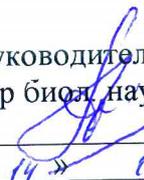


Министерство образования и науки Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
Кафедра цитологии и генетики

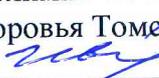
ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

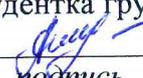
Руководитель ООП
д-р биол. наук

Д.С. Воробьев
« 14 » 06 2019 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА БАКАЛАВРА
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ *DRD2* И *DISC1* КАК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ
ФАКТОР ШИЗОФРЕНИИ

по основной образовательной программе подготовки бакалавров
направление подготовки 06.03.01 – Биология

Глухова Алиса Александровна

Руководитель ВКР
д-р мед. наук, профессор
зав. лабораторией
молекулярной генетики и
биохимии НИИ психического
здоровья Томского НИМЦ

С. А. Иванова
подпись
« 14 » 06 2019

Автор работы
студентка группы № 01501

А. А. Глухова
подпись



Начальник отдела кадров НИИ психического здоровья

Е.А. Фролова « 14 » 06 2019 г. заверяю:

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР..... | 7 |
| 1.1 Шизофрения. История изучения и природа заболевания | 7 |
| 1.2 Диагностика, симптоматика и лечение шизофрении | 10 |
| 1.3 Гипотезы и молекулярные механизмы развития шизофрении | 12 |
| 1.4 Роль генетического фактора в развитии шизофрении | 17 |
| 1.5 Ген DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia-1). Его продукты, строение и функции | 20 |
| 1.6 Ген DISC1 и психические расстройства | 23 |
| 1.7 Система дофамина и DISC1 | 25 |
| 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 28 |
| 2.1 Объект и материалы исследования | 28 |
| 2.2 Методы исследования | 28 |
| 2.2.1 Метод выделения ДНК | 28 |
| 2.2.2 Проведение полимеразной цепной реакции «в реальном времени» | 29 |
| 2.2.3 Статистическая обработка данных | 30 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ..... | 30 |
| ВЫВОДЫ | 38 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... | 39 |

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АП – антипсихотические препараты
- АхК – арахидоновая кислота
- ВПСП – возбуждающий постсинаптический потенциал
- ВП – вызванные потенциалы
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- КТ – компьютерная томография
- ЛП – латентный период
- МКБ – Международная классификация болезней
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- ФлС – фосфоорилаза С
- цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
- ЦНС – центральная нервная система
- ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
- ЭПС – экстрапирамидальный синдром
- ¹H-МРС – протонная магнитная резонансная спектроскопия
- BBS1 – Bardet-Biedl Syndrome
- CNV – вариация числа копий (Copy Number Variations)
- DSM – диагностическое и статистическое руководство по психическим расстройствам (Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders)
- ICD – Международная классификация болезней (International Classification of Diseases)
- GWAS – полногеномный поиск ассоциаций (Genome-Wide Association Studies)
- OR – отношение шансов (Odds Ratio)
- PANSS – шкала позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale)
- PCP – фенциклидин (phencyclidine)
- SAPS – шкала позитивной симптоматики (Scale for the Assessment of positive symptoms)
- SANS – шкала негативной симптоматики (Scale for the Assessment of Negative Symptoms)
- SDS – анионный детергент додецилсульфата натрия (Sodium Dodecylsulphate)
- SLB – стандартный лизирующий буфер (Standard Lysis Buffer)
- SLR – стандартный лизирующий буфер эритроцитов (Standard Lysis Red blood cells buffer)

SNP – однонуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism)

СПЕКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография (Single Photon Emission Computed Tomography)

UBE3A – убиквитин лигаза E3A (Ubiquitin-Protein ligase E3A)

VBR – желудочково–мозговой индекс (Ventricular Brain Ratio)

ВВЕДЕНИЕ

Шизофрения представляет собой тяжелое полиморфное психическое расстройство, с частотой встречаемости ~1% среди населения планеты. Шизофрения развивается, как правило, в подростковом или раннем взрослом возрасте, и сопровождается позитивными, негативными и когнитивными симптомами (Tandon R., 2008). Среди диагностических вариантов заболевания наиболее распространенной формой является параноидная шизофрения (Кибитов А. О., 2017). На сегодняшний день шизофрению считают неизлечимым заболеванием, которое носит затяжной и изнурительный характер (Липина Т. В., 2018). Лечение шизофрении сводится к купированию симптомов с применением антипсихотических препаратов в качестве основного метода терапии.

Шизофрения относится к мультифакториальным заболеваниям, для которых характерен существенный вклад генетического фактора. Многочисленные исследования генетики шизофрении определили полигенный характер заболевания, что указывает на вовлечение в патогенез большого числа генов. Таким образом, были определены около 130 генов-кандидатов, связанных с развитием заболевания (Липина Т. В., 2018). На сегодняшний день в генетике шизофрении большое значение приобретает исследование генетических полиморфизмов (наличие в геноме разных вариантов генов) (Кибитов А. О., 2017). Генетическую архитектуру шизофрении определяют аллели, мультипликативно взаимодействующие друг с другом, подверженные воздействию множества факторов (Липина Т. В., 2018).

Изменение в организме уровня важных для работы ЦНС соединений у пациентов с шизофренией привело к формированию различных гипотез возникновения заболевания. Среди них важное место занимает дофаминергическая гипотеза, так как рецепторы дофамина (преимущественно D2 типа) являются мишенями для нейролептиков и принимают участие в процессах межклеточной сигнализации. Исходя из имеющихся данных и важной роли дофамина в организме – для анализа был выбран ген *DRD2*, кодирующий рецепторы дофамина (Luukx J., 2017; Османова Д. З., 2018). Ген *DISC1* впервые был идентифицирован в результате исследования большой шотландской семьи, среди членов которой были установлены случаи психических расстройств, соотносимые с присутствием сбалансированной хромосомной транслокации. Позже установили, что нарушение структурной и функциональной целостности гена *DISC1* (Disrupted-In-Schizophrenia-1) приводит к дисфункции процессов нейрогенеза (пролиферации, дифференцировки, миграции нейронов), синаптической регуляции и может играть существенную роль в развитии шизофрении.

Таким образом, целью исследования было изучение вариантов полиморфных генов-кандидатов (*DRD2* и *DISC1*) у пациентов с шизофренией и контрольной группы, а также анализ позитивной и негативной симптоматики по данным генам. В ходе исследования были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать распределение частот и вероятные ассоциации вариантов полиморфного гена *DRD2* (rs4245147, rs134655, rs6277, rs1076560) у пациентов с шизофренией и в группе контроля;
2. Исследовать распределение частот и вероятные ассоциации варианта полиморфного гена *DISC1* (rs821616) у пациентов с шизофренией и контроля;
3. Оценить потенциальный эффект генотипов в отношении позитивной и негативной симптоматики для гена *DRD2* в группе пациентов;
4. Оценить потенциальный эффект генотипов в отношении позитивной и негативной симптоматики для гена *DISC1* в группе пациентов;

Работа выполнена на базе НИИ психического здоровья ТНИМЦ в лаборатории молекулярной генетики и биохимии под руководством доктора медицинских наук Ивановой Светланы Александровны и аспиранта кафедры цитологии и генетики НИ ТГУ Пожидаева Ивана Вячеславовича.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Интеграционного проекта СО РАН №30 «Комплексный подход для создания антипсихотиков нового поколения» (2018-2020).

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Шизофрения. История изучения и природа заболевания

По сравнению с психическими нарушениями, такими как меланхолия, мания или «родовое безумие», которые известны с древности, концепция шизофрении, как заболевания, сложилась относительно недавно. Основы современного представления о клинике эндогенных заболеваний были заложены около 100 лет назад, и на сегодняшний день продолжают пополняться новыми теоретическими и экспериментальными данными (Jablensky A., 2010). Чтобы оценить перспективы развития учения о шизофрении и понять стремление ученых к «реконструкции» шизофрении, как самостоятельного заболевания, необходимо обратиться к истокам изучения вопроса.

Огромный вклад в развитие психиатрии внес Э. Крепелин (1856–1926), однако сегодня нозологическая концепция шизофрении в учении Крепелина имеет скорее историческое значение. Э. Крепелин предложил объединить различные по клинической картине психические расстройства (такие как гебефрения, кататония, параноидная форма шизофрении и т.д.) в единое нозологическое образование «*dementia praecox*». Характерной чертой *dementia praecox* является непрерывное прогрессивное развитие процесса с исходом в деменцию (Смулевич А. Б., 2015). Учение Крепелина получило широкое распространение, особенно среди немецких психиатров, однако параллельно с этим породило обширную дискуссию (Тиганов А. С., 1999).

Эйген Блейлер (1857–1939) изменил концепцию Э. Крепелина. Блейлер заменил термин «*dementia praecox*», введенный Крепелином, на «шизофрения» и определил шизофрению как группу заболеваний. В основе модели шизофрении по Э. Блейлеру лежит подразделение заболеваний на первичное расстройство – расщепление (*splitting, spaltung*), и вторичные симптомы (бред, галлюцинации и др.). К первичным симптомам Блейлер относил аномальность, амбивалентность, аффективную инконгруэнтность, аутизм. Также выделение латентной шизофрении и группы примыкающей к ней расстройств позволило формулировать дальнейшее представление о расстройствах шизофренического спектра (Смулевич А. Б., 2015).

Начиная с 30–х годов XX века изучение шизофрении проводилось в двух направлениях:

1. Клинико–динамическое, с целью упрочнения парадигмы единой болезни. Среди ярких представителей этого направления следует отметить А. В. Снежевского. Он

подразделил шизофрению на непрерывно–поступательный и перемежающе–поступательный типы.

2. Тенденция к сужению границ шизофрении. Представители данного направления выделяют группу заболеваний, относящихся к так называемой «ядерной» шизофрении, в пределах единого эндогенного процесса, а также психически гетерогенные расстройства, выносимые за пределы шизофрении (Смулевич А. Б., 2015).

Исследования под руководством А. В. Снежевского отличались мультидисциплинарным подходом, заболевания изучались в сочетании с нейрофизиологическими, биохимическими, генетическими, психологическими исследованиями (Тиганов А. С., 1999). Конец XX – начало XXI века знаменуется тенденцией к дезинтеграции шизофрении как психопатологического единства, и формированием, наряду с категориальной моделью Э. Крепелина, дименсиональной парадигмы заболевания (Смулевич А. Б., 2015). С 1970–х вводятся понятия «отрицательных» и «положительных» симптомов. Т. Кроу предложил простую классификацию болезней, основанную на преобладании либо положительных (тип I), либо отрицательных (тип II) симптомов (Crow T. J., 1980).

Появление первых диагностических классификаций стало поворотным моментом в концептуализации психических расстройств, хотя в них фигурировала категориальная нозология Крепелина (Смулевич А. Б., 2015). Так было разработано и выпущено третье издание Диагностического и статистического руководства Американской психической ассоциации DSM–III (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders III). Оформление четких правил и критериев, на основании которых производится диагностическая оценка заболеваний, привело к применению аналогичного подхода в главе о психических расстройствах 10–го пересмотра Международной классификации болезней Всемирной организации здравоохранения (International Classification of Diseases, ICD–10). Это стало толчком для разработки DSM–IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV) (Jablensky A., 2010).

Взгляды на шизофрению менялись постепенно, как следствие накопления знаний о заболевании. Однако более века после выделения «*dementia praecox*» этиология, патогенез и невропатология шизофрении так до конца не были выявлены. С течением времени представления Крепелина о шизофрении, как о нозологическом заболевании, встречает все меньше последователей (Смулевич А. Б., 2015). Такую позицию констатирует в своей лекции «Шизофрения: начало, изменения, будущее» В. Карпентер, прогнозируя концептуализацию шизофрении как синдрома (Carpenter W. T., 2011).

На основании вышеописанной позиции, была разработана систематика, представленная в DSM–V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders V). В ней на базе дименсионных критериев (бред, галлюцинации, дезорганизация речи и поведения, негативные симптомы) выделяются отдельные гетерогенные клинические синдромы, которые рассматриваются вне пределов шизофрении. В отдельную категорию выделяется, например, кататония (Смулевич А. Б., 2015). Однако стремление некоторых авторов к «деструкции» шизофрении в качестве самостоятельного заболевания представляет собой одностороннюю позицию, которая создает полемику среди специалистов (Смулевич А. Б., 2015). Таким образом, исследования в области психических заболеваний, остаются на сегодняшний день актуальной проблемой, не лишенной белых пятен.

