, так и на дофаминовые рецепторы в ЦНС [Kapur S. et al., 2000; Kapur S., Seeman P., 2000; Kapur S., Seeman P., 2001].

Выбор нейролептика определяется соотношением эффективности и вероятности побочных эффектов. Краткосрочная эффективность обычно

оценивается по уменьшению психических нарушений (продуктивной и негативной симптоматики) на протяжении 6–12 недель лечения. Этот показатель достаточно точен, однако следует иметь в виду, что устранение симптомов острого периода не гарантирует хорошей адаптации больного в дальнейшем, поэтому для оценки нейролептика необходимо учитывать его долгосрочную эффективность [Lehman A. F. et al., 2004].

Нейролептики способны усилить проявления шизофрении, в том числе возбуждение, негативную и продуктивную симптоматику и расстройства мышления [Tandon R., Jibson M. D., 2002], могут повышать риск развития других заболеваний [Nasrallah H. A., Mulvihill T., 2001; Marder S. R. et al., 2002]. Многие побочные эффекты переносятся больными крайне тяжело, нередко вынуждая их прекратить лечение [Van Putten T., 1974].

1.2.1 Гиперпролактинемия как побочный эффект применения нейролептиков

Одним из побочных эффектов антипсихотической терапии является гиперпролактинемия. Гиперпролактинемия, индуцированная лекарственными препаратами – наиболее частая разновидность повышения пролактина среди всех неопухолевых случаев гиперпролактинемии [Diagnosis and Treatment of Hyperprolactinemia, 2011; Юнилайнен О. А., Доровских И. В., 2013].

Нейролептики, в большинстве своём, чаще других лекарственных препаратов вызывают повышение уровня пролактина [Magharious W., Goff D. S., Amico E., 1998; Montejo A., 2008; Юнилайнен О. А., Доровских И. В., 2013].

Секреция пролактина аденогипофизом регулируется дофаминергическими нейронами гипоталамуса. Один из основных механизмов действия нейролептиков – блокада дофаминовых рецепторов головного мозга. За счёт блокады D2 рецепторов аденогипофиза нейролептики устраняют ингибирующее влияние дофамина на выработку пролактина [Wesselman U.,

Windgassen K., 1995; Юнилайнен О. А., Доровских И. В., 2013]. Ранее предполагалось, что причиной повышения уровня пролактина у пациентов с психическими расстройствами является нарушение обмена нейромедиаторов, обусловленное самим психическим расстройством. Однако, при исследовании уровня пролактина у пациентов с психическими расстройствами, не получающих медикаментозную терапию, показатели пролактина не отличались от таковых у здоровых лиц [Haddad P., Wieck A., 2004; Lee M. S. et al., 2010; Юнилайнен О. А., Доровских И. В., 2013].

Истинная распространённость гиперпролактинемии, ассоциированной с приёмом нейролептиков до сих пор не установлена. Существует мнение, что в литературе данный параметр очень занижен [Magharious W., Goff D. C., Amico E., 1998]. Всё зависит от обращаемости пациентов, так как зарегистрировать гиперпролактинемия возможно только в случае жалоб больного, принимающего нейролептики, и у которого зафиксировано характерное повышение пролактина. Однако нередко гиперпролактинемия, индуцированная нейролептиками протекает бессимптомно как у мужчин, так и у женщин. В частности, в исследовании E. Johnsen и со-авт. бессимптомное течение гиперпролактинемии отмечалось в 49% случаев [Johnsen E. et al., 2008].

В исследованиях достоверно показано, что мужчины реже страдают гиперпролактинемией, чем женщины, и к развитию данного побочного эффекта более предрасположены женщины репродуктивного возраста [Kinson V. et al., 2003; Aichhorn W. et al., 2007]. Однако же эти данные можно объяснить таким фактом, что у данной категории женщин гиперпролактинемия не проявляется никаким образом, т.е. например, не нарушает менструальный цикл, и, как следствие, женщина не обращается к врачу [Magharious W., Goff D. C., Amico E., 1998; Nakonezny P., Byerly M., Rush A., 2007]. Но в некоторых исследованиях проводилось скрининговое обследование пациенток репродуктивного и постменопаузального возраста – распространённость

гиперпролактинемии, ассоциированной с приемом нейролептиков у последних была ниже в 2,3 раза [Kinon B. et al., 2003].

Полученные современные данные позволили установить тот факт, что терапия нейролептиками является не только причиной гиперпролактинемии, но и может приводить к дисбалансу гормонов в гипоталамо-гипофизарной системе, а также влияет на выделение других гормонов [Мосолов С. Н., Кабанов С. О., 2003; Perkins D. O., 2003; Горобец Л. Н., 2007; Журтова И. Б., Усачева Е. Л., Румянцев А. Г., 2012].

В литературе также существует ряд работ, которые достоверно показывают, что дети в подростковом возрасте имеют более высокий шанс развития побочных эффектов от антипсихотиков [Pappagallo M., Silva R., 2004; Roke Y. et al., 2009; Varley C. K., McClellan J., 2009]. В базе данных медицинских исследований “PubMed” около 90 % работ о влиянии нейролептиков на метаболический профиль у детей и подростков посвящено изучению атипичных АПП, поскольку традиционные нейролептики в настоящее время используются в зарубежной медицине редко. Напротив, в российской детской психиатрической практике на сегодняшний день большая часть применяемых АПП относится к традиционным, что делает исследование актуальным [Журтова И. Б., Усачева Е. Л., Румянцев А. Г., 2012].

1.2.2 Влияние нейролептических препаратов на содержание пролактина в крови

Существуют литературные данные, которые показывают очень противоречивые результаты относительно уровня пролактина и влияния на него антипсихотиков [Wesselmann U., Windgassen K., 1995; Montgomery J. et al., 2004; Diagnosis and Treatment of Hyperprolactinemia, 2011]. Согласно большинству публикаций, гиперпролактинемия, ассоциированная с приемом нейролептиков чаще встречается при терапии типичными нейролептиками, чем

атипичными [Magharious W., Goff D. C., Amico E., 1998; Nakonezny P., Byerly M., Rush A., 2007]. В качестве исключений можно выделить такие лекарства, как амисульприд и рисперидон, т.к. частота возникновения гиперпролактинемии при их приёме в точности такая же, как и у типичных антипсихотиков [Magharious W., Goff D. C., Amico E., 1998]. Дофаминовые рецепторы очень прочно связывают типичные нейролептики всего лишь на протяжении суток.

По влиянию атипичных нейролептиков на уровень пролактина в литературе существует меньше данных, чем по типичным. С большой вероятностью можно утверждать, что лабораторные методы исследования пролактина недостаточно хорошо вплетены в клиническую практику, при достаточно широком применении типичных антипсихотиков.

Устойчивое повышение уровня пролактина характерно для пациентов, доля которых составляет примерно 40–90%, которые уже долгое время принимают бутифероны, а также фенотиазины [Magharious W., Goff D. C., Amico E., 1998; Montejo A., 2008]. Уровень пролактина у мужчин становился выше в 3,2 раза при приёме фенотиазинов. У женщин же этот показатель составлял в 3,8 раза выше начального уровня. Терапия тиоридазином приводит к более выраженной гиперпролактинемии (вплоть до 5–кратного повышения), чем лечение хлорпромазином или трифлуоперазином [Johnson G. F., Hunt G. E., 1980; Mir A. et al., 2008]. Атипичные антипсихотики в меньшей степени становятся причиной возникновения гиперпролактинемии, чем галоперидол, за исключением рисперидона и амисульприда [Kovacs L., Kovacs G., 2006].

В отличие от типичных, атипичные нейролептики блокируют D2 рецепторы на более короткий период, и через 24 часа после приёма большинство рецепторов свободно от нейролептика. Блокада дофаминовых рецепторов атипичными антипсихотиками происходила с перерывами, что позволило выяснить факт приведения пролактина к нормальному уровню спустя некоторое время [Serretti A., Chiesa A., 2011].

1.3 Обзор исследуемых генов и их полиморфных вариантов

1.3.1 Система цитохромов P-450 и полиморфные варианты *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2C19*

Цитохром P-450, в литературе часто обозначаемый CYP, представляет группу ферментов, осуществляющих не только метаболизм лекарственных средств и других ксенобиотиков, но и участвующих в синтезе глюкокортикоидных гормонов, желчных кислот, простаноидов (тромбоксана A₂, простаглицлина I₂), холестерина. Наибольшее количество цитохрома P-450 располагается в гепатоцитах. Однако цитохром P-450 обнаруживают и в других органах: в кишечнике, почках, лёгких, надпочечниках, головном мозге, коже, плаценте и миокарде. Важнейшее свойство цитохрома P-450 – способность метаболизировать практически все известные химические соединения.

Цитохром P-450 имеет множество изоформ – изоферментов. В настоящее время выделено более 1000 изоферментов цитохрома P-450. Изоферменты цитохрома P-450, по классификации Nebert D. W. (1987), принято разделять по гомологии нуклеотид/аминокислотной последовательности на семейства. В свою очередь, семейства подразделяют на подсемейства. Члены отдельных семейств, подсемейств и отдельные изоферменты цитохрома P-450 могут обладать перекрёстной субстратной специфичностью, а также иметь перекрёстные ингибиторы и индукторы. Содержание различных изоферментов цитохрома P-450 в печени человека, а также их вклад в окисление лекарственных средств различны. Некоторые изоферменты цитохрома P-450 обладают не только субстратной специфичностью, но и стереоспецифичностью.

Для нашего исследования наибольший интерес представляют цитохромы P-450 подсемейства CYP1D, которые будут рассмотрены далее. Изофермент 1A₂ цитохрома P-450 (*CYP1A2*) обнаруживают в основном в печени. В отличие от цитохрома *CYP1A1*, *CYP1A2* метаболизирует ряд лекарственных

средств (теофиллин, кофеин и другие препараты). В качестве маркерных субстратов для фенотипирования CYP1A2 используют фенацетин, кофеин и антипирин. CYP1A2 представляет собой белок, состоящий из 515 аминокислотных остатков, имеющих молекулярную массу 58 кДа. Ген CYP1A2 находится в 15 хромосоме, локусе 15q22-qter. CYP1A2 обнаруживается в основном в печени. Установлено, что полиморфизм 1-го интрона гена CYP1A2 (C-163A) приводит к изменению каталитической активности фермента и увеличению его индуцибельности. Данный полиморфизм встречается приблизительно у 33% представителей европейской популяции, у 49–57% африканцев и у 61% азиатов [Николаев В. М. и др., 2013].

В состав подсемейства цитохрома P-450 CYP11D входит единственный изофермент – 2D6 (CYP2D6). Изофермент цитохрома P-450 2D6 (CYP2D6) обнаруживают в основном в печени. CYP2D6 метаболизирует около 20% всех известных лекарственных препаратов, в том числе нейролептики, антидепрессанты, транквилизаторы, β -адреноблокаторы. Доказано: CYP2D6 – главный фермент биотрансформации и трициклического антидепрессанта амитриптилина. Однако, как показали исследования, незначительная часть амитриптилина метаболизируется и другими изоферментами цитохрома P-450 (CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4) до неактивных метаболитов. Дебризохин, декстрометорфан и спартеин – маркерные субстраты, используемые для фенотипирования изофермента 2D6. CYP2D6, в отличие от других изоферментов цитохрома P-450, не имеет индукторов.

Ген CYP2D6 обладает полиморфизмом. Еще в 1977 году Mahgoub A. с коллегами обратили внимание на различие гипотензивного эффекта у больных артериальной гипертензией, применявших дебризохин (препарат из группы α -адреноблокаторов) [Mahgoub A. et al., 1977]. В тот же момент была выдвинута гипотеза о флуктуациях скорости метаболических реакций дебризохина у различных людей. У «медленных» метаболитаторов дебризохина зарегистрировали наибольшую выраженность гипотензивного эффекта данного

препарата. В более поздних исследованиях было показано, у «медленных» метаболизаторов значительно снижен метаболизм других лекарственных средств, помимо дебризохина. Также было показано, что функционально дефектные полиморфные варианты гена CYP2D6 постоянно встречаются у «медленных» метаболизаторов, причем как у носителей гомозигот, так и гетерозигот. Результат этих вариантов – отсутствие синтеза CYP2D6 (аллельный вариант CYP2D6x5), синтез неактивного белка (аллельные варианты CYP2D6x3, CYP2D6x4, CYP2D6x6, CYP2D6x7, CYP2D6x8, CYP2D6x11, CYP2D6x12, CYP2D6x14, CYP2D6x15, CYP2D6x19, CYP2D6x20), синтез дефектного белка со сниженной активностью (варианты CYP2D6x9, CYP2D6x10, CYP2D6x17, CYP2D6x18, CYP2D6x36). С каждым годом растёт количество найденных аллельных вариантов гена CYP2D6 (их носительство приводит к изменению активности CYP2D6). Также несколько исследований показывают, что 95% всех «медленных» метаболизаторов по CYP2D6 – носители вариантов CYP2D6x3, CYP2D6x4, CYP2D6x5, остальные варианты обнаруживают гораздо реже. По данным Rau T. и соавт. (2004), частота аллельного варианта CYP2D6x4 среди пациентов, у которых наблюдали нежелательные лекарственные реакции на фоне приёма трициклических антидепрессантов (артериальная гипотензия, седативный эффект, тремор, кардиотоксичность), почти в 3 раза (20%) превышает таковую у пациентов, при лечении которых указанными препаратами осложнений не регистрировали (7%). Аналогичное влияние генетического полиморфизма CYP2D6 обнаружили и на фармакокинетику и фармакодинамику нейролептиков, в результате продемонстрировали наличие ассоциаций между носительством некоторых аллельных вариантов гена CYP2D6 и развитием индуцированных нейролептиками экстрапирамидных нарушений [Кукес В. Г. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты [Электронный ресурс]/ Под ред. В. Г. Кукеса. – 2009. – URL:

http://vmede.org/sait/?page=7&id=Farmakologija_klin_farm_kykes_2009&menu=FaFarmakologi_klin_farm_kykes_2009].

Также существует и другой цитохром системы P450 человека – CYP2C19. Он является одним из важных элементов в метаболизме различных лекарств, в частности ингибиторов протонной помпы (омепразол), разного рода антидепрессантов, типа диазепам, клопидогреля, вориконазола, талидомида, клоназепам и множества других [Danielson P. B., 2002; Кляритская И. Л., Работягова Ю. С., 2013].

К настоящему моменту в литературе имеются достоверные данные о зарегистрированных 21 аллеле, которые связаны с потерей активности ферментов (это аллели со 2-го и до 8-го). Аллели, связанные со снижением активности ферментов установлены (*9, *11, *13), а повышающий активность аллель записан под номером *17 [Sim S. C. et al., 2006; Кляритская И. Л., Работягова Ю. С., 2013].

Генетические, социальные, физиологические факторы, такие как возраст, питание, курение, прием алкоголя, различные болезни очень сильно влияют на активность ферментов цитохромов. Установлено, что эти факторы не только ответственны за различные лекарственные взаимодействия у пациентов, но и участвуют в формировании индивидуальных параметров работы ферментов цитохромов P-450 [Блюме Х. и др., 2009; Кляритская И. Л., Работягова Ю. С., 2013].