За значительный период изучения шизофрении (около 110 лет), ученым не удалось установить единого фактора, оказывающего решающее влияние на возникновение заболевания (Юрьева Л. Н., 2010). В некоторых источниках шизофрению также называют заболеванием с «неизвестной этиологией», подтверждая, что ни один из факторов не является ключевым, и сам по себе не объясняет генез шизофрении (Pull Ch., 1999). В настоящее время действующей моделью, включающей в себя множество этиологических факторов, является модель предрасположенности к влиянию стрессов (стресс–диатезная модель) (Краснов В. Н., 2013). Таким образом, шизофрения является результатом влияния биологических, экологических, социально–культурных и психологических факторов (Юрьева Л. Н., 2010; Краснов В. Н., 2013).

Влияние патогенных факторов окружающей среды на развитие психических заболеваний может происходить в разные этапы жизни: пренатальный период (рождение в различные сезоны года, пост-инфекционные последствия, осложнения в процессе родов), период младенчества, подростковый период (употребление наркотических средств, психологические и социальные стрессоры) (Brown A. S., 2011). Имеются данные о влиянии внутриутробной вирусной инфекции (грипп) на риск развития шизофрении (Cannon M., 1996). Связь также была установлена для различных бактериальных агентов и паразитов (например, *Toxoplasma gondii*) (Brown A. S., 2011).

Общеизвестно, что влияние стрессовых факторов в период протекания беременности может сказаться на физиологических показателях и поведении потомков. Это проявляется в сниженной массе тела при рождении, нарушении функционирования внутренних органов и систем, когнитивных нарушениях. С помощью эпидемиологических исследований было показано, что влияние стрессов во время беременности повышает риск развития шизофрении и других психических расстройств (Khashan A. S. et al., 2008).

Пренатальный дефицит питания также вносит вклад в этиологию шизофрении. Так недостаточность в пище таких веществ, как фолиевая кислота, витамины А и D – повышают риск развития заболевания, так как они являются необходимыми элементами, включенными в ранние этапы нейроразвития. Фолиевая кислота участвует в процессе формирования и замыкания нервной трубки в период эмбрионального развития. Витамины А и D необходимы для морфогенеза ЦНС, так как принимают участие в регуляции экспрессии ряда генов, ответственных за процессы нейроразвития (пролиферация, миграция, дифференцировка нейронов) (Brown A. S., 2011).

Также использование психоактивных веществ увеличивает риск возникновения заболевания, усугубляя положительную симптоматику (галлюцинации, паранойя) у больных шизофренией. Показано, что малые дозы психостимулянтов повышают восприимчивость системы дофамина в стриатуме, и через несколько месяцев после прекращения их использования, наблюдается повышенное высвобождение дофамина в ответ на амфетамин (Voileau I. et al., 2006).

1.2 Диагностика, симптоматика и лечение шизофрении

Диагностика шизофрении основывается на критериях МКБ–10 (Международная классификации болезней 10–го пересмотра). Для установления диагноза необходимо наличие одного четкого симптома (или 2 менее отчетливых симптомов), продолжающихся на протяжении одного месяца. Для диагностики по первому параметру опираются на наличие следующих симптомов заболевания:

1. Эхо мыслей, отнятие или вкладывание мыслей;
2. Бред воздействия, влияния или овладения; бредовое восприятие;
3. Галлюцинаторные голоса, комментирующие поведение больного или обсуждающие его между собой;
4. Стойкие бредовые идеи;
5. При диагностике на основании нескольких неярко выраженных показателей выделяют следующие симптомы:
 6. Постоянные галлюцинации любой сферы, сопровождающиеся нестойкими бредовыми идеями;
 7. Прерывание мыслительных процессов, разорванность речи;
 8. Кататонические расстройства;
 9. «Негативные» симптомы, проявляющиеся в виде апатии, бедности речи, сглаженности эмоциональных реакций;

10. Последовательное качественное изменение интересов, что проявляется утратой интересов, бездеятельностью и т. д.;

На основании критериев МКБ–10 выделяют несколько форм шизофрении: кататоническая, параноидная, гебефреническая (гебефренная), недифференцированная, простая (Краснов В. Н., 2013).

Шизофрения характеризуется положительными (позитивными), отрицательными (негативными) и когнитивными симптомами. (Gonzalez–Castro T. B., 2016; Luykx J. J., 2017). Позитивная симптоматика характеризуется искажением восприятия (галлюцинации) и содержания мысли (бред), неясным и запутанным мышлением, дезорганизацией речи (Wearne T. A., 2018). Негативная симптоматика неоднородна, и делится на первичные симптомы (апатия, бедность речи, сглаженность эмоциональных реакций), и вторичные, которые являются следствием измененного поведения из-за ЭПС, психотических расстройств, депрессии и т.д. (Фалкай П., 2005). Позитивные и негативные синдромы диагностируют с использованием шкалы PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale), которая представляет собой усовершенствованный и совокупный вариант более ранних шкал (SAPS и SANS) (Kay S. R., 1987). Когнитивные симптомы включают дефицит нейрокогнитивных функций (нарушение внимания, памяти, обучения, обработки информации) (Xavier R. M., 2017). Если изначально исследователи были сосредоточены на негативной, а после на позитивной симптоматике, то начиная со второй половины XX века, началось активное изучение когнитивных дефицитов у пациентов с шизофренией. Среди них дефициты памяти, мышления, исполнительских функций, внимания и т.д. Многие исследователи подчеркивают важность преморбидных дефицитов и нарушение социального сознания в генезе заболевания (Wearne T. A., 2018).

Поиск оптимальных и действенных методов лечения шизофрении на сегодняшний день является открытой задачей. Несмотря на наличие четко регламентированных для лечения антипсихотических препаратов (далее АП), в практике врачи часто опираются на личный опыт, либо на традиции своего медицинского учреждения, что не всегда дает положительные результаты. В лечении используют как типичные АП (перфеназин и т.д.), которые также называют антипсихотиками первого поколения, так и атипичные АП (оланзапин, клозапин, рисперидон, амисульприд и т.д.). Атипичные АП характеризуются тем, что отличаются друг от друга по механизму действия и химической структуре. Также они характеризуются высокой эффективностью, возможностью воздействия на такие резистентные к типичным нейролептикам нарушения, как негативная симптоматика и/или когнитивный дефицит, более низким риском развития экстрапирамидных расстройств

(Олейчик И. В., 2012). Применение препаратов осуществляется в комплексе, а также в контексте монотерапии (Потанин С. С., 2014).

Имеются данные об эффективности краткосрочной психообразовательной программы для пациентов страдающих шизофренией и близкими к ней расстройствами. Также представлены результаты исследования, демонстрирующие преимущество психообразовательной программы по сравнению со стандартным лечением нейрорепетитивными (Хмельницкая А. А., 2012). Психообразовательная программа представляют собой один из методов психической реабилитации пациентов на основе партнерской модели оказания помощи. Программы включают два основных аспекта, которые тесно переплетаются друг с другом. Во-первых, это получение пациентом информации о биологических и социальных аспектах заболевания, для понимания своего состояния («образовательный» аспект). Во-вторых, поскольку часто психообразовательная программа направлена на группу пациентов – это обеспечение психической и социальной поддержки со стороны других участников группы (Хмельницкая А. А., 2012).

Таким образом, говоря о лечении шизофрении, нельзя ограничиваться только биологической терапией. Лечение, безусловно, должно включать психосоциальную терапию и психосоциальную реабилитацию, психотерапию, клиничко–социальные мероприятия и т.д. (Краснов В. Н., 2013).

1.3 Гипотезы и молекулярные механизмы развития шизофрении

Активное развитие методов нейровизуализации позволило значительно расширить возможность изучения нейробиологии психических отклонений. Был сформулирован ряд нейробиологических теорий с описанием механизмов патогенеза шизофрении.

В научных и клинических исследованиях, при изучении структурных аномалий мозга при шизофрении, используют методы компьютерной томографии (КТ) и магнитно–резонансной томографии (МРТ). С их помощью определяются атрофия мозгового вещества и увеличение желудочково–мозгового индекса (VBR). Особенно продуктивным оказалось изучение шизофрении с использованием КТ и МРТ в генетическом аспекте, при исследовании семейной шизофрении, близнецов и сиблингов. В частности, исследования, проводимые Д. Р. Веинбергером и соавторами в 1981 году показали, что величина показателя VBR у сиблингов с шизофренией значительно превышает показатели у здорового контроля. В дальнейшем эти данные были неоднократно подтверждены. Основной вывод авторов сводится к тому, что отклонения у пациентов с шизофренией в

полной мере могут быть выявлены только с учетом отклонений, зарегистрированных у родственников больных, что указывает на генетическую предрасположенность к заболеванию (Тиганов А. С., 1999). С постепенным развитием методов компьютерной томографии становятся значимыми функционально–томографические исследования. В качестве примера можно привести протонную магнитно–резонансную спектроскопию. С ее помощью удалось подтвердить «потерю паренхимы» гиппокампа при шизофрении (Тиганов А. С., 1999).

А. С. Лебедева с сотрудниками проводили комплексные исследования, с использованием нейрофизиологического обследования (на основе метода регистрация слуховых вызванных потенциалов) и МРТ (Лебедева А. С., 2017). Вызванные потенциалы – биоэлектрические колебания, возникающие в нервных структурах в ответ на раздражение рецепторов или эффекторных путей и находящиеся в строго определенной временной связи с моментом предъявления стимула. У больных шизофренией были обнаружены более высокие значения латентных периодов (ЛП) волны P300 слуховых вызванных потенциалов (ВП) в парадигме oddball. Парадигма oddball представляет собой эмпирическую методику в психической физиологии, которую применяют для анализа связей между вниманием на слуховые стимулы и вызванными потенциалами. Пациенту предъявляют одинаковые по силе, но отличающиеся по частоте стимулы.

Анализ головного мозга показал снижение толщины коры в теменных, височных, лобных долях по сравнению с контролем (Лебедева А. С., 2017).

Помимо серьезных морфологических аномалий при шизофрении, изучаются нарушения работы мозга на молекулярном уровне. В частности нарушения могут быть вызваны сбоем в работе систем, участвующих в процессах межклеточной сигнализации. Было установлено, что в мозге есть обширные нейрхимические системы – дофаминергическая, норадренергическая, серотонинергическая и т. д. (Тиганов А. С., 1999). На основании исследований дофаминергической системы, была сформирована дофаминергическая гипотеза развития шизофрении (He. N. et al., 2016). Эта гипотеза нашла свое отражение в работах, посвященных поиску способов лечения шизофрении, как следствие фармакологического действия АП. Нейролептики используются в качестве основных факторов, устраняющих позитивную и негативную симптоматику. Например, хлорпромазин взаимодействует с D2–рецепторами, блокируя их, что приводит к устранению позитивных симптомов. Таким образом, было выдвинуто предположение, что патогенез шизофрении заключается в повышенной дофаминергической активности (Олейчик И. В., 2012). В свою очередь имеются данные, что такие препараты как бромокриптин и леводопа повышают дофаминергическую активность, и, как следствие,

усугубляют шизофренические симптомы. Еще одним доказательством является повышенная плотность рецепторов дофамина у пациентов, лечение которых не было сопряжено с приемом антипсихотических препаратов (Олейчик И. В., 2012).

Дофаминергическая система включает в себя семь отдельных подсистем, три из которых рядом авторов выделяются как основные:

1. Нигростриальная система включает нейроны, тела которых располагаются в компактной части черной субстанции. Клетки компактной части черной субстанции дают проекции в дорсальный стриатум (полосатое тело), клетки вентрального поля покрышки – в вентральный стриатум. Данная система участвует в регуляции поддержания мышечного тонуса, осуществляет поступление информации в кору головного мозга.

2. Мезокортикальная система, тела нейронов которой располагаются в вентральной части покрышки среднего мозга. Мезокортикальная система связывает средние отделы мозга с корой больших полушарий, обеспечивает формирование адекватного поведения.

3. Мезолимбическая система является основным местом регуляции когнитивных функций организма (участие в механизмах эмоций, памяти, обучения и т.д.). Тела нейронов мезолимбической системы находятся в вентральном поле покрышки среднего мозга. Отростки нейронов имеют обширную протяженность и контактируют со структурами лимбической системы (Тиганов А. С., 1999).