В литературе представлено множество данных о метаболизме и его скорости у пациентов, основываясь на которых можно выделить медленных метаболизаторов, промежуточных метаболизаторов, быстрых и сверхбыстрых метаболизаторов по цитохрому CYP2C19. Одними из самых распространенных аллелей с утратой функции для медленных метаболизаторов определены CYP2C19*2 и CYP2C19*3. Частота встречаемости аллелей с медленным метаболизмом CYP2C19*2 от 23 до 39% у азиатов, от 11 до 16% европейской и от 13 до 25%, у негроидной популяций. Частота CYP2C19 * 3 аллелей

составляет от 5 до 12% у азиатов и 2% у белокожих и чернокожих субъектов. На основании этих данных были установлены существенные расхождения в межэтническом распределении медленных метаболизаторов: например, от 2 до 5% у европейцев, от 4 до 7,5% у негроидов, от 13 до 20% в Восточной Азии, а также от 38 до 79% на тихоокеанских островах. Частота аллелей CYP2C19 * 17 (связанная с усилением функции) колеблется от 18 до 32,9% у европейцев, 4% в Эфиопии и 1,3% в Японии [Sim S. C. et al., 2006; Chaundry A. S., Kochhar R., Kohli K. K., 2008; Кляритская И. Л., Работягова Ю. С., 2013].

1.3.2 Ген белка множественной лекарственной устойчивости MDR1

Pgp человека кодируется геном MDR1, принадлежащим к семейству MDR, локализованным в хромосоме 7 (7q21.1). Семейство MDR включает два гена человека (MDR1 и MDR2) и три гена грызунов (mdr1, mdr2, mdr3). С помощью метода трансфекции показано, что лишь один ген человека (MDR1) и два гена грызунов имеют отношение к МЛУ. Мутации в некоторых сайтах гена MDR1 могут приводить к изменению профиля перекрестной устойчивости клеток, т.е. к изменениям в связывании определенных субстратов. Введение в клетки гена MDR2 к лекарственной устойчивости не приводило [Gros P., Buschman E., 1993].

Pgp – белок–переносчик с высокой специфичностью. Исследования *in vitro* показали, что спектр субстратов Pgp включает не только противоопухолевые препараты, но и препараты, используемые для реверсии множественной лекарственной устойчивости, флуоресцентные красители, стероидные гормоны [Bradley G., Ling V., 1994; Danielson P. B., 2002].

Pgp – крупный трансмембранный белок с молекулярной массой ~170 кДа, состоящий из двух одинаковых частей, каждая из которых включает шесть гидрофобных трансмембранных участков. Это позволяет считать, что молекула Pgp 12 раз пересекает плазматическую мембрану клетки. Молекула Pgp имеет

два сайта связывания с АТР, что свидетельствует об энергозависимости функционирования белка.

Субстратами Pgp являются многие широко применяемые лекарственные средства: сердечные гликозиды, блокаторы H₁-гистаминовых рецепторов, некоторые цитостатики, антиретровирусные препараты, антипсихотики и другие. Следует отметить, что многие лекарственные средства являются субстратами не только Pgp, но и изофермента цитохрома P-450 (*CYP3A4*) [Schwab et. al., 2003; Marzolini et. al., 2004].

Накопление любого вещества – субстрата Pgp снижено в клетках с повышенной функцией Pgp. Это вещество быстрее выходит из клеток с Pgp-множественной лекарственной устойчивости, ингибитор функции Pgp тормозит процесс выброса препарата [Egudina S.V. et al., 1993].

К множественной лекарственной устойчивости может приводить как изменение экспрессии гена MDR1, так и увеличение дозы гена – амплификация участка генома, содержащего ген MDR1 и еще пять или шесть сцепленных с ним генов [Borst P., 1991].

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1 Материал исследования

Исследование проводилось в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов (2000 г.). Проводили исследование после получения информированного согласия: в исследование включили 446 пациентов, этнически русских, из них 225 женщин и 221 мужчина, средний возраст $42,1 \pm 1,4$ (от 18 до 77 лет включительно) с диагнозом параноидной шизофрении в соответствии с диагностическими критериями МКБ–10.

В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Венозную кровь брали из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натощак в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. Полученную кровь использовали для выделения ДНК.

Определение содержания гормона пролактина в сыворотке крови проводилось в лаборатории молекулярной генетики и биохимии, а также оценка уровня пролактина в сыворотке крови проводилась иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител (границы нормальных значений: для мужчин – 96 – 456 мкМЕ/мл, для женщин – 127 – 637 мкМЕ/мл).

Генотипирование по генам *CYP1A2*, *MDR1* проводилось в учреждении геномного анализа, лаборатории генетики университета Гронингена, с использованием The MassARRAY® System by Agena Bioscience™. Контрольные измерения концентрации ДНК производили на приборе Thermo Scientific NanoDrop 8000 UV–Vis Spectrophotometers. Генотипирование по генам *CYP2D6*, *CYP2C19* проводилось в лаборатории фармакогеномики (заведующий – М. Л. Филипченко), институте Химической Биологии и Фундаментальной Медицины СО РАН г. Новосибирска.

2.2 Выделение ДНК

ДНК выделяли из лейкоцитов цельной периферической крови индивидов. Для получения ДНК использовался стандартный фенол–хлороформный микрометод. Обязательным условием являлась предварительная заморозка крови.

Состав растворов:

I. SLR

10 мл 2М TRIS (pH 7.6)

10 мл 1М MgCl₂

6,6 мл 3М NaCl

Довести объем дистиллированной водой до 2 литров.

II. SLB

10 мл 2М TRIS (pH 7.6)

50 мл 0.4М EDTA (ph 8)

34 мл 3М NaCl

Довести объем дистиллированной водой до 2 литров.

Ход работы:

1. Размороженную кровь аккуратно перемешать.
2. 0,5 мл крови перенести в эппендорф на 1,5 мл и добавить 0,5 мл SLR. Перемешать на вортексе, центрифугировать при +4⁰С 6 минут при 10000 об/мин, после чего осторожно слить супернатант.
3. Добавить 1 мл (до верха эппендорфа) SLR. Осадок разбить на вортексе. Центрифугировать 3 мин при 5000 об/мин при +4⁰С.
4. Слить супернатант и последнюю каплю снять фильтровальной бумагой.
5. Повторить пункты 4–5 пока осадок не приобретёт белый или бледно–розовый цвет (для относительно свежей крови), или грязно–красный цвет (для

крови, подвергшейся длительному хранению). Три раза по 3 мин при 5000 об/мин.

6. К осадку добавить 400 мкл SLB, тщательно разбить. Добавить по 40 мкл 10% SDS и 8 мкл протеиназы К. Аккуратно перемешать, переворачивая пробирку.

7. Инкубировать 3 часа при 56 °С. Для лучшего растворения время инкубации можно увеличить до 5 часов.

8. После инкубации пробирки охладить и внести в них по 200 мкл 6М NaCl и 500 мкл фенол/хлороформ/изоамиловый спирт смеси (25/24/1) и перемешивать в течение 8–10 мин. Это приводит к отделению ДНК от белков.

9. Центрифугировать 15 мин при 10000 об/мин. В результате образуется интерфаза, состоящая из белков.

10. Переместить водную фазу – раствор, содержащий ДНК – в чистый эппендорф.

11. К супернатанту в чистом эппендорфе добавить 0,5 мл охлажденного 96% спирта и центрифугировать 5 мин при 10000 об/мин.

12. Вращательными движениями накручиваем ДНК саму на себя.

13. Центрифугировать (чтобы ДНК осела на дно эппендорфа), спирт слить.

14. К осадку ДНК добавить 1 мл 70% спирта, перемешать и центрифугировать 30 сек. при 12000 об/мин.

15. Слить спирт, последнюю каплю снять фильтровальной бумагой, подсушить ДНК на воздухе 5–10 мин (до исчезновения запаха спирта).

16. Добавить 50 мкл H₂O и оставить на ночь при комнатной температуре для полного растворения ДНК.

Полученные образцы хранятся в морозильной камере при $t = -20$ °С. Из них готовится рабочий раствор ДНК с концентрацией 50–100 нг/мкл.