Таким образом, можно заключить, что дофаминергические структуры локализируются в ключевых отделах ЦНС и составляют обширную систему, дисфункция которой приводит к серьезным проблемам. Семейство рецепторов дофамина (D-рецепторы) второго типа, которые представлены D2, D3 и D4 подтипами, являются мишенью нейролептиков. D2 и D3-рецепторы располагаются на пресинаптической и постсинаптических мембранах, D4 – только на постсинаптической (Попов В., 2015).

В норме дофамин выделяется из пресинаптического окончания в синаптическую щель, часть медиатора при этом связывается с ауторецепторами пресинаптической мембраны. Рецепторы активируются, и через систему G-белков происходит передача сигнала для снижения активности синтеза цАМФ, что в свою очередь приводит к сокращению синтеза дофамина. Синтез дофамина – саморегулируемый процесс (Попов В., 2015).

В результате взаимодействия дофамина с рецепторами на постсинаптической мембране формируется сигнал, запускающий экспрессию ряда генов, активирующих фосфоорилазу С (ФлС). Происходит выброс свободной арахидоновой кислоты (АхК) и фосфатидилинозитола в клетке. Все эти процессы внешне проявляются в виде

эмоционально–поведенческих реакций с регуляцией на уровне лимбической системы (Попов В., 2015).

Таким образом, гипотеза возникновения психоза строится на дисбалансе нейромедиаторов (ГАМК, ν -эндорфины и т.д.), управляющих синтезом дофамина в системе его синтеза и метаболизма. Большое значение имеет формирование рецепторов и их плотность на мембранах клеток. Так при гиперфункции пресинаптических D–рецепторов, в процессе выделения дофамина, происходит остановка дальнейшего его выделения, что в результате приводит к появлению в клинике заболевания отрицательных симптомов психоза. В свою очередь гиперфункция постсинаптических рецепторов, даже при незначительной концентрации дофамина в синаптической щели, приводит к генерации ответного сигнала, что является следствием возникновения положительной симптоматики.

Типичные АП выступают в качестве агонистов D–рецепторов. При гиперфункции D2– и D3–рецепторов на пресинаптической мембране АП связываются с ними, не давая сделать этого молекулам дофамина. Таким образом, сигнал на G–белки не поступает, уровень цАМФ остается на нормальном уровне, повышается активность ферментов синтеза и распада дофамина, что приводит к нормализации синтеза нейромедиатора. Следствием действия АП является ликвидация отрицательных симптомов.

При гиперфункции постсинаптической мембраны АП, связываясь с рецепторами, переводит их в неактивное состояние, что обеспечивает функциональный «покой» мезолимбической системы. Происходит купирование проявлений положительной симптоматики (Попов В., 2015).

Атипичные нейролептики обладают схожим с типичными АП механизмом действия, однако исследования показывают, что применение атипичных АП, по сравнению с типичными, более эффективно (Попов В., 2015). Данные доклинических исследований, проводимые на животных, показывают, что «атипичность» современных АП связана не только с их антагонизмом в отношении 5–HT_{2A}–рецепторов, но и способности выступать в роли прямых агонистов 5–HT_{1A}–рецепторов и мощных антагонистов 5–HT_{2C}, 5–HT₆, 5–HT серотониновых и адренергических рецепторов (Шагиахметов Ф. Ш., 2014). В исследованиях, посвященных клозапину (атипичный АП), предполагают, что его высокая активность связана с аффинитетом по отношению к дофаминовым рецепторам (D₁–, D₃– и D₄–типа), серотониновым рецепторам (5–HT₁ и 5–HT₃–типа), помимо D₂– и 5–HT₂–рецепторов, и взаимодействием с рецепторами преимущественно в мезолимбической и мезокортикальной системах. Однако

селективность действия клозапина в отношении каждого из рецепторов не была доказана (Данилов Д. С., 2011).

В 1980 году была опубликована работа Дж. Кима с соавторами, в содержании которой говорится, что у пациентов с шизофренией наблюдался пониженный уровень глутамата (Kim J. S., 1980). Также имеются более ранние сведения, датируемые 1949 годом, о пациентах с шизофренией, которых лечили глутаминовой кислотой. Положительные результаты в исследовании Кима дали толчок для более тщательного изучения глутамата и структур глутаматергической системы в этиологии и патогенезе шизофрении, несмотря на то, что другим группам ученых не удалось повторить их результаты. Таким образом, со временем сложилась глутаматная гипотеза развития шизофрении, преобладающим аспектом которой является нарушение функции NMDA–рецепторов (Howes O., 2016). NMDA–рецептор – это основной подтип глутаматных рецепторов, участвующий в генерации медленных возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП). Отмечают, что данный тип ВПСП играет роль в осуществлении различных когнитивных реакций, многие из которых нарушены при шизофрении (Moghaddam B., 2012). Гипотеза дисфункции NMDA–рецепторов возникла первоначально при изучении взаимодействия между рецепторами и их антагонистами (фенциклидин, дизоциллин и кетамин). После контакта антагониста с рецептором немедленно возникали психотические эффекты, которые напоминали симптомы, возникающие при шизофрении. Психотикоподобные симптомы наблюдались также у постоянных потребителей кетамина. Другие исследования показали, что введение антагониста МК–801 непосредственно в корковые области не приводит к появлению нейродегенеративных изменений, тогда как при введении его в передний таламус наблюдались похожие изменения, как при систематическом введении кетамина (Morgan C. J. et al., 2009).

Следует также упомянуть об исследованиях, проводимых с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (SPECT) и исследованиях с применением протонной магнитной резонансной спектроскопии (1H–MPC). На сегодняшний день есть только одна работа, посвященная исследованию на основе SPECT. Результаты показали снижение активности NMDA–рецепторов в гиппокампе левого полушария у пациентов с шизофренией (Pilowsky L. S. et al., 2006).

Применение 1H–MPC позволяет измерить уровень глутамата и глутамина у лиц с высоким риском развития психоза, а также у пациентов с хронической шизофренией. Предполагается, что глутамин является маркером нейротрансмиссии глутамата, так как он образуется после попадания глутамата в астроциты (Bak L. K. et al., 2006). Таким образом, на основании данного исследования было выявлено повышенное соотношение

глутамат/глутамин в передней коре головного мозга для пациентов с хронической шизофренией (Bustillo J. R. et al., 2014).

Глутаматергическая гипотеза развилась позже дофаминергической, однако на сегодняшний день ряд исследований указывают на наличие между ними причинно-следственных связей. Нейроны дофамина регулируются глутаматергическими проекциями на ядра дофамина, расположенные в области среднего мозга, что делает их потенциально чувствительными к изменениям в глутаматергической системе (Miller D. W. and Abercrombie E. D., 1996). В поддержку этих данных проведенные доклинические исследования показывают, что такие блокаторы NMDA-рецепторов, как кетамин и PCP изменяют рабочую модель дофаминового нейрона (Breier A. et al., 1998; Smith G. S. et al., 1998). В частности, если обратиться к механизму глутаматергической гипотезы можно сделать вывод, что гипофункция NMDA-рецепторов нарушает нейротрансмиссию дофамина (Липина Т. В., 2018). Эта зависимость была подтверждена исследованиями, которые продемонстрировали повышение возбудимости дофаминергических нейронов вследствие взаимодействия антагонистов с NMDA-рецепторами. Однако эта зависимость неодинакова в отношении разных подтипов дофаминергических рецепторов. Антагонисты D1 рецепторов нарушают функциональную активность NMDA-рецепторов, также они не оказывают антипсихотического действия, наоборот усугубляя симптомы шизофрении (Липина Т. В., 2018).

Таким образом, есть основания предполагать, что дисфункция системы дофамина может быть вторичной, как результат дисфункции глутаматергической системы (Howes O., 2016).

1.4 Роль генетического фактора в развитии шизофрении

Роль генетического фактора в развитии заболевания была отражена в исследованиях семей, среди членов которых имелись случаи шизофрении. Наследуемость шизофрении оценивается в 70–80% (Need A. C., 2009).

Генетические исследования шизофрении традиционно были сосредоточены на выявлении областей сцепления, или на генах-кандидатах и их полиморфных вариантах. С развитием шизофрении ассоциировано большое количество генов, каждый из которых дает лишь небольшой риск в развитии заболевания. В работе по изучению регуляции экспрессии генов, ассоциированных с шизофренией, геном *ZNF804a*, также говорится об отсутствии одного гена или фактора окружающей среды, который самостоятельно бы

влият на развитие шизофрении (Girgenti M. J., 2012). Следовательно, генетика шизофрении строится на комплексном влиянии генов в развитии заболевания.

Большое количество работ, посвященных генетике шизофрении, базируются на исследованиях генетических полиморфизмов (Липина Т. В., 2018). Эти исследования помогают создать экспериментальное представление о генетической архитектуре шизофрении. Генетическую архитектуру шизофрении определяют аллели, мультипликативно взаимодействующие между собой, высоко восприимчивые к плейотропии, генетическому фону, воздействию окружающей среды (Липина Т. В., 2018). Таким образом, были накоплены данные о 108 полиморфных локусах, которые имеют значение в ассоциации с шизофренией, причем большая часть из них располагается за пределами кодирующих областей, оказывая воздействие на функциональную активность других генов. Около 30 ассоциированных с шизофренией локусов было идентифицировано с помощью полногеномного поиска ассоциаций (Genome-Wide Association Studies, GWAS). В состав ассоциаций входит большое количество генов, в частности гены, вовлеченные в нейроразвитие (*DISC1* и др.), глутаматергическую нейротрансмиссию (*GRM3*, *GRIN2A*, *SRR*, *GRIA1*), иммунный и стрессорный ответ (Липина Т. В., 2018). Среди них также ген, кодирующий рецептор дофамина-D2 (далее *DRD2*). Так гены, ответственные за транспорт кальция (*CACNA1C* и *CACNB2*), вовлечены в формирование не одного, а нескольких заболеваний, что свидетельствует о важности ионов кальция в функционировании ЦНС. Ген *DRD2* рассматривают в качестве одного из генов-кандидатов развития шизофрении (Hennah W. et al., 2006).

Ген *DRD2*, кодирующий D2 рецептор, у людей локализован на 11 хромосоме при q22-q23, имеет протяженность 270 кб, в своем составе содержит 8 экзонов (He Y. et al., 2012). Рецептор дофамина-D2 представляет собой рецептор, связанный с G-белком, действие которого направлено на ингибирование активности аденилатциклазы. *DRD2* состоит из двух изоформ: D2S и D2L. Для гена *DRD2* определено около 514 полиморфных вариантов (Cho A. R., 2012).

В отношении шизофрении изучаются не только гены-кандидаты и полиморфные варианты, но также вариации числа копий. В. Е. Голимбет выделяет несколько уровней вариации структурных элементов генома, имеющих отношение к развитию шизофрении: микроуровень (однонуклеотидные полиморфизмы), субмакроуровень (CNVs, как пример), макроуровень (эффект пространственных взаимодействий элементов генома) (Голимбет В. Е., 2017). В последнее время многочисленные исследования посвящены ассоциации между шизофренией и однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) генов-кандидатов. SNP – это вариации последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G, С).

Если полиморфизм встречается чаще у больных в сравнении со здоровыми людьми, то он считается маркером риска и наоборот, если частота встречаемости у пациентов ниже, то такие полиморфизмы относят к условно протективным генетическим маркерам (Кибитов А. О., 2017).

В 2006 Р. Редон с соавторами обнаружили новый вид вариаций в геноме – CNVs (от английского *copy number variations*) (Redon R., 2006). CNVs представляют собой вид генетического полиморфизма, к которому относятся различия индивидуальных геномов по числу копий хромосомных сегментов (Sebat J. et al., 2004). Также CNV определяют как участки геномных делеций (выпадение фрагментов ДНК) и дупликаций (удвоение фрагментов ДНК) размером от 1 кб до нескольких Мб, из чего можно сделать вывод, что они, вероятно, будут иметь более масштабные фенотипические эффекты, чем SNP (Gejman P. V., 2011). Эти фрагменты могут включать в себя отдельные гены, а также встраиваться в нуклеотидную последовательность гена или выпадать из нее, что приводит к разрывам ДНК (Голимбет В. Е., 2010). Установлено, что удаление 3 Мб в участке 2q11.2 (22qDS) приводит к возникновению синергического синдрома и риск развития шизофрении увеличивается. Эпидемиологические исследования показали, что у более 30% носителей 22qDS развивается психоз, около 80% из которых диагностируется как шизофрения (Gejman P. V., 2011). Присутствие CNV в хромосомных локусах 1q21.1, 15q11.2, 15q13.3, 22q11.2, 16p11.2, 16p13.1 чаще встречаются у больных шизофренией по сравнению со здоровыми лицами (Рогаев Е. И., 2010). С помощью исследования на основе CNV осуществляется выявление возможных генов–кандидатов шизофрении. Так были определены гены *COMT*, *PRODH*, *DISC1*, гены, кодирующие рецепторы γ -аминомасляной кислоты (ГАМК, UBE3A). Дальнейшее изучение участков с вариациями числа копий у больных шизофренией может способствовать открытию новых генов–кандидатов (Голимбет В. Е., 2010).