2.3 Генотипирование по генам *CYP1A2*, *MDR1*, *CYP2D6*, *CYP2C19*

Генотипирование по генам *CYP1A2*1F*, *MDR1* проводили с помощью The MassARRAY® Analyzer 4 by Agena Bioscience™, набором SEQUENOM Consumables iPLEX Gold 384. Для подготовки образцов к определению на SEQUENOM MassARRAY® Analyzer 4 проводили стандартную ПЦР–реакцию, для получения амплификата, далее проводили SAP–реакцию для нейтрализации неинкорпорированных дезоксинуклеотид–трифосфатов, затем проводили непосредственно реакцию iPLEX Gold. Далее образцы дозируются, раскапываются на специальный чип (SpectroCHIP Array) с помощью NanoDispenser RS1000 и загружаются в SEQUENOM MassARRAY® Analyzer 4 и анализируются с помощью MALDI–TOF масс–спектрометрии.

Генотипирование по генам *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* проводили с помощью полимеразной цепной реакции, которая является классическим методом амплификации *in vitro*: в течение нескольких часов можно выделить и размножить определенную последовательность ДНК в количестве, превышающем исходное в 10^8 раз. При амплификации с помощью ПЦР используют два олигонуклеотидных праймера (затравки), фланкирующие интересующий нас участок ДНК; процесс амплификации в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров с ДНК–полимеразой. Праймеры ориентированы таким образом, что синтез с помощью полимеразы протекает только между ними, удваивая количество копий этого участка ДНК. Амплификацию ДНК проводили в объеме реакционной смеси равной 8мкл. Смеси для постановки ПЦР содержали: 15 мкл праймеров и TaqMan зондов, dNTP 25 мМ 25 мкл, буфер C20N240 370 мкл, H₂O 2800 мкл, mTN8 полимеразы 4 мкл. Сверху наслаивали минеральное масло во избежание испарения смеси. Программа амплификации включала предварительную

денатурацию при 96°C в течение 15 минут и 50 секунд, с последующими 52 циклами, в конце каждого производился съём флуоресценции: денатурации – 8 с. при 96°C, 40с. отжига и элонгации при температуре 60°C, и затем завершающая стадия 30 сек. при 25°C.

Для детекции генотипов по *CYP2C19*3*, *CYP2C19*17* амплификацию ДНК проводили в объеме реакционной смеси равной 8мкл. Смеси для постановки ПЦР содержали: 24 мкл праймеров и TaqMan зондов, dNTP 25 mM 25 мкл, буфер C20N240 370 мкл, H₂O 2800 мкл, mTN8 полимеразы 4 мкл. Сверху наслаивали минеральное масло во избежание испарения смеси. Программа амплификации включала предварительную денатурацию при 96°C в течение 15 минут и 5 секунд, с последующими 50 циклами, в конце каждого производился съём флуоресценции: денатурации – 8 с. при 96°C, 40с. отжига и элонгации при температуре 58°C, и затем завершающая стадия 10 сек. при 25°C.

Чтобы определить генотипы для *CYP2C19*2* использовали HRM–метод (High Resolution Melt analysis). Это мощный метод молекулярной биологии, который позволяет выявлять мутации, полиморфизмы и эпигенетические различия в образцах с двуцепочечной ДНК. Смесь для постановки содержала следующие реагенты: 22 мкл праймеров и зондов, 15 мкл dNTP 25 mM, 370 мкл буфера C30N160, 2800 мкл H₂O, 4 мкл Klen–Taq полимеразы. Программа амплификации включала предварительную денатурацию при 96°C в течение 3 минут, с последующими 55 циклами, в конце каждого производился съём флуоресценции: денатурации – 10 с. при 96°C, 20с. отжига и элонгации при температуре 56°C, и затем завершающая стадия 10 секунд. Далее программа для HRM–метода: денатурация при 96°C в течение 30 секунд, затем 35°C в течение 30 секунд, и затем постепенное увеличение температуры на 0,5°C с задержкой на 5 секунд и съемом флуоресценции в конце каждого подобного увеличения.

2.4 Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 20.0. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ [Гланц С., 1999].

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже было определено ранее, гиперпролактинемия – сложный и достаточно тяжелый побочный эффект при лечении шизофрении. Исходя из полученных данных о содержании гормона пролактина в сыворотке крови все пациенты с шизофренией были разделены на две группы: с гиперпролактинемией (для женщин уровень пролактина должен быть более 25 нг/мл; для мужчин – более 20 нг/мл) и без гиперпролактинемии (для женщин уровень пролактина должен быть менее 25 нг/мл; для мужчин – менее 20 нг/мл).

Чтобы произвести вычисления, необходимо было пациентов с шизофренией разделить на 2 группы: пациентов, у которых наблюдалась гиперпролактинемия при приеме антипсихотических препаратов и пациентов, у которых её не наблюдалось.

Анализ генов системы цитохромов P-450 (*CYP1A2*1F*, *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3*, *CYP2C19*17*) и белка множественной устойчивости (*MDR1*) показал, что наблюдаемое распределение генотипов для всех изучаемых генов соответствует ожидаемому при равновесии Харди – Вайнберга.

Генотипирование по гену *CYP1A2*1F* между группами пациентов с гиперпролактинемией и без гиперпролактинемии не выявило статистически значимых ассоциаций по исследуемым полиморфным вариантам (*rs206952*: $\chi^2=1.326$, $p=0.249$; *rs762551*: $\chi^2=3.012$, $p=0.222$) (Таблица 1).

Таблица 1 – Сравнение частот генотипов цитохрома *CYP1A2*1F* между группами пациентов с гиперпролактинемией (ГП) и без гиперпролактинемии

Номер rs	Генотипы	Пациенты без ГП	Пациенты с ГП	χ^2	p
rs2069521	G/G	212	216	1.326	0.249

Продолжение таблицы 1

	G/A	6	11		
	A/A	0	0		
rs762551	C/C	35	26	0.610	0.737
	C/A	112	100		
	A/A	71	68		

Для полиморфного варианта *rs2069521* гена *CYP1A2*1F* обнаруживается полное отсутствие гомозиготного генотипа A/A в группе пациентов с гиперпролактинемией и без нее, в связи с тем, что данный генотип очень редко встречается в популяции.

Последующий анализ частот генотипов пациентов с гиперпролактинемией и без неё по цитохромам *CYP2D6*3* (*rs35742686*), *CYP2D6*4* (*rs3892097*), *CYP2C19*3* (*rs4986893*), *CYP2C19*17* (*rs12248560*), *CYP2C19*2* (*rs4244285*) также не выявил никаких статистически значимых результатов в пользу гипотезы принадлежности этих полиморфных вариантов к развитию лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнение частот генотипов цитохромов *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2C19*3*, *CYP2C19*17*, *CYP2C19*2* между группами пациентов с гиперпролактинемией и без гиперпролактинемии

Номер rs	Генотипы	Пациенты без ГП	Пациенты с ГП	χ^2	p
CYP2D6*3 (rs35742686)	A/A	209	216	0.263	0.608
	A/del	5	7		
	del/del	0	0		
CYP2D6*4 (rs3892097)	G/G	150	141	2.376	0.306
	G/A	57	74		
	A/A	7	8		

Продолжение таблицы 2

CYP2C19*3 (rs4986893)	A/A	7	5	0.482	0.487
	A/G	197	212		
	G/G	0	0		
CYP2C19*17 (rs12248560)	T/T	22	27	0.296	0.863
	T/C	65	69		
	C/C	117	121		
CYP2C19*2 (rs4244285)	G/G	157	166	0.023	0.988
	G/A	44	48		
	A/A	3	3		

Для *rs35742686* гена *CYP2D6*3* отсутствуют генотипы del/del. Это связано с тем, что данный генотип ответственен за делецию, которая приводит к тому, что продукт данного гена становится полностью неактивным. Также расписываешь, что для *rs4986893* гена отсутствуют генотипы G/G, так как носители данного генотипа являются медленными метаболизерами некоторых лекарств, и распространенность этого генотипа в популяции очень мала.