Еще одним направлением в генетике шизофрении является изучение ассоциации вариантов генома с эндофенотипами. Концепция эндофенотипов была предложена и развита I. Gottesman и Т. Gould. Эндофенотип – это фенотипическое проявление заболевания, с возможностью количественной оценки (Gottesman I. I., 2003). Эндофенотип характеризуется пятью основными признаками:

1. Эндофенотип связан с болезнью в данной популяции;
2. Наследуемый эндофенотип;
3. Независимость эндофенотипа от состояния (т.е. эндофенотип проявляется у больного вне зависимости от протекания активной фазы заболевания);
4. Внутри семьи эндофенотип и заболевания взаимосвязаны;

5. Эндофенотип, обнаруженный у членов семьи с патологией обнаруживается у здоровых членов семьи чаще, чем в общей популяции.

Для того, чтобы определить какой-либо количественный признак, связанный с заболеванием, как эндофенотип данной патологии, необходимо присутствие всех описанных свойств. Эндофенотипы могут иметь разную природу (биохимические, нейрхимические, нейроанатомические, когнитивные и т.д.). Так в качестве примера электрофизиологического эндофенотипа можно привести сенсомоторный дефицит (нарушение функционирования глутаматергической системы), в развитие которого существенный вклад вносят генетические факторы. Для определения роли генетического фактора в эндофенотипе необходим анализ многих генетических факторов (Морозова А. Ю., 2017).

1.5 Ген *DISC1* (Disrupted-in-Schizophrenia-1). Его продукты, строение и функции

Ген *DISC1*, или «нарушенный при шизофрении 1» локализован на хромосоме 1q42,1, имеет перекрывание с открытой рамкой считывания гена *DISC2*. *DISC1* человека представляет собой ген, состоящий из 13 экзонов, включающий более 140 кБ геномной ДНК (Hennah W. et al., 2006). Около 40 транскриптов *DISC1* были идентифицированы с помощью альтернативного сплайсинга (Липина Т. В., 2018). Анализ транскриптов позволил выделить 4 изоформы гена *DISC1* – длинная изоформа (L), длинный вариант изоформы (Lv), короткая изоформа (S) и очень короткая изоформа (Es), которые, соответственно, имеют разные варианты продукта (Nakata K. et al., 2009; Липина Т. В., 2018). Длинная изоформа (L) кодирует *DISC1*-белок, который состоит из 854 аминокислот, молекулярной массой 93611 Да. Продукты остальных изоформ представляют собой более короткие вариации *DISC1*-белка: у длинного варианта (Lv) в одиннадцатом экзоне отсутствуют 66 нуклеотидов; короткая изоформа (S) несет нетранскрибируемую область в девятом интроне (соответствует 678 аминокислотам *DISC1*-белка); очень короткая изоформа (Es) имеет альтернативный сплайсинг первого экзона, который заканчивается после третьего экзона (соответствует 369 аминокислотам белка) (Липина Т. В., 2018).

Ген *DISC1* консервативен, его гомологи были определены у многих видов позвоночных животных, в частности у *Danio rerio*, *Macaca mulatta*, *Pan troglodytes*, *Rattus norvegicus* и т.д. (Taylor M. S., 2003; Липина Т. В., 2018). *Danio rerio*, также, используют в качестве модельного объекта для изучения функций гена *DISC1* в отношении психических заболеваний (Brandon N. J. et al., 2009). Наиболее *DISC1*-обогащенными местами

локализации в клетке являются митохондрии, элементы цитоскелета, ядро, цитоплазма, дендриты (Pinero-Martos E., 2016; Липина Т. В., 2018).

Для *DISC1* характерна экспрессия в различных отделах головного мозга, данный процесс не одинаков на разных этапах нейроразвития (экспрессия идет наиболее интенсивно на 14 эмбриональный и 35 постэмбриональный день) (Липина Т. В., 2018). С использованием электронной микроскопии, было установлено, что *DISC1* экспрессируется в области окончаний аксонов, постсинаптической области, дендритных шипиках и т.д. (Липина Т. В., 2018). *DISC1* участвует в процессах эмбрионального и постэмбрионального нейрогенеза (включая миграцию, пролиферацию и дифференцировку нервных клеток), внутриклеточной сигнализации и пластичности синапсов. В развивающемся мозге процесс нейрогенеза наблюдается во многих областях мозга, однако во взрослом состоянии ограничен субвентрикулярной зоной и субгранулярной зоной зубчатой извилины гиппокампа (Pipra A. et al., 2013). Экспериментально установлено, что ингибирование экспрессии гена *DISC1* в недифференцированных нейронах гиппокампа – уменьшает степень пролиферации клеток (Мао Y. et al., 2009). Мутация по гену *DISC1* оказывает влияние на рост аксонов. Нейроанатомические данные, полученные Н. Jakob и Н. Beckmann в 1986 показали возможность возникновения шизофрении из-за дефицита нейронов на ранних стадиях эмбрионального развития, что приводит к aberrантному развитию разных областей коры (Jakob H. and Beckmann H., 1986).

Участие *DISC1* в миграции нейронов было продемонстрировано с помощью сверхэкспрессии *DISC11-597* (Duan J. et al., 2007; Kubo K. et al., 2010). *DISC1* участвует в миграции кортикальных интернейронов в развивающемся мозге (Pipra A. et al., 2013). При ингибировании *DISC1* нарушается миграция нейронов из медиального ганглиозного возвышения. В развивающемся гиппокампе нокаунт *DISC1* ингибирует миграцию гранулярных клеток. Имеются данные, что в сформированном гиппокампе *DISC1* взаимодействует с NMDA-рецепторами для осуществления миграции нейронов (Kubo K. et al., 2010).

Существует механизм, осуществляющий функциональный переход *DISC1*, как от активатора пролиферации предшественников нейронов к миграции нейронов в развивающейся коре (Ishizuka K. et al., 2011). Переключение опосредовано фосфорилированием S713 гена *DISC1* у человека (S710 у мышей). Этот процесс обеспечивает разрушение связи между *DISC1* и *GSK3 β* и ингибирование последнего, тем самым нарушение передачи сигнала *wnt/ β -катенин*. При нарушении взаимодействия с *GSK3 β* , *DISC1*, фосфорилированный на S713, проявляет повышенное сродство к *BBS1*,

что является важным шагом в переходе от пролиферации нейронов к их миграции (Ishizuka K. et al., 2011).

В определении функциональных особенностей DISC1 и механизмов участия в развитии психических заболеваний лежит изучение взаимодействия белков. В результате исследований выявлены белки LIS1 и UL1, взаимодействующие с DISC1, которые принимают участие в процессах миграции нейронов и других процессах нейрогенеза. Низкое содержание LIS1 нарушает ориентацию делящихся клеток, что приводит к снижению пролиферативной активности (Trossbach S. V. et al., 2016). Дефицит LIS1, таким образом, связан с нарушением функций микротрубочек, однако негативные последствия могут быть исправлены сверхэкспрессией *NDEL1* (Trossbach S. V., 2016). Другим связывающим партнером является фосфодиэстераза 4B (*PDE4B*). *PDE4B* был определен как фактор риска развития психических расстройств, на основании изучения шотландской семьи с (1;16) хромосомной транслокацией (Millar J. K. et al., 2005). Транслокация нарушает *PDE4B* на хромосоме 1, а также ген, кодирующий кадгерин 8 (*CDH8*) на хромосоме 16 (Millar J. K. et al., 2005). Таким образом, на сегодняшний день определено 127 белков, взаимодействующих с DISC1 и 158 межбелковых взаимодействий, формирующих «DISC1158 межбелковую сеть» (Липина Т. В., 2018). За счет этих взаимодействий DISC1 осуществляет настройку биологической активности белков. Связывание с DISC1 модулирует функцию FEZ1, NDEL1 и PDE4B (Hennah W. et al., 2006).

Ряд исследований показывают, что белки, взаимодействующие с одноименным DISC1-белком, могут участвовать в развитии психических расстройств (Pirra A. et al., 2013). Эпистатические взаимодействия, влияющие на генетический риск, могут возникать между DISC1 и NDEL1/NDE1 (Hennah W. et al., 2007). Показано, что взаимодействие между DISC1 3'UTR SNP rs1411771 и интронным SNP в гене, кодирующем белок CIT – увеличивает риск развития шизофрении (Pirra A. et al., 2013).

Исследования с использованием методов биоинформатики позволили определить полноразмерную последовательность продукта гена *DISC1*. Белок состоит из 854 аминокислот, и включает 2 области: N-концевую «головную» область (аминокислотные остатки 1-325) и альфа спираль, содержащая C-концевой домен спиральной катушки (аминокислотные остатки 326-854) (Millar J. K. et al., 2000; Taylor M. S. et al., 2003).

Первые данные о строении белка были представлены N. J. Brandon с соавторами, который отметил, что DISC1 образует большие (≥ 250 кДа) виды, которые являются димерами DISC1 или олигомерами более высокого порядка (Pirra A. et al., 2013). Ранние биофизические характеристики были изучены на усеченных C-концевых конструкциях, в

частности в силу трудности отчистки полноразмерного белка. Исследования показали, что С-концевые области белка DISC1 содержат домены олигомеризации, облегчающие образование димеров, октамеров и мультимерных структур. Оптимальная олигомеризация необходима для нормального взаимодействия между двумя белками. Для взаимодействия с белком NDEL1 необходимо только олигомерное состояние DISC1 (Pipra A. et al., 2013). Данные выводы были позже подтверждены с использованием эксклюзивной хроматографии и аналитического ультрацентрифугирования.

1.6 Ген *DISC1* и психические расстройства

Ген был идентифицирован в результате исследования большой шотландской семьи, среди членов которой были установлены случаи психических расстройств, соотносимые с присутствием сбалансированной хромосомной транслокации (1:11)(q42.1;q14.3) гена *DISC1* между 9 и 10 экзонами (Голимбет В. Е., 2008; Липина Т. В., 2018). Исследования, датированные 1970-м годом, были проведены на базе Эдинбургского университета Р. А. Jacobs с соавторами, которые обнаружили данную хромосомную аберрацию при изучении расстройств поведения у подростков и других членов четырех поколений шотландской семьи (Jacobs P. A. et al., 1970). Последующие наблюдения за семьей на протяжении двадцати лет выявило увеличение числа психических расстройств, включая депрессию, биполярное расстройство, шизофрению среди родственников с транслокацией (Blackwood D. H. et al., 2001). У членов семьи с нормальным кариотипом психических нарушений выявлено не было. Транслокация нарушает непосредственно ген *DISC1*, а также *DISC2*, кодирующий одноцепочечную антисмысловую РНК, комплементарную мРНК гена *DISC1* (Millar K. et al., 2000). Максимальный показатель LOD = 7.1 подтвердил тесную связь транслокации с клиническим фенотипом, который включал шизофрению, биполярное расстройство и депрессию. По результатам анализа выявлено семь случаев заболевания шизофренией с показателем LOD = 3.6 (Blackwood D. H. et al., 2001). Показатель LOD буквально означает «логарифм шансов». В генетике показатель LOD является статистической оценкой того, могут ли два гена (например, нормальный ген и ген, ассоциированный с заболеванием), находится рядом друг с другом на хромосоме, и, следовательно, наследоваться совместно. Как правило, оценка LOD от 3 и выше означает, что два гена расположены близко друг к другу на хромосоме.

Известно, что показатели слуховых вызванных потенциалов отличаются у пациентов с шизофренией и здоровых людей. Снижение показателей P300 слуховых вызванных потенциалов было продемонстрировано для двух носителей t(1;11), подобно

субъектам с шизофренией (Hennah W. et al., 2006). Данная транслокация является уникальной для шотландской семьи, в то время как полиморфизм по гену *DISC1* характерен для общей популяции (Липина Т. В., 2018).

Экспериментальные данные показывают, что гаплонедостаточность гена *DISC1*, вероятно, выступает как основной компонент механизма, при котором транслокация увеличивает риск развития психического заболевания (Pipra A. et al., 2013). К гаплонедостаточности может приводить укорочение в центральной части открытой рамки считывания гена *DISC1*. Таким образом, получается белок, укороченный в области С-концевого домена. Несколько исследований показали, что этот предполагаемый укороченный белок обладает «доминантно-негативной» функцией, что нарушает функционирование аллеля дикого типа. Было показано aberrантное развитие мозга в присутствии нокдауна *DISC1* (Липина Т. В., 2018).

Кроме генов *DISC1* и *DISC2* выделяют ген *DISC1 Fusion Partner 1* (*DISC1FP1*, также известный как *Воумaw*), с нарушением в виде транслокации на хромосоме 11 (Zhou D. et al., 2008; Eukelenboom J. E. et al., 2012). Подобно *DISC2* ген *DISC1FP1* не принимает участие в кодировании и экспрессируется в головном мозге (Pipra A. et al., 2013). Это открытие позволяет предположить, что механизм заболевания более сложный, чем простое нарушение нормального функционирования, поскольку *DISC1* и *DISC1FP1* имеют одинаковую ориентацию и, как ожидается, образуют аномальные транскрипты и белки в результате транслокации (Zhou D. et al., 2008).

Заболевание может осложняться в результате слияния генов *DISC1* и *DISC1FP1* в результате транслокации. D. Zhou с сотрудниками предположил, что данное явление может привести к образованию химерных транскриптов (Zhou D. et al., 2008). Позже были получены экспериментальные подтверждения этому явлению. В лимфобластоидных клеточных линиях, полученных из носителей t(1; 11), обнаружено как минимум четыре различных химерных транскрипта, продуктами которых выступают химерные белки. В настоящий момент данных о влиянии химерных белков на развитие тех или иных заболеваний недостаточно, и требуются дополнительные исследования данного явления (Zhou D. et al., 2008).

Помимо транслокации путем секвенирования экзонов *DISC1* были идентифицированы несколько предполагаемых патогенных мутаций у пациентов (Song W. et al., 2008). Так мутация R37W, определенная у одного пациента с шизофренией, но не обнаруженная в исследованной контрольной группе (5000 человек), классифицирована как «ультра-редкая» мутация (“ultra-rare” mutation). Данные показывают, что эта мутация

является функциональной и повышает частоту локализации *DISC1* в митохондриях, где он вызывает их морфологические нарушения (Song W. et al., 2008).

Несмотря на то, что присутствие сбалансированной транслокации в шотландской семье представляет убедительные доказательства участия 1q42 гена *DISC1* в этиологии психических заболеваний, нерешенным остается вопрос принадлежности гена *DISC1* к группе риска в целом (Hennah W. et al., 2006). Исследования, проведенные с участием финских семей, подтвердили, что нарушение в строении и функционировании локуса 1q42 гена *DISC1* и гена *DISC2* приводит к развитию психических расстройств, в частности шизофрении (Hennah W. et al., 2006). Финская популяция представляет большую ценность в рамках генетических исследований, в силу своей генетической и экологической однородности, изоляции, наличия обширных генеалогических записей (Hovatta I. et al., 1997; Hennah W., 2006). Изучение финской семейной когорты, состоящей из 495 семей, позволило W. Hennah с сотрудниками определить 4 ограниченных локуса, названных НЕР гаплотипами. Наибольшую статистическую устойчивость показал гаплотип НЕР3, который состоит из 2 SNP гена *DISC1*, включающий расположенный на экзоне *DISC1* 2.21 несинонимичный rs3738401 (Arg264Gln) (Hennah W. et al., 2006). Обнаружено, что гаплотип НЕР3 связан с проявлением негативной симптоматики и галлюцинаций (Hennah W. et al., 2003). Т. D. Cannon с коллегами установили, что гаплотипы отображают связь с пространственными и визуальными функциями памяти и уменьшением объема серого вещества в дорсалатеральной префронтальной коре (Cannon T. D., 2005).

Ассоциация *DISC1* с психическими расстройствами имеет место не только в шотландской и финской популяциях. Ассоциация 1q42 с шизофренией, биполярным расстройством и шизоаффективными расстройствами, была найдена для американской, японской, тайваньской популяций (Hwu H. G., 2003; Hamshere M. L., 2005). Имеются исследования об участии в процессах познавательного и когнитивного старения, расстройствах функций памяти, аномалии в структуре и функциях гиппокампа (Callicott J. H., 2005; Thomson P. A., 2005).

1.7 Система дофамина и DISC1

Имеются данные о связи продукта гена *DISC1* с нарушениями в системе дофамина. *DISC1* представляет собой белок, взаимодействующий с белками, включенными с дофаминергическую систему. Исследование данных взаимодействий были проведены на

животных, с учетом влияния DISC1 на пресинаптическую и постсинаптическую функции дофамина (Dahoun T., 2017).

Исследования 2014 года, проведенные P. Su с соавторами, показали связь между белком DISC1 и дофаминовыми рецепторами второго типа (D2R) (Su P. et al., 2014). Известно, что используемые в терапии шизофрении антипсихотические препараты взаимодействуют с рецепторами дофамина, устраняя положительные и отрицательные симптомы шизофрении (Попов В., 2015). Однако действие препаратов может приводить к развитию побочных эффектов (экстрапирамидальные расстройства и т.д.). Определение специфического пути передачи сигналов через D2R рецепторы, который позволит избежать развития экстрапирамидальных нарушений, позволит улучшить процесс лечения шизофрении. В исследовании сообщалось, что D2R образует комплекс с DISC1-белком, что приводит к модуляции D2R-опосредованной передачи GSK3 β (Glycogen synthase kinase 3- β) и ингибирует интернализацию D2R, которая индуцируется агонистом D2R (Su et al., 2014). Введение пептида, нарушающего комплекс D2R-DISC1, приводит к реверсии дефицитов поведения без индуцирования каталепсии (Su P. et al., 2014).

Исследования, проведенные S. V. Trossbach с соавторами на крысах показали, что неправильная сборка полноразмерного белка DISC1 может выступать в качестве механизма развития психических заболеваний (Trossbach S. V., 2016). Они выявили, что новая модель трансгенных крыс с умеренной сверхэкспрессией трансгена *DISC1* демонстрирует фенотип, соответствующий результату неправильной сборки белка DISC1 при психических заболеваниях. В нейронах трансгенных крыс (tgDISC1) обнаруживали в основном перинуклеарные агрегаты DISC1. Более того, крысы tgDISC1 демонстрировали характерные модели поведения, что указывало на изменении нейротрансмиссии дофамина. После проведения серии исследований в области дорсального стриатума крыс tgDISC1 удалось наблюдать увеличение высокоаффинных D2-рецепторов дофамина (до 80%) и соответственно увеличение притока дофамина. Обратная связь между сборкой белка и гомеостазом дофамина была подтверждена исследованиями *in vitro* (Trossbach S. V., 2016).

Непосредственная взаимосвязь системы дофамина с геном *DISC1* была продемонстрирована в исследовании полиморфного варианта rs821616. Данный полиморфный вариант является наиболее изученным, и представляет собой несинонимичную мутацию, приводящую к трансляции серина (аллель А) или цистеина (аллель Т) в кодоне 704 экзона 11. Важно отметить, что rs821616 представляет собой вариацию не только в последовательности нуклеотидов, а также на уровне последовательности белка (Dahoun T., 2018). Продуктом гена *DISC1* является каркасный

белок, который участвует в широком спектре нейрональных реакций, в том числе в нейросигнализации (Porteous D. J., 2011). Доклинические исследования продемонстрировали, что при воздействии амфетамина модели вариантов *DISC1* демонстрируют повышенное высвобождение дофамина в вентральном стриатуме. Это говорит о влиянии различных вариаций *DISC1* на синтез пресинаптического дофамина (Dahoun T., 2017). T. Dahoun с соавторами, в свою очередь, показали, что сериновые гомозиготы *DISC1* rs821616 демонстрируют значительно более высокую способность к синтезу дофамина в полосатом теле, по сравнению с цистеиновыми гомозиготами и гетерозиготами (Dahoun T., 2018).

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект и материалы исследования

Исследование проводилось в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием людей (*Homo sapiens*) в качестве субъекта (2000 г.).

В исследование было включено 470 пациентов, из них 236 женщин и 234 мужчины, этнически русские, средний возраст $42,1 \pm 1,4$ (от 18 до 77 лет включительно) с диагнозом параноидной шизофрении в соответствии с диагностическими критериями МКБ–10. Контрольная группа составила 221 человек и была сопоставима по половозрастным признакам с группой пациентов.

В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Забор крови осуществлялся из локтевой вены, утром (в период с 8.00 до 9.00), натощак в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. Полученную кровь в дальнейшем использовали для выделения ДНК.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Метод выделения ДНК

Для выделения ДНК использовались лейкоциты цельной периферической крови, так как лейкоциты, в отличие от зрелых эритроцитов, содержат ядра. Выделение проводилось согласно протоколу стандартного фенол–хлороформного микрометода (Великов В. А., 2013). Обязательным условием являлась предварительная заморозка крови.

Предварительно готовят стандартные растворы SLR (*standard lysis buffer*) и SLB (*standard lysis red blood cells buffer*), необходимые для осаждения ДНК. Для удобства методика проведения эксперимента разбита на два дня работы, в течение которых проходит один цикл выделения ДНК.

В первый день для отделения и осаждения ДНК от других веществ используют растворы SLR и SLB. Так же проводят серию центрифугирований (параметры

устанавливаются согласно протоколу) для получения белого или бледно-розового (для относительно свежей крови) или грязно-красного осадка. К полученному осадку необходимо добавить растворы SLB, SDS (анионный детергент додецилсульфата натрия), протеинкиназу К. Пробирки инкубируют в течение 10,5 часов при температуре 37 °С.

Во второй день осуществляется отделение ДНК от белков и перенос раствора, содержащего ДНК (супернатант), в чистые эппендорфы. Для отчистки от белков использовалась смесь фенол/хлороформ/изоамиловый спирт и щелочь (6М NaCl). После переноса супернатанта к нему добавляют 96% спирт, полученную смесь центрифугируют. На последнем этапе производится удаление спирта, подсушивание ДНК на воздухе (до исчезновения запаха спирта), добавление воды. Эппендорфы оставляют на ночь при комнатной температуре для полного растворения ДНК.

Полученные образцы хранятся в плотном пакете в морозильной камере при $t = -20$ °С. Чтобы не перепутать образцы – пакет снабжается этикеткой с указанием времени выделения, маркировки проб, ФИО исследователя. Для выполнения дальнейших этапов исследования из проб готовится раствор ДНК с концентрацией 50–100 нг/мкл.

Степень чистоты выделенной ДНК определялась с помощью спектрофотометра марки Epoch (Biotek Instruments, Inc.), с использованием программного обеспечения v. 2.0 (Biotek Instruments, Inc.). Для выявления примесей белков в растворах ДНК проводился анализ соотношения поглощения растворов на длинах волн 260 и 280 нм. Чистая ДНК имеет A_{260}/A_{280} порядка 1,8. Также отклонения от нормы может давать загрязнение фенолом, что проявляется в более высоких, по сравнению с нормой, значениях концентрации ДНК.

2.2.2 Проведение полимеразной цепной реакции «в реальном времени»

Для определения полиморфных вариантов гена рецептора дофамина-D2 (Dopamine Receptor D2; *DRD2*) проводилась полимеразная цепная реакция согласно протоколу (Ребриков Д. В., 2009). В данном исследовании для определения однонуклеотидного полиморфизма использовался метод проведения ПЦР «в реальном времени». Данный метод позволяет производить измерения в реакционном объеме непосредственно в ходе ПЦР.

Для проведения ПЦР использовали готовые планшеты на 96-лунок с разведениями ДНК. Анализ проводился для группы контроля. В ходе проведения полимеразной цепной реакции использовались коммерческий праймер *DISC1* (Applied Biosystems™), мастер-микс марки TaqMan Standard Master Mix (Applied Biosystems™), дистиллированная вода.