Заключительным этапом статистического анализа результатов было сравнение частот генотипов полиморфных вариантов гена белка множественной лекарственной устойчивости *MDR1* (*rs1045642*, *rs2032582*, *rs4148739*, *rs28401781*, *rs2235040*, *rs9282564*, *rs2235015*, *rs2032583*), которые представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Сравнение частот генотипов полиморфных вариантов гена белка множественной лекарственной устойчивости *MDR1*

Номер rs	Генотипы	Пациенты без ГП	Пациенты с ГП	χ^2	p
rs1045642	T/T	62	51	4.796	0.091

Продолжение таблицы 3

	T/C	106	102		
	C/C	31	48		
rs2032582	C/C	55	68	2.384	0.304
	C/A	99	97		
	A/A	45	36		
rs4148739	G/G	1	2	7.034	0.030
	G/A	30	51		
	A/A	168	148		
rs28401781	A/A	1	2	5.967	0.051
	A/G	25	43		
	G/G	173	156		
rs2235040	G/G	174	159	4.999	0.082
	G/A	24	40		
	A/A	1	2		
rs9282564	G/G	5	3	0.585	0.747
	G/A	48	47		
	A/A	146	151		
rs2235015	G/G	149	135	2.894	0.235
	G/T	46	61		
	T/T	4	5		
rs2032583	C/C	1	2	6.543	0.038
	C/T	25	44		
	T/T	173	155		

Анализ результатов эксперимента отражен в таблице 3, который показывает статистически значимые результаты для полиморфных вариантов rs4148739 ($\chi^2=7.034$, $p=0.030$) и для rs2032583 ($\chi^2=6.543$, $p=0.038$) гена белка

множественной лекарственной устойчивости *MDR1*, что позволяет судить о возможной ассоциации данных полиморфизмов с развитием лекарственно-индуцированной/нейролептической гиперпролактинемии.

Также по данным Rosenhagen M. C. и Uhr M. (2011) в своём исследовании показали, что некоторые полиморфные варианты данного гена, а именно *rs1045642*, *rs2032582*, и *rs2032583*, являются функциональными и оказывают влияние на доступ антидепрессантов и нейролептиков в мозг, в связи с чем могут оказывать влияние на эффективность терапии и побочные эффекты.

Учитывая всё вышесказанное, проблема диагностики и коррекции этого побочного эффекта, характерного как для типичных, так и для атипичных нейролептиков является крайне актуальной как на этапе купирования продуктивной симптоматики, так и в процессе длительного применения психотропных препаратов. До настоящего времени нет единого мнения, разработанных рекомендаций и принятых стандартов для врача-психиатра в случаях, когда у больных, принимающих антипсихотическую терапию, определяют повышенные показатели пролактина.

Необходимо заметить, что в различных источниках указаны противоречивые данные об ассоциациях изучаемых нами генов с развитием гиперпролактинемии на фоне антипсихотической терапии у пациентов с шизофренией. Гиперпролактинемия является сложным побочным эффектом, в основе которого могут лежать множество генетических и фармакокинетических факторов.

Таким образом, вопросы диагностики, профилактики и коррекции патологической нейролептической гиперпролактинемии у больных с психическими расстройствами требуют дальнейшей разработки и пристального внимания со стороны психиатров и эндокринологов, являясь междисциплинарной проблемой.

ВЫВОДЫ

1. Частотный анализ по генам системы цитохромов P-450 *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2C19* не выявил значимых ассоциаций с развитием гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией на фоне антипсихотической терапии.
2. Выявлена ассоциация полиморфного варианта rs4148739 гена *MDR1* с развитием гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией на фоне антипсихотической терапии ($\chi^2=7.034$, $p=0.030$).
3. Для варианта rs2032583 гена *MDR1* были получены статистически значимые результаты ($\chi^2=6.543$, $p=0.038$), что позволяет предположить участие данного полиморфного варианта в развитии гиперпролактинемии у больных шизофренией.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов В. А. Основы качественной психиатрической практики // В. А. Абрамов, С. И. Табачников, В. С. Подкорытов. – Донецк : Каштан, 2004. – 248 с.
2. Анализ ассоциации полиморфного варианта С–163А гена СYP1A2 у больных раком легкого в РС (я) / В. М. Николаев [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2013.
3. Баранов В. С. Геномика на пути к предиктивной медицине // Acta Naturae. – 2009. – № 11–12.
4. Бородулин В. И. Справочник: Болезни. Синдромы. Симптомы / В. И. Бородулин, М. Н. Ланцман. – М. : Мир, 2006. – 896 с.
5. Буланов В. С. Коррекция эндокринных дисфункций на примере пациентов, длительно принимающих рисперидон / В. С. Буланов // Материалы Российской конференции: Современные тенденции организации психиатрической помощи: клинические и социальные аспекты. – М. – 2004. – С. 211.
6. Генетика и эпигенетика шизофрении [Электронный ресурс] // НейроNEWS. Психоневрология и нейропсихиатрия. – Электрон. дан. – 2012. – № 6(41). – URL: <http://neuro.health-ua.com/page/genetika-i-epigenetika-shizofrenii> (дата обращения: 15.06.2016).
7. Гланц С. Медико–биологическая статистика: пер. с англ. / С. Гланц – М. : Практика, 1999. – 459 с.
8. Глутаматная гипотеза шизофрении [Электронный ресурс] // The Log of Copper Kettle. – Электрон. дан. – 2005. – URL: <http://copperkettle78.livejournal.com/20397.html> (дата обращения: 15.06.2016).
9. Голимбет В. Е. Вариации числа копий в геноме – новая страница в генетических исследованиях в области психиатрии: международный проект

PsychCNVs / В. Е. Голимбет, Е. В. Корень // Журн. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2010. – №. 1. – С. 107–109.

10. Горбунова В. Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В. Н. Горбунова, В. С. Баранов. – СПб. : Специальная литература, 1997. – 287 с.

11. Горобец Л. Н. Изменение массы тела у больных шизофренией и шизоаффективным расстройством в условиях длительной терапии атипичными антипсихотиками / Л. Н. Горобец // Журнал Неврологии и психиатрии. – 2008. – № 9. – С. 52–56.

12. Горобец Л. Н. Нейроэндокринные дисфункции и нейролептическая терапия / Л. Н. Горобец. – М., 2007. – 312 с.

13. Дофаминовая гипотеза шизофрении [Электронный ресурс] // Научно–образовательный сайт "Современные Нейронауки". – Электрон. дан. – 2012. – URL: <http://www.neuroscience.ru/entry.php?b=25> (дата обращения: 15.06.2016).

14. Журтова И. Б. Лекарственная гиперпролактинемия у детей и подростков, индуцированная терапией антипсихотическими препаратами / И. Б. Журтова, Е. Л. Усачева, А. Г. Румянцев // Фарматека. – 2012. – №3–12. – С. 67–71.

15. Иванов В. И. Геномика и этика / Геномика – медицине / Ред. В.И. Иванов, Л.Л. Киселёв. // И. В. Иванов, В. Л. Ижевская. – М. : Академкнига, 2005. – С. 349–360.

16. Каплан Г. И. Клиническая психиатрия / Г. И. Каплан, Б. Дж. Сэдок. – М. : Медицина, 1994. – 492 с.

17. Кляритская И. Л. Полиморфизм гена цитохрома CYP2C19 и клиническое значение его определения / И. Л. Кляритская, Ю. С. Работягова // Крымский терапевтический журнал. – 2013. – №1. – С. 19–26.

18. Крепелин Э. Введение в психиатрическую клинику / Э. Крепелин; Послесл. С. А. Овсянников. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. – 493 с.