Основой мастер-микса является Taq полимераза. Taq полимераза представляет собой высокоочищенный фермент Taq ДНК полимеразу, который обеспечивает быстрый «горячий старт» за счет химической модификации в активном центре фермента. Поскольку Taq полимераза сохраняет значительную активность при комнатной температуре основной задачей «горячего старта» является предотвращение неспецифического отжига на одноцепочечную фракцию в очищенной ДНК. «Горячий старт» можно осуществить, применив один из нескольких подходов: использование парафиновой пробки, ингибирование полимеразы антителами, химическая модификация полимеразы и т.д.

Таким образом, были выбраны следующие полиморфные варианты для анализа: rs4245147, rs134655, rs6277, rs1076560 (*DRD2*); rs821616 (*DISC1*). Генотипирование производилось на real-time PCR амплификаторе QuantStudio5. В ходе проведения полимеразной цепной реакции использовались коммерческие праймеры.

2.2.3 Статистическая обработка данных

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы SPSS 17.0. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 . В качестве нулевой гипотезы задавалось соответствие распределению Харди–Вайнберга. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Также рассчитывалось отношение шансов (OR, odds ratio) с указанием 95%-го доверительного интервала.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение генотипов вариантов полиморфных генов *DRD2* (rs4245147, rs134655, rs6277, rs1076560) и *DISC1* (rs821616) у больных шизофренией и группы контроля проверяли на соответствие распределению по закону Харди–Вайнберга. Результаты представлены в таблицах 1–5.

Таблица 1 – Тест Харди–Вайнберга для случаев и контроля rs4245147

| Вариант полиморфного гена <i>DRD2</i> | Группы | Генотипы | | | χ^2 | p |
|---------------------------------------|------------------------|----------|-------|-------|----------|------|
| | | C/C | C/T | T/T | | |
| rs4245147 | Случаи (наблюдаемые) | 0,177 | 0,456 | 0,367 | 0,33 | 0,25 |
| | Случаи (ожидаемые) | 0,164 | 0,482 | 0,354 | | |
| | Контроль (наблюдаемые) | 0,118 | 0,520 | 0,362 | 1,41 | 0,24 |
| | Контроль (ожидаемые) | 0,143 | 0,470 | 0,387 | | |

Таблица 2 – Тест Харди–Вайнберга для случаев и контроля rs134655

| Вариант полиморфного гена <i>DRD2</i> | Группы | Генотипы | | | χ^2 | p |
|---------------------------------------|------------------------|----------|-------|-------|----------|------|
| | | C/C | C/G | G/G | | |
| rs134655 | Случаи (наблюдаемые) | 0,323 | 0,516 | 0,161 | 1,58 | 0,21 |
| | Случаи (ожидаемые) | 0,338 | 0,487 | 0,175 | | |
| | Контроль (наблюдаемые) | 0,281 | 0,500 | 0,219 | 0,01 | 0,97 |
| | Контроль (ожидаемые) | 0,282 | 0,498 | 0,220 | | |

Таблица 3 – Тест Харди–Вайнберга для случаев и контроля rs6277

| Вариант полиморфного гена <i>DRD2</i> | Группы | Генотипы | | | χ^2 | p |
|---------------------------------------|------------------------|----------|-------|-------|----------|------|
| | | C/C | C/T | T/T | | |
| rs6277 | Случаи (наблюдаемые) | 0,282 | 0,491 | 0,226 | 0,09 | 0,76 |
| | Случаи (ожидаемые) | 0,279 | 0,498 | 0,223 | | |
| | Контроль (наблюдаемые) | 0,262 | 0,556 | 0,183 | 1,76 | 0,18 |
| | Контроль (ожидаемые) | 0,291 | 0,497 | 0,212 | | |

Таблица 4 – Тест Харди–Вайнберга для случаев и контроля rs1076560

| Вариант полиморфного гена <i>DRD2</i> | Группы | Генотипы | | | χ^2 | p |
|---------------------------------------|----------------------|----------|-------|-------|----------|------|
| | | C/C | C/A | A/A | | |
| rs1076560 | Случаи (наблюдаемые) | 0,669 | 0,283 | 0,048 | 2,79 | 0,09 |

Продолжение таблицы 4

| Вариант полиморфного гена <i>DRD2</i> | Группы | Генотипы | | | χ^2 | p |
|---------------------------------------|------------------------|----------|-------|-------|----------|------|
| | | C/C | C/A | A/A | | |
| rs1076560 | Случаи (ожидаемые) | 0,657 | 0,307 | 0,036 | 0,01 | 0,93 |
| | Контроль (наблюдаемые) | 0,667 | 0,298 | 0,035 | | |
| | Контроль (ожидаемые) | 0,666 | 0,301 | 0,034 | | |

Таблица 5 – Тест Харди–Вайнберга для случаев и контроля rs821616

| Вариант полиморфного гена <i>DISC1</i> | Группы | Генотипы | | | χ^2 | p |
|--|------------------------|----------|-------|-------|----------|------|
| | | A/A | A/T | T/T | | |
| rs821616 | Случаи (наблюдаемые) | 0,518 | 0,392 | 0,090 | 0,42 | 0,52 |
| | Случаи (ожидаемые) | 0,509 | 0,409 | 0,082 | | |
| | Контроль (наблюдаемые) | 0,481 | 0,398 | 0,120 | 0,77 | 0,38 |
| | Контроль (ожидаемые) | 0,463 | 0,435 | 0,102 | | |

По результатам анализа значимых отличий не выявлено, не показана ассоциация изученных полиморфных вариантов rs4245147, rs134655, rs6277, rs1076560 с шизофренией. Уровень значимости для всех полиморфизмов имеет показатель $p > 0,05$. Согласно значениям отношения шансов (OR) нельзя сделать заключение об ассоциированности маркера с патологией, а также о протективном или предрасполагающем эффекте гена. Результаты представлены в таблицах 6–10.

Таблица 6 – Частоты аллелей и генотипов для полиморфизма rs4245147 гена *DRD2* в группах больных шизофренией и здоровых лиц

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | знач. | (95% CI) | | |
| CC | 83 (17,7%) | 15 (11,8%) | 1,61 | 0,89 – 2,90 | 3,94 | 0,14 |
| CT | 214 (45,6%) | 66 (52,0%) | 0,78 | 0,52 – 1,16 | | |
| TT | 172 (36,7%) | 46 (36,2%) | 1,02 | 0,68 – 1,54 | | |
| C | 190 (40,5%) | 48 (37,8%) | 1,12 | 0,84 – 1,49 | 0,37 | 0,54 |

Продолжение таблицы 6

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | знач. | (95% CI) | | |
| T | 279 (59,5%) | 79 (62,2%) | 0,89 | 0,67 – 1,19 | 0,37 | 0,54 |

Примечания: χ^2 – хи-квадрат, p-value – уровень статистической значимости, OR – отношение шансов (odds ratio); (95 % CI) – 95 %-ный доверительный интервал.

Таблица 7 – Частоты аллелей и генотипов для полиморфизма rs134655 гена DRD2 в группах больных шизофренией и здоровых лиц

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | знач. | (95% CI) | | |
| CC | 141 (32,3%) | 32 (32,3%) | 1,22 | 0,78 – 1,93 | 1,46 | 0,48 |
| CG | 225 (51,6%) | 57 (50,0%) | 1,07 | 0,71 – 1,61 | | |
| GG | 70 (16,1%) | 25 (21,9%) | 0,68 | 0,41 – 1,41 | 0,97 | 0,32 |
| C | 253 (58,1%) | 61 (53,1%) | 1,23 | 0,92 – 1,65 | | |
| G | 183 (41,9%) | 53 (46,9%) | 0,81 | 0,61 – 1,09 | | |

Примечания: χ^2 – хи-квадрат, p-value – уровень статистической значимости, OR – отношение шансов (odds ratio); (95 % CI) – 95 %-ный доверительный интервал.

Таблица 8 – Частоты аллелей и генотипов для полиморфизма rs6277 гена DRD2 в группах больных шизофренией и здоровых лиц

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | знач. | (95% CI) | | |
| CC | 132 (28,2%) | 33 (26,2%) | 1,11 | 0,71 – 1,73 | 1,57 | 0,46 |
| CT | 230 (49,1%) | 70 (55,6%) | 0,77 | 0,52 – 1,15 | | |
| TT | 106 (22,6%) | 23 (18,3%) | 1,31 | 0,79 – 2,16 | 1,59 | 0,21 |
| C | 247 (52,8%) | 68 (54,0%) | 0,95 | 0,72 – 1,26 | | |
| T | 221 (47,2%) | 58 (46,0%) | 1,05 | 0,79 – 1,39 | | |

Примечания: χ^2 – хи-квадрат, p-value – уровень статистической значимости, OR – отношение шансов (odds ratio); (95 % CI) – 95 %-ный доверительный интервал.

Таблица 9 – Частоты аллелей и генотипов для полиморфизма rs1076560 гена DRD2 в группах больных шизофренией и здоровых лиц

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | Знач. | (95% CI) | | |
| CC | 291 (66,9%) | 76 (66,7%) | 1,01 | 0,65 – 1,57 | 1,55 | 0,46 |

Продолжение таблицы 9

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | Знач. | (95% CI) | | |
| CA | 123 (28,3%) | 34 (29,8%) | 0,93 | 0,59 – 1,46 | 1,55 | 0,46 |
| AA | 21 (4,8%) | 4 (3,5%) | 1,39 | 0,47 – 4,15 | | |
| C | 352 (81,0%) | 93 (81,6%) | 0,96 | 0,66 – 1,40 | 1,43 | 0,23 |
| A | 83 (19,0%) | 21 (18,4%) | 1,04 | 0,71 – 1,51 | | |

Примечания: χ^2 – хи-квадрат, p-value – уровень статистической значимости, OR – отношение шансов (odds ratio); (95 % CI) – 95 %-ный доверительный интервал.

В исследованиях, посвященных изучению шизофрении, полиморфизм rs4245147 либо не ассоциирован с данным заболеванием, либо не встречается в исследованиях шизофрении русских и зарубежных авторов. Полученные нами значения частот аллелей C и T полиморфизма rs4245147 гена *DRD2* соответствуют распределению по данным литературы (Voisey J., 2012).

В исследовании были получены результаты, которые не соотносятся с результатами исследований зарубежных исследователей в отношении полиморфных вариантов rs6277 и rs1076560. Для болгарской популяции полиморфизм rs6277 единственный из исследуемых вариантов показал ассоциацию с шизофренией ($p = 0,0010$, OR = 1,76) (Betcheva E. T. et al., 2008). Ассоциация rs6277 и rs1076560 с шизофренией была установлена для китайцев хань (OR = 1,58, 95% CI = 1,03–2,43, $p = 0,034$; OR = 1,13, 95% CI = 1,02–1,25, $p = 0,023$) (Fan H., 2010; Zheng C., 2012), однако не получила подтверждение для русской популяции в настоящем исследовании. Полиморфизм rs1076560 был валидирован и подтвержден как фактор риска для шизофрении по результатам метаанализа (Луукх J. J., 2017). Во всех источниках T–аллель выделяется, как аллель риска (Fan H., 2010; Nan J., 2017; Османова Д. З., 2017).

Для полиморфного варианта rs134655 имеются статистически значимые результаты в исследованиях депрессивных расстройств (Losenkov I., 2016).

Полиморфный вариант гена *DISC1* (rs821616) не показал ассоциации с заболеванием в настоящем исследовании. Данные представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Частоты аллелей и генотипов для полиморфизма rs821616 гена *DISC1* в группах больных шизофренией и здоровых лиц

| Аллели и генотипы | Пациенты с шизофренией, % | Контрольная группа, % | OR | | χ^2 | p |
|-------------------|---------------------------|-----------------------|-------|-------------|----------|------|
| | | | Знач. | (95% CI) | | |
| AA | 132 (51,8%) | 52 (48,1%) | 1,16 | 0,74 – 1,81 | 0,90 | 0,64 |
| AT | 100 (39,2%) | 43(39,2%) | 0,98 | 0,62 – 1,54 | | |
| TT | 23 (9,0%) | 13 (9,0%) | 1,72 | 0,35 – 1,49 | | |
| A | 182 (71,4%) | 73 (68,1%) | 1,17 | 0,83 – 1,65 | 0,80 | 0,37 |
| T | 73 (28,6%) | 35 (31,9%) | 0,85 | 0,61 – 1,21 | | |

Примечания: χ^2 – хи-квадрат, p-value – уровень статистической значимости, OR – отношение шансов (odds ratio); (95 % CI) – 95 %-ный доверительный интервал.