19. Мосолов С. Н. Актуальные дискуссионные вопросы диагностики, классификации, нейропатологии, патогенеза и терапии шизофрении // Биологические методы терапии психических расстройств (доказательная медицина – клинической практике) / Под ред. С.Н. Мосолова. – М. : Социально–политическая мысль, 2012. – С. 61–101.
20. Мосолов С. Н. Метаболические нарушения при антипсихотической терапии / С. Н. Мосолов, С. О. Кабанов // Соц. и клин. психиатрия. – 2003. – Т. 13, вып. 2. – С. 162–172.
21. Попов Ю. В. Современная клиническая психиатрия / Ю. В. Попов, В. Д. Вид. – М. : Экспертное бюро, 1997. – 496 с.
22. Связь между показателями состояния серотониновой системы тромбоцитов и клиническими признаками психоза у больных приступообразно–прогредиентной шизофренией / О. С. Брусов [и др.] // Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2007. – № 107. – С. 17–24.
23. Середенин С. Б. Лекции по фармакогенетике. – М. : МИА. – 2004. – 303 с.
24. Сычев Д. А. Клиническая фармакогенетика. Клиническая фармакология под ред. Кукеса В. Г. – М. : Геотар–Мед. – 2004.
25. Тёлле Р. Психиатрия с элементами психотерапии / Пер. с нем. Г. А. Обухова. – Минск: Вышэйшая школа, 1999. – 496 с.
26. Фармакокинетические лекарственные взаимодействия с участием ингибиторов протонной помпы / Х. Блюме [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, № 9. – С. 622–631.
27. Фармакотерапия в неврологии и психиатрии: [Пер. с англ.] / Под ред. С. Д. Энна и Дж. Т. Койла. – Москва: ООО: «Медицинское информационное агентство», 2007. – 800 с.
28. Шизофрения [Электронный ресурс] // Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). – Электрон. дан. – 2014. – URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs397/en/> (дата обращения: 15.06.2016).

29. Юнилайнен О. А. Гиперпролактинемия, ассоциированная с приемом нейролептиков / О. А. Юнилайнен, И. В. Доровских // Социальная и клиническая психиатрия. – 2013. – Т. 23, № 1. – С. 100–106.
30. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants / S. C. Sim [et al.] // Clin. Pharmacol. Ther. – 2006. – Vol. 79. – P. 103–113.
31. A copy number variation morbidity map of developmental delay / G. M. Cooper [et al.] // Nat. Genet. – 2011. – Vol. 43. – P. 838–846.
32. A positron emission tomography study of quetiapine in schizophrenia: a preliminary finding of an antipsychotic effect with only transiently high dopamine D2 receptor occupancy / S. Kapur [et al.] // Arch. Gen. Psychiatry. – 2000. – Vol. 57. – P. 553–559.
33. A study on serum prolactin levels in schizophrenia: correlation with positive and negative symptoms / A. Kuruvilla [et al.] // Int. Clin. Psychopharmacol. – 1993. – Vol. 8. – P. 177–179.
34. Antipsychotic– induced hyperprolactinemia: a cross–sectional survey / E. Johnsen [et al.] // J. Clin. Psychopharmacol. – 2008. – Vol. 28, № 6. – P. 686–690.
35. Antipsychotic medication in children and adolescents: a descriptive review of the effects on prolactin level and associated side effects / Y. Roke [et al.] // J. Child Adolescent Psychopharmacol. – 2009. – Vol. 19, № 4. – P. 403–414.
36. Bhugra D. The global prevalence of schizophrenia // PLoS Medicine. – 2006. – Vol. 2, № 5. – P. 372–373.
37. Bleuler E. Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien // Handbuch der Psychiatrie. – 1911. – Erstdruck. – Leipzig und Wien : F. Deuticke.
38. Borst P. Genetic Mechanisms of Drug Resistance: A Review // Acta. Oncol. – 1991. – Vol. 30. – P. 87–101.
39. Bradley G. P–glycoprotein, multidrug resistance and tumor progression / G. Bradley, V. Ling // Cancer and Metast. reviews. – 1994. – Vol. 13. – P. 223–233.

40. Burbach J. P. Contact in the genetics of autism and schizophrenia / J. P. Burbach, B. van der Zwaag // *Trends Neurosci.* – 2009. – Vol. 32, № 2. – P. 69–72.
41. Carlsson A. Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain / A. Carlsson, M. Lindqvist // *Acta. Pharmacol. Toxicol.* – 1963. – Vol. 20. – P. 140–144.
42. Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia / E. C. Johnstone [et al.] // *The Lancet.* – 1976. – Vol. 2. – P. 924–926.
43. Change in sexual dysfunction with aripiprazole: a switching or add-on study / A. Mir [et al.] // *J. Psychopharmacol.* – 2008. – Vol. 22, № 3. – P. 244–253.
44. Chaudhry A. S. Indian Genetic polymorphism of CYP2C19 and therapeutic response to proton pump inhibitors / A. S. Chaundry, R. Kochhar, K. K. Kohli // *J. Med. Res.* – 2008. – Vol. 127. – P. 521–530.
45. Childhood-onset schizophrenia: research update / S. Kumra [et al.] // *Canadian Journal of Psychiatry.* – 2001. – Vol. 46, № 10. – P. 923–930.
46. Cognitive correlates of a functional COMT polymorphism in children with 22q11.2 deletion syndrome / V. Shashi [et al.] // *Clin. Genet.* – 2006. – Vol. 69, № 3. – P. 234–238.
47. Correlation between serotonin uptake in human bloodplatelets with the 44bp polymorphism and the 17bp variable number of tandem repeat of the serotonin transporter / R. Kaiser [et al.] // *Am. J. Med. Genet.* – 2002. – Vol. 114. – P. 323–328.
48. Cross S. Molecular genetics of the platelet serotonin system in first-degree relatives of patients with autism / S. Cross [et al.] // *Neuropsychopharmacol.* – 2008. – Vol. 33. – P. 353–360.
49. Cummins L. Sex-related differences in the clearance of cytochrome P450 3A4 substrates may be caused by P-glycoprotein // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2002. – Vol. 75. – P. 56.

50. CYP2D6 Genotype: Impact on Adverse Effects and Nonresponse During Treatment with Antidepressants—a Pilot Study / Rau T. [et al.] // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. – 2004. – Vol. 75, № 5. – P. 386–393.

51. Danielson P. B. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans // *Curr. Drug Metab.* – 2002. – Vol. 3, № 6. – P. 561–597.

52. Despite the general correlation of the serotonin transporter gene regulatory region polymorphism (5-HTTLPR) and platelet serotonin concentration, lower platelet serotonin concentration in migraine patients is independent of the 5-HTTLPR variants / G. Juhasz [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2003. – Vol. 350. – P. 56–60.

53. Diagnosis and Treatment of Hyperprolactinemia: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96. – P. 273–288.

54. Differences between men and women in side effects of second-generation antipsychotics / W. Aichhorn [et al.] // *Nervenarzt*. – 2007. – Vol. 78, № 1. – P. 45–52.

55. Early steps of the P-glycoprotein expression in cell cultures studied with vital fluorocliome / S. V. Egudina [et al.] // *FEBS Lett.* – 1993. – Vol. 329. – P. 63–66.

56. Effect of bromocriptine on antipsychotic drug-induced hyperprolactinemia: Eight-week randomized, single-blind, placebo-controlled, multicenter study / M. S. Lee [et al.] // *Psychiatr. Clin. Neurosci.* – 2010. – Vol. 64, № 1. – P. 19–27.

57. Farah A. Atypicality of atypical antipsychotics // *Prim Care Companion J. Clin. Psychiatry*. – 2005. – Vol. 7, № 6. – P. 268–274.

58. Flashman L. A. Review of cognition and brain structure in schizophrenia: profiles, longitudinal course, and effects of treatment / L. A.

Flashman, M. F. Green // *Psychiatric Clinics of North America*. – 2004. – Vol. 27, № 1. – P. 1–18.

59. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders / D. Pinto [et al.] // *Nature*. – 2010. – Vol. 466. – P. 368–372.

60. Gros P. The mouse multidrug resistance gene family: structure and functional analysis / P. Gros, E. Bushcman // *Int. Rev. Cytol.* – 1993. – Vol. 137C. – P. 169–197.

61. Haddad P. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia: mechanisms, clinical features and management / P. Haddad, A. Wieck // *Drugs*. – 2004. – Vol. 64, № 20. – P. 2291–2314.

62. Harrison P. J. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications / P. J. Harrison, M. J. Owen // *The Lancet*. – 2003. – Vol. 361. – P. 417–419.

63. Hassett A. *Psychosis in the Elderly* / A. Hassett, D. Ames, E. Chiu // London: Taylor and Francis. – 2005.

64. Hyperprolactinemia in response to antipsychotic drugs: characterization across comparative clinical trials / B. Kinon [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2003. – Vol. 28, Suppl. 2. – P. 69–82.

65. Iqbal N. The role of serotonin in schizophrenia / N. Iqbal, H. M. van Praag // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 1995. – 5 Suppl. – P. 11–23.

66. Impact of drug transporter studies on drug discovery and development / N. Mizuno [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – Vol. 55. – P. 425–461.

67. Increase in gray matter and decrease in white matter volumes in the cortex during treatment with atypical neuroleptics in schizophrenia / V. Molina [et al.] // *Schizophrenia Research*. – 2005. – Vol. 80, № 1. – P. 61–71.

68. International Schizophrenia Consortium: Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia // *Nature*. – 2008. – Vol. 455. – P. 237–241.

69. Jobe T. H. Long-term outcome of patients with schizophrenia: a review / T. H. Jobe, M. Harrow // *Canadian Journal of Psychiatry*. – 2005. – Vol. 50, № 14. – P. 892–900.
70. Johnson G. F. The effect of thioridazine on prolactin levels in acutely schizophrenic patients: challenge-dose and steady-state levels / G. F. Johnson, G. E. Hunt // *Aust. NZ J. Psychiatry*. – 1980. – Vol. 14, № 2. – P. 127–131.
71. Kapur S. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors: implications for atypical antipsychotic action / S. Kapur, P. Seeman // *J. Psychiatry Neurosci*. – 2000. – Vol. 25. – P. 161–166.
72. Kapur S. Does fast dissociation from the dopamine D(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis / S. Kapur, P. Seeman // *Am. J. Psychiatry*. – 2001. – Vol. 158. – P. 360–369.
73. Kobrynski L. J. Velocardiofacial syndrome, DiGeorge syndrome: the chromosome 22q11.2deletion syndromes / L. J. Kobrynski, K. E. Sullivan // *The Lancet*. – 2007. – Vol. 370, № 9596. – P. 1443–1452.
74. Kovacs L. Endocrine side effects among psychiatric patients treated with antipsychotics / L. Kovacs, G. Kovacs // *Neuropsychopharmacol. Hung.* – 2006. – Vol. 8, № 2. – P. 61–66.
75. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia / J. S. Kim [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 1980. – Vol. 20, № 3. – P. 379–382.
76. M. Rothstein Willyliss *Pharmacogenomics*. Ed. : M.Rothstein Willyliss. – New Jersey. – 2003. – 368 p.
77. Magharious W. Relationship of gender and menstrual status to symptoms and medication side effects in patients with schizophrenia / W. Magharious, D. C. Goff, E. Amico // *Psychiatry Res.* – 1998. – Vol. 27, № 3. – P. 159–166.

78. McLeod H. Pharmacogenomics: unlocking the human genome for better drug therapy / H. McLeod, W. Evans // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2001. – Vol. 41. – P. 101–121.
79. Meyer U. Pharmacogenetics and adverse drug reactions // *Lancet.* – 2000. – Vol. 356. – P. 1667–1671.
80. Moldin S. O. Genes, Experience, and Chance in Schizophrenia—Positioning for the 21st Century / S. O. Moldin, I. I. Gottesman // *Schizophrenia Bulletin.* – Vol. 23, № 4. – P. 547–561.
81. Moncrieff J. A systematic review of the effects of antipsychotic drugs on brain volume / J. Moncrieff, J. Leo // *Psychol. Med.* – 2010. – P. 1–14.
82. Montejo A. Prolactin awareness: An essential consideration for physical health in schizophrenia // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2008. – Vol. 18. – P. 109–115.
83. Multiple–informant ranking of the disabling effects of different health conditions in 14 countries / the WHO/NIH Joint Project CAR Study Group, T. B. Ustin [et al.] // *The Lancet.* – 1999. – Vol. 354. – P. 111–115.
84. Nakonezny P. The relationship between serum prolactin level and sexual functioning among male outpatients with schizophrenia or schizoaffective disorder: a randomized double–blind trial of risperidone vs. quetiapine / P. Nakonezny, M. Byerly, A. Rush // *J. Sex Marital Ther.* – 2007. – Vol. 33, № 3. – P. 203–216.
85. Nasrallah H. A. Iatrogenic disorders associated with conventional vs atypical antipsychotics / H. A. Nasrallah, T. Mulvihill // *Ann. Clin. Psychiatry.* – 2001. – Vol. 13. – P. 215–227.
86. Nebert D. W. P450 Genes: Structure, Evolution, and Regulation / D. W. Nebert, F. J. Gonzalez // *Annual Review of Biochemistry.* – 1987. – Vol. 56. – P. 945–993.
87. Pappagallo M. The effect of atypical antipsychotic agents on prolactin levels in children and adolescents / M. Pappagallo, R. Silva // *J. Child Adolescent Psychopharmacol.* – 2004. – Vol. 14, № 3. – P. 359–371.

88. Perkins D. O. Prolactin and Endocrine-Related Disorders in Schizophrenia. *Medical Illness and Schizophrenia* / Ed. by J.M. Meyer and H.A. Nasrallah // *Am. Psychiatr. Publ.* – 2003. – Washington, London. – P. 215–232.
89. Pivac N. Platelet 5-HT levels and hypothalamic pituitary-adrenal axis activity in schizophrenic patients with positive and negative symptoms / N. Pivac, D. Mück-Šeler, M. Jakovljevi // *Neuropsychobiology.* – 1997. – Vol. 36. – P. 19–21.
90. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man / Mahgoub A. [et al.] // *The Lancet.* – 1977. – Vol. 310, № 8038. – P. 584–586.
91. Polymorphisms in human MDRI (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance / C. Marzolini [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2004. – Vol. 75. – P. 13–33.
92. Practice Guideline for the Treatment of Patients With Schizophrenia (2ed) / Lehman A. F. [et al.] // *American Psychiatric Association.* – 2004. – №2/3. – P. 83–112.
93. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: a systematic review of the literature / E. M. Goldner [et al.] // *Canadian Journal of Psychiatry.* – 2002. – Vol. 47, № 9. – P. 833–843.
94. Prevalence of hyperprolactinemia in schizophrenia: association with typical and atypical antipsychotic treatment / J. Montgomery [et al.] // *J. Clin. Psychiatry.* – 2004. – Vol. 65, № 11. – P. 1491–1498.
95. Prevalence of hyperprolactinemia in schizophrenic patients treated with conventional antipsychotic medications or risperidone / B. Kinon [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* – 2003. – Vol. 28, Suppl. 2. – P. 55–68.
96. Prolactin levels and adverse events in patients treated with risperidone / D. Kleinberg [et al.] // *J. Clin. Psychopharmacol.* – 1999. – Vol. 19, № 1. – P. 57–61
97. Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia / T. Walsh [et al.] // *Science.* – 2008. – Vol. 320. – P. 539–543.