Результаты мета-анализа, проведенного группой Н. У. Wang в 2018 году, продемонстрировали, что варианты полиморфного гена rs821616 и rs821597 повышают риск развития шизофрении (Wang Н. У., 2018). В исследованных группах по этнической принадлежности варианты полиморфного гена были связаны с восприимчивостью к шизофрении среди населения Китая (rs821616: TT + AT против AA: OR = 1,338, 95% CI = 1,124-1,592, p = 0,001; T против A: OR = 1,300, 95% CI = 1,124–1,504, p <0,000). Была установлена положительная корреляция между rs821616 и шизофренией среди пациентов в японской популяции по рецессивной модели (TT против AT + AA: OR = 1,524, 95% CI = 1,185–1,959, p = 0,001) (Wang Н. У., 2018).

Для однонуклеотидных полиморфизмов некоторых генов была продемонстрирована связь между вариантами генотипов и симптоматикой у пациентов с шизофренией. Так при исследовании rs1625579 (ген *MIR137*) пациенты с генотипом T/G показали меньшую выраженность положительных симптомов и общую психопатологию по сравнению с гомозиготными субъектами. Показатели отрицательных симптомов и общий показатель PANSS были значительно выше у женщин с генотипом T/T по сравнению с T/G + G/G (Kandratsenka Н., 2018).

Участие гена *DRD2* выражено в рамках позитивной симптоматики. На наиболее распространенном варианте rs2514218 (ген *DRD2*) J. P. Zhang и соавторами обнаружили, что гомозиготы по аллелю С в этом локусе имели более выраженные позитивные симптомы в начале исследования, чем носители Т-аллеля (Zhang J. P. et al., 2015). Однако после лечения арипипразолом или рисперидоном (оба препарата относятся к антипсихотикам нового поколения, которые уменьшают сигнальную активность стриатального дофамина), носители, гомозиготные по аллелю С, имели значительное улучшение в отношении позитивных симптомов, чем носители Т-аллеля. Это исследование подтверждает гипотезу о том, что положительные симптомы связаны с

чрезмерной дофаминергической активностью в мезолимбическом пути (Zhang J. P. et al., 2015).

Kurian с сотрудниками установили снижение экспрессии гена *DRD2* в бредовых состояниях, позже группа во главе с L. Liu подтвердила данные результаты для китайской популяции ханьцев, отметив, что *DRD2* был связан с позитивной симптоматикой при острой, но не при хронической шизофрении (Kurian S. M. et al., 2011; Liu L. et al., 2013).

Y. L. Chien с соавторами продемонстрировали связь между гаплотипами rs1079727(A)–rs2440390(C)–rs2283265(G) (блок 3) и rs1801028(G)–rs1110977(A)–rs1124492(C)–rs2734841(T) гена *DRD2* с негативной симптоматикой. Пациенты, несущие гаплотип риска (A – C – G) блока 3, имели более высокий средний балл по шкале отрицательных симптомов, тогда как значительных различий в отношении положительной симптоматики и дезорганизующих симптомов установлено не было (Chien Y. L. et al., 2013). Также в ранних исследованиях Z. Zahari была установлена связь между вариантами *DRD2* и негативными симптомами (Zahari Z. et al., 2011). Мотивационный дефицит, по-видимому, является основным негативным симптомом, который опосредуется через стриатальную дофаминергическую систему. Рецептор дофамина мозжечка D2, связанный с генами субъединиц рецептора NMDA, связан с негативными симптомами, однако функциональный механизм данного процесса не известен (Pinacho R. et al., 2013). Таким образом, можно заключить, что свидетельство генетических ассоциаций указывает на передачу дофаминергических сигналов, особенно в мезолимбических областях (Zhang Z. et al., 2015).

Для полиморфизма Ser9Gly гена *DRD3* (кодирующего D3-рецепторы), J. Vehof с соавторами обнаружили, что аллель С связан с улучшением в отношении положительных симптомов (Vehof J. et al., 2012).

Присутствие генотипа Ser704Cys (ген *DISC1*) связано с галлюцинациями в начале первого эпизода психоза ($F = 5,75$; $p = 0,017$), и более ранние исследования обнаружили связь между присутствием этого генотипа и выраженностью бредовых симптомов при шизофрении в течение жизни. Пациенты, гомозиготные по аллелю Ser, имели большую степень выраженности положительных симптомов, чем носители аллеля Cys ($F = 6,85$; $p = 0,009$) (Vazquez-Bourgon J. et al., 2014).

Сравнительный частотный анализ между позитивной и негативной симптоматикой и генотипами в нашем исследовании демонстрирует численное превосходство пациентов с позитивной симптоматикой над негативной для каждого полиморфного варианта, что согласуется с исследователями зарубежных авторов. Наибольшими численными выражениями характеризуются гомозиготы по аллелю дикого типа, а также гетерозиготы.

Анализ частот вариантов полиморфных генов *DRD2* и *DISC1* не позволил подтвердить нашу гипотезу об участии генов-кандидатов в формировании клинической симптоматики. Результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Сравнение генотипов полиморфных вариантов генов *DRD2* и *DISC1* с позитивной и негативной симптоматикой

| Полиморфные варианты | Аллели и генотипы | Пациенты с позитивной симптоматикой, % | Пациенты с негативной симптоматикой, % | OR | | χ^2 | p |
|----------------------------|-------------------|--|--|-------|-------------|----------|------|
| | | | | знач. | (95% CI) | | |
| <i>(DRD2)</i> rs4245147 | CC | 48 (19,9%) | 25 (13,7%) | 1,56 | 0,92 – 2,65 | 3,94 | 0,14 |
| | CT | 102 (42,3%) | 92 (50,5%) | 0,72 | 0,49 – 1,06 | | |
| | TT | 91 (37,8%) | 65 (35,7%) | 1,09 | 0,73 – 1,63 | | |
| | C | 99 (41,1%) | 71 (39,0%) | 1,09 | 0,83 – 1,44 | 0,37 | 0,54 |
| | T | 142 (58,9%) | 111 (61,0%) | 0,92 | 0,69 – 1,21 | | |
| <i>(DRD2)</i> rs134655 | CC | 77 (33,9%) | 52 (31,3%) | 1,13 | 0,73 – 1,73 | 1,46 | 0,48 |
| | CG | 119 (52,4%) | 84 (50,6%) | 1,08 | 0,72 – 1,61 | | |
| | GG | 31 (13,7%) | 30 (18,1%) | 0,72 | 0,41 – 1,24 | | |
| | C | 136 (60,1%) | 95 (56,6%) | 1,16 | 0,87 – 1,54 | 0,97 | 0,32 |
| | G | 91 (39,9%) | 71 (43,4%) | 0,87 | 0,65 – 1,15 | | |
| <i>(DRD2)</i> rs6277 | CC | 72 (30,0%) | 46 (25,3%) | 1,27 | 0,82 – 1,95 | 1,57 | 0,46 |
| | CT | 117 (48,8%) | 90 (49,5%) | 0,97 | 0,66 – 1,43 | | |
| | TT | 51 (21,3%) | 46 (25,3%) | 0,08 | 0,51 – 1,26 | | |
| | C | 130 (54,4%) | 91 (50,0%) | 1,19 | 0,91 – 1,57 | 1,59 | 0,21 |
| | T | 110 (45,6%) | 91 (50,0%) | 0,84 | 0,64 – 1,10 | | |
| <i>(DRD2)</i> rs1076560 | CC | 151 (66,5%) | 117 (70,9%) | 0,82 | 0,53 – 1,26 | 1,55 | 0,46 |
| | CA | 64 (28,2%) | 43 (26,1%) | 1,11 | 0,71 – 1,75 | | |
| | AA | 12 (5,3%) | 5 (3,0%) | 1,79 | 0,62 – 5,17 | | |
| | C | 184 (80,6%) | 139 (83,9%) | 0,80 | 0,55 – 1,16 | 1,43 | 0,23 |
| | A | 43 (19,4%) | 26 (16,1%) | 1,26 | 0,86 – 1,83 | | |
| <i>(DISC1)</i> rs821616 | AA | 64 (51,2%) | 54 (53,5%) | 0,91 | 0,54 – 1,54 | 2,04 | 0,36 |
| | AT | 53 (42,4%) | 36 (35,6%) | 1,33 | 0,77 – 2,28 | | |
| | TT | 8 (6,4%) | 11 (10,9%) | 0,56 | 0,22 – 1,45 | | |
| | A | 90 (72,4%) | 72 (71,3%) | 1,06 | 0,70 – 1,60 | 0,07 | 0,79 |
| | T | 35 (27,6%) | 29 (28,7%) | 0,95 | 0,63 – 1,43 | | |

Примечания: χ^2 – хи-квадрат, p-value – уровень статистической значимости, OR – отношение шансов (odds ratio); (95 % CI) – 95% доверительный интервал.

ВЫВОДЫ

1. Анализ частот вариантов полиморфного гена *DRD2* (rs4245147, rs134655, rs6277, rs1076560) не выявил значимых ассоциаций с развитием шизофрении;
2. Анализ частот варианта полиморфного гена *DISC1* (rs821616) не выявил значимых ассоциаций с развитием шизофрении;
3. Статистический анализ вариантов полиморфного гена *DRD2* (rs4245147, rs134655, rs6277, rs1076560) не выявил значимых ассоциаций с симптоматикой у пациентов с шизофренией;
4. Статистический анализ варианта полиморфного гена *DISC1* (rs821616) не выявил значимых ассоциаций с симптоматикой у пациентов с шизофренией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Генетические аспекты шизофрении / А. Ю. Морозова [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 26, вып. 3. – С. 27–31.
2. Голимбет В. Е. Геноархитектоника шизофрении // Психическое здоровье: социальные, клинико-организационные и научные аспекты. – 2017. – С. 175–163.
3. Голимбет В. Е. Молекулярно–генетические нарушения при шизофрении // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, вып. 5. – С. 830-839.
4. Данилов Д. С. Атипичный нейролептик клозапин (азалептин): спектр терапевтических эффектов и повторная оценка эффективности при лечении шизофрении // Социальная и клиническая психиатрия. – 2011. – Т. 21, № 4. – С. 58–63.
5. Лечение острого периода шизофрении / П. Фалкай [и др.] // Всемирный журнал биологической психиатрии. – 2005. – Т. 6, вып. 3. – С. 132–191.
6. Липина Т. В. Вклад точечной мутации гена DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia-1) в патогенез шизофрении: экспериментальное исследование : дис. на соискание ученой степени д–ра биол. наук / Т. В. Липиной. – Нск., 2018. – 204 с.
7. Нейробиологический профиль ультравысокого риска шизофрении: обзор итогов мультидисциплинарного ВП–МРТ исследования / А. С. Лебедева [и др.]. – 2017. – Т. 27, № 1. – С. 55–61.
8. Олейчик И. В. Современные подходы к лечению шизофрении и расстройств шизофренического спектра / И. В. Олейчик, П. А. Баранов // Клиническая фармакология и терапия. – 2012. – Т. 21, вып. 4. – С. 52–58.
9. Османова Д. З. Ассоциация полиморфных вариантов генов DRD2 и DRD3 с развитие нейролептической гиперпролактинемии у больных шизофренией / Д. З. Османова, И. В. Пожидаев, А. С. Бойко // Перспективы развития фундаментальных наук. – 2017. – С. 121–123.
10. Попов. В. Нейролептики [Электронный ресурс] / 2015. – URL: <http://pharmacology.by/lekicii/chastnaya-farmakologiya/tsentralnaya-nervnaya-sistema/nejroleptiki.html> (дата обращения: 12.06.2019).
11. Потанин С. С. Теория и практика обострения шизофрении (ретроспективное исследование) / С. С. Потанин, Д. С. Бурминский, М. А. Морозова // Жур. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2014. – Т. 114, вып. 5. – С. 17–21.
12. ПЦР «в реальном времени» / Д. В. Ребриков [и др.] ; под ред. Д. В. Ребрикова. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 223 с.