98. Recovery from psychotic illness: a 15- and 25-year international follow-up study / G. Harrison [et al.] // *Br. J. Psychiatry.* – 2011. – Vol. 178. – P. 506–517.
99. Rosenhagen M. C. The clinical impact of ABCB1 polymorphisms on the treatment of psychiatric diseases / M. C. Rosenhagen, M. Uhr // *Curr. Pharm. Des.* – 2011. – Vol. 17, № 26. – P. 2843–2851.
100. Schizophrenia // *Concise Medical Dictionary.* – Oxford University Press. – 2010.
101. Schwab M. Genetic polymorphisms of the human MDRI drug transporter / M. Schwab, M. Eichelbaum, M. F. Fromm // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2003. – Vol. 43. – P. 285–307.
102. Serotonin transporter promoter variants in autism: functional effects and relationship to platelet hyperserotonemia / G. M. Anderson [et al.] // *Mol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 7. – P. 831–836.
103. Serretti A. A meta-analysis of sexual dysfunction in psychiatric patients taking antipsychotics / A. Serretti, A. Chiesa // *Int. Clin. Psychopharmacol.* – 2011. – Vol. 26, № 3. – P. 130–140.
104. Stressful life events preceding the acute onset of schizophrenia: a cross-national study from the World Health Organization / R. Day [et al.] // *Culture, Medicine and Psychiatry.* – 1987. – Vol. 11, № 2. – P. 123–205.
105. Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia / B. Xu [et al.] // *Nat. Genet.* – 2008. – Vol. 40. – P. 880–885.
106. Sweet D. The organic anion transporter family: from physiology to ontogeny and the clinic / D. Sweet, K. Bush, S. Nigam // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2001. – Vol. 281. – P. 197–205.
107. Tamminga C. A. Phenotype of schizophrenia: a review and formulation / C. A. Tamminga, H. H. Holcomb // *Mol. Psychiatry.* – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 27–39.

108. Tandon R. Extrapyramidal side effects of antipsychotic treatment: scope of problem and impact on outcome / R. Tandon, M. D. Jibson // *Ann. Clin. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 14. – P. 123–129.
109. Tbx1 haploinsufficiency is linked to behavioral disorders in mice and humans: implications for 22q11 deletion syndrome / R. Paylor [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2006. – Vol. 103, № 20. – P. 7729–7734.
110. The incidence of operationally defined schizophrenia in Camberwell 1965–84 / D. Castle [et al.] // *British Journal of Psychiatry.* – 1991. – Vol. 159. – P. 790–794.
111. The Mount Sinai conference on the pharmacotherapy of schizophrenia / S. R. Marder [et al.] // *Schizophr. Bull.* – 2002. – Vol. 28. – P. 5–16.
112. Van Putten T. Why do schizophrenic patients refuse to take their drugs? // *Arch. Gen. Psychiatry.* – 1974. – Vol. 31. – P. 67–72.
113. Varley C. K. Implications of marked weight gain associated with atypical antipsychotic medications in children and adolescents / C. K. Varley, J. McClellan // *J. Am. Med. Associat.* – 2009. – Vol. 302, № 16. – P. 1811–1812.
114. Wesselmann U. Galactorrhea: subjective response by schizophrenic patients / U. Wesselmann, K. Windgassen // *Acta Psychiatr. Scand.* – 1995. – Vol. 91. – P. 152–155.
115. Woolf T. Handbook of drug metabolism / T. Woolf. – 1999. – P. 153–169.
116. Zipursky R. B. The myth of schizophrenia as a progressive brain disease / R. B. Zipursky, T. J. Reilly, R. M. Murray // *Schizophr. Bull.* – 2013. – Vol. 39, № 6. – P. 1363–1372.

Уважаемый пользователь! Обращаем ваше внимание, что система «Антиплагиат» отвечает на вопрос, является ли тот или иной фрагмент текста заимствованным или нет. Ответ на вопрос, является ли заимствованный фрагмент именно плагиатом, а не законной цитатой, система оставляет на ваше усмотрение.

Отчет о проверке № 1

дата выгрузки: 15.06.2016 20:05:56
пользователь: craig1408@yandex.ru / ID: 3040306
отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат»
на сайте <http://www.antiplagiat.ru>

Информация о документе

№ документа: 14
Имя исходного файла: Магистерская диссертация_Пожидаев_14_06_2016.doc
Размер текста: 355 кБ
Тип документа: Прочее
Символов в тексте: 78220
Слов в тексте: 9597
Число предложений: 637



Информация об отчете

Дата: Отчет от 15.06.2016 20:05:56 - Последний готовый отчет
Комментарии: не указано
Оценка оригинальности: 79.35%
Заимствования: 20.65%
Цитирование: 0%

Оригинальность: 79.35%
Заимствования: 20.65%
Цитирование: 0%

Источники

Доля в тексте	Источник	Ссылка	Дата	Найдено в
5.38%	[1] Скачать PDF	http://psychiatr.ru	17.10.2014	Модуль поиска Интернет
2.13%	[2] Шизофрения	http://dic.academic.ru	06.02.2014	Модуль поиска Интернет
1.46%	[3] расстройства больных большого является нарушения - образовательные документы на 12fan.ru (12/33)	http://12fan.ru	23.02.2016	Модуль поиска Интернет
1.46%	[4] Скачать PDF (1/14)	http://psychiatr.ru	25.12.2014	Модуль поиска Интернет
1.37%	[5] Шизофрения как пример заболевания с полигенной природой.	http://studopedia.net	24.02.2016	Модуль поиска Интернет
1.15%	[6] ФАРМАТЕКА » Лекарственная гиперпролактинемия у детей и подростков, индуцированная терапией антипсихотическими препаратами	http://pharmateca.ru	20.10.2014	Модуль поиска Интернет
1%	[7] ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА R1P5K2A С ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ	http://cyberleninka.ru	08.10.2015	Модуль поиска Интернет
0.99%	[8] Реферат: Шизофрения 10 - All-Referats.com - Сайт рефератов, курсовых, сочинений, докладов и дипломных работ	http://all-referats.com	15.02.2016	Модуль поиска Интернет
0.98%	[9] Р-гликопротеин (pgr): общие сведения	http://medbiol.ru	04.04.2016	Модуль поиска Интернет
0.89%	[10] К полным текстам статей (7/9)	http://psychiatr.ru	17.10.2014	Модуль поиска Интернет
0.84%	[11] "Биомедицина" №6 2007	http://scbmt.ru	раньше 2011 года	Модуль поиска Интернет
0.83%	[12] ФАРМАКОГЕНЕТИКА СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P-450 И БЕЗОПАСНОСТЬ ТЕРАПИИ АНТИДЕПРЕССАНТАМИ - тема научной статьи по медицине и здравоохранению, читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотеке КиберЛенинка	http://cyberleninka.ru	01.12.2014	Модуль поиска Интернет
0.81%	[13] Полимеразная цепная реакция	http://knowledge.allbest.ru	27.04.2013	Модуль поиска Интернет
0.79%	[14] не указано	http://humbio.ru	13.05.2009	Модуль поиска Интернет
0.7%	[15] не указано	http://consilium-medicum.com	раньше 2011 года	Модуль поиска Интернет
0.68%	[16] ШИЗОФРЕНИЯ	http://psyoffice.ru	25.03.2016	Модуль поиска Интернет
0.67%	[17] Consilium Medicum	http://consilium-medicum.com	12.09.2012	Модуль поиска Интернет
0.66%	[18] Скачать PDF	http://psychiatr.ru	25.12.2014	Модуль поиска Интернет

0.43%	[19] Терапия шизофрении PSYERA.RU	http://psyera.ru	15.01.2013	Модуль поиска Интернет
0.29%	[20] Шизофрения бред, шизофрения 76, шизофрения это навсегда, шизофрения деген не, шизофрения что это за болезнь mylsa.ru (1/3)	http://mysla.ru	07.04.2016	Модуль поиска Интернет