13. Рогачев Е. И. Генетические подходы в исследовании функция мозга и психических заболеваний // Вестник РАН. – 2010. Т. 80, вып. 5–6. – С. 488–497.
14. Роль генов дофаминовых рецепторов в клиническом полиморфизме шизофрении, ответе на фармакотерапию и антипсихотик-индуцированных побочных эффектах / Д. З. Османова [и др.] // Научное обозрение. Биологические науки. – 2018. – № 5. – С. 22–27.
15. Смулевич А. Б. Шизофрения или группа эндогенных заболевания? История и современность // Жур. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2015. – № 8. – С. 4–12.
16. Сочетание полиморфизмов генов дофаминового рецептора типа 2 [DRD2 – 141C INS/DEL] и протеинкиназы PKK2 [DRD2/ANKK1 TAQ1A] снижает генетический риск развития параноидной шизофрении / А. О. Кибитов [и др.] // Социальная и клиническая психиатрия. – 2017. – Т. 27, вып. 3. – С. 63–72.
17. Тиганов А. С. Руководство по психиатрии / А. С. Тиганов. – М.: Медицина, 1999. – 700 с.
18. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению шизофрении / В. Н. Краснов [и др.]. – М., 2013. – 32 с.
19. Хмельницкая Е. А. Эффективность психообразовательной программы для пациентов, страдающих шизофренией, в двухлетнем катамнезе в сравнении со стандартным лечением // Военная медицина. – 2012. – № 1. – С. 107–113.
20. Юрьева Л. Н. Этиология и патогенез шизофрении // Вестник психиатрии и психологии Чувашии. – 2010. – № 6. – С. 139–153.
21. A disrupted-in-schizophrenia 1 gene variant is associated with clinical symptomatology in patients with first-episode psychosis / J. Vazquez-Bourgon [et al.] // Psychiatry Investigation. – 2014. – Vol. 11. – P. 186–191.
22. A dopamine D2 receptor-DISC1 protein complex may contribute to antipsychotic-like effects / P. Su [et al.] // Neuron. – 2014. – Vol. 84. – №6. – P. 1302–1316.
23. A Genome-Wide Investigation of SNPs and CNVs in Schizophrenia / A. C. Need [et al.] // PLoS Genet. – 2009.
24. A Novel DRD2 Single-Nucleotide Polymorphism Associated with Schizophrenia Predicts Age of Onset: HapMap Tag-Single-Nucleotide Polymorphism Analysis / Voisey J. [et al.] // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. – 2012. – P. 77–81.
25. An association study of DRD2 gene polymorphisms with schizophrenia in a Chinese Han population / H. Fan [et al.] // Neurosci. Lett. – 2010. – P. 53–56.

26. Analysis of Sp transcription factors in the postmortem brain of chronic schizophrenia: A pilot study of relationship to negative symptoms / R. Pinacho [et al.] // *Journal of Psychiatric Research*. – 2013. – Vol. 47. – P. 926–934.
27. Assessment between Dopamine Receptor D2 (DRD2) Polymorphisms and Schizophrenia in Korean Population / A. R. Cho [et al.] // *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* – 2012. – P. 88–93.
28. Association between genotype at an exonic SNP in DISC1 and normal cognitive aging / P. A. Thomson [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2005. – Vol. 389. – P. 41–45.
29. Association of a schizophrenia risk variant at the DRD2 locus with antipsychotic treatment response in first-episode psychosis / J. P. Zhang [et al.] // *Schizophrenia Bulletin*. – 2015. – Vol. 41. – №6. – P. 1248–1255.
30. Association of DISC1/TRAX haplotypes with schizophrenia, reduced prefrontal gray matter, and impaired short- and long-term memory / T. D. Cannon [et al.] // *Arch. Gen. Psychiatry*. – 2005. – Vol. 62. – № 11. – P. 1205–1213.
31. Association of microRNA137 gene polymorphisms with age at onset and positive symptoms of schizophrenia in a Han Chinese population / S. Wang [et al.] // *Journal of Psychiatry in Medicine*. – 2014. – Vol. 47. – P. 153–168.
32. Association of MIR137 with Symptom Severity and Cognitive Functioning in Belarusian Schizophrenia Patients / H. Kandratsenka [et al.] // *Frontiers in Psychiatry*. – 2018. – P. 1–9.
33. Associations between dopamine D2 receptor gene polymorphisms and schizophrenia risk: a PRISMA compliant meta-analysis / H. He [et al.] // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2016. – P. 3129–3144.
34. At(1;11) translocation linked to schizophrenia and affective disorders gives rise to aberrant chimeric DISC1 transcripts that encode structurally altered, deleterious mitochondrial proteins / J. E. Eykelenboom [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2012. – Vol. 21. – №15. – P. 3374–3386.
35. Bak L. K. The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer / L. K. Bak, A. Schousboe, H. S. Waagepetersen // *J. Neurochem.* – 2006. – P. 641–653.
36. Biological Insights From 108 Schizophrenia-Associated Genetic Loci / S. Ripke [et al.] // *Nature*. – 2014. – P. 421–427.
37. Brown A. S. The environment and susceptibility to schizophrenia. // *Progress in Neurobiology*. – 2011. – Vol. 93. – P. 23-58.
38. Carpenter W. T. Schizophrenia: the beginning, the change, the future. 15th World Congress of Psychiatry // *Abstract Book*. – 2011.

39. Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population / E. T. Betcheva [et al.] // *J. Hum. Genet.* – 2009. – P. 98–107.
40. Clinical response to antipsychotic drug treatment: Association study of polymorphisms in six candidate genes / J. Vehof [et al.] // *European Neuropsychopharmacology.* – 2012. – Vol. 22. – P. 625–631.
41. Crow T. J. Molecular pathology of schizophrenia: more than one disease process? // *Br. Med. J.* – 1980. – P. 66–68.
42. Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling / Y. Mao [et al.] // *Cell.* – 2009. – V.136. – P. 1017–1031.
43. DISC1 at 10: connecting psychiatric genetics and neuroscience. Trends in molecular medicine / D. J. Porteous [et al.] // *Trends in molecular medicine.* – 2011. – Vol. 17. – №12. – P. 699–706.
44. DISC1-dependent switch from progenitor proliferation to migration in the developing cortex / K. Ishizuka [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 473. – P. 92–96.
45. DISC1 genetics, biology and psychiatric illness / A. Pippa [et al.] // *Front. Biol.* – 2013. – Vol. 8. – №1. – P. 1–31.
46. DISC1 genetics, biology and psychiatric illness / S. V. Trossbach [et al.] // *Molecular Psychiatry.* – 2016. – Vol. 21. – №11. – P. 1561–1572.
47. DISC1 splice variants are upregulated in schizophrenia and associated with risk polymorphisms / K. Nakata [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol. 106. – № 37. – P. 15873-15878.
48. Disrupted in schizophrenia 1 [DISC1] is a constituent of the mammalian mitochondrial contact site and cristae organizing system [MICOS] complex, and is essential for oxidative phosphorylation / E. Pinero-Martos [et al.] // *Human Molecular Genetics.* – 2016. – Vol. 25. – № 19. – P. 4157–4169.
49. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia / J. K. Millar [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2000. – Vol. 9. – P. 1415–1423.
50. DRD2 gene polymorphisms association with severity of depressive symptoms and antidepressive therapy response in patients with depressive disorders / I. Losenkov [et al.] // *E. Neuropsychopharmacology.* – 2016. – P. 173–174.
51. DRD2 haplotype associated with negativesymptoms and sustained attention deficits in Han Chinese withschizophrenia in Taiwan / Y. L. Chien [et al.] // *Journal of Human Genetics.* – 2013. – Vol. 58. – P. 229–232.

52. Effects of NMDA antagonism on striatal dopamine release in healthy subjects: application of a novel PET approach / A. Breier [et al.] // *Synapse*. – 1998. – P. 142–147.
53. Evolutionary constraints on the Disrupted in Schizophrenia locus / M. S. Taylor [et al.] // *Genomics*. – 2003. – Vol. 81. – №1. – P. 67–77.
54. First in vivo evidence of an NMDA receptor deficit in medication-free schizophrenic patients / L. S. Pilowsky [et al.] // *Mol. Psychiatry*. – 2006. – P. 118–119.
55. Gejman P.V. The Role of Genetics in the Etiology of Schizophrenia / P. V. Gejman, A. R. Sanders, J. Duan. – 2010. – P. 35–66.
56. Genome-wide linkage scan in schizoaffective disorder: significant evidence for linkage at 1q42 close to DISC1, and suggestive evidence at 22q11 and 19p13 / M. L. Hamshere [et al.] // *Arch. Gen. Psychiatry*. – 2005. – Vol. 62. – P. 1081–1088.
57. Global variation in copy number in the human genome / R. Redon [et al.] // *Nature*. – 2006. – P. 444–454.
58. Glutamate modulation of dopamine measured in vivo with positron emission tomography (PET) and 11C-raclopride in normal human subjects / G. S. Smith [et al.] // *Neuropsychopharmacology*. – 1998. – P. 18–25.
59. Han J. Potential link between genetic polymorphisms of catechol-O-methyltransferase and dopamine receptors and treatment efficacy of risperidone on schizophrenia / J. Han, Y. Li, X. Wang // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2017. – P. 2935–2943.
60. Haplotype transmission analysis provides evidence of association for DISC1 to schizophrenia and suggests sex-dependent effects / W. Hennah [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2003. – Vol. 12. – № 23. – P. 3151–3159.
61. Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events / A. S. Khashan [et al.] // *Arch. Gen. Psychiatry*. – 2008. – Vol. 65. – P. 146–152.
62. Hikida T. DISC1 as a therapeutic target for mental illnesses / T. Hikida, N. J. Gamo, A. Sawa // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. – 2014. – Vol. 16. – №12. – P. 1151–1160.
63. Howes O. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century / O. Howes, R. McCutcheon, J. Stone // *J. Psychopharmacol.* – 2016. – P. 97–115.
64. Identification of blood biomarkers for psychosis using convergent functional genomics / S. M. Kurian [et al.] // *Molecular Psychiatry*. – 2011. – Vol. 16. – №1. – P. 37–58.
65. Identification of high risk DISC1 structural variants with a 2% attributable risk for schizophrenia / W. Song [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 367. – №4. – P. 700–706.

66. Identification of the mRNA expression status of the dopamine D2 receptor and dopamine transporter in peripheral blood lymphocytes of schizophrenia patients / L. Liu [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8.
67. Impact of DRD2/ANKK1 and COMT Polymorphisms on Attention and Cognitive Functions in Schizophrenia / I. Nkam [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – P. 12[1].
68. Increased glutamine in patients undergoing long-term treatment for schizophrenia: a proton magnetic resonance spectroscopy study at 3 T / J. R. Bustillo [et al.] // *JAMA Psychiatry*. – 2014. – P. 265–272.
69. Influence of DRD2 polymorphisms on the clinical outcomes of patients with schizophrenia / Z. Zahari [et al.] // *Psychiatr. Genet.* – 2011. – Vol. 21. – №4. – P. 183–189.
70. Jablensky A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects // *Dialogues. Clin. Neurosci.* – 2010. – Vol. 12. – № 3. – P. 271–287.
71. Jakob H. Prenatal developmental disturbances in the limbic allocortex in schizophrenics / H. Jakob, H. Beckmann // *J. Neural. Transm.* – 1986. – Vol. 65. – № 3. – P. 303–326.
72. Kay S. R. Reliability and Validity of the Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenics / S. R. Kay, L. A. Opler, J. P. Lindenmayer // *Psychiatry Research*. – 2017. – P. 99–110.
73. Large-scale copy number polymorphism in the human genome / J. Sebat [et al.] // *Science*. – 2004. – P. 525–528.
74. Linkage of schizophrenia with chromosome 1q loci in Taiwanese families / H. G. Hwu [et al.] // *Mol. Psychiatry*. – 2003. – Vol. 8. – P. 445–452.
75. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia / J. S. Kim [et al.] // *Neuroscience Letters*. – 2006. – P. 444–454.
76. Luykx J. J. The DRD2 rs1076560 polymorphism and schizophrenia-related intermediate phenotypes: A systematic review and meta-analysis / J. J. Luykx, J. L. Broersen, M. de Leeuw // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2017. – P. 214–224.
77. Matthew J. Girgenti. ZNF804a Regulates Expression of the Schizophrenia-Associated Genes PRSS16, COMT, PDE4B, and DRD2 / M. J. Girgenti, J. J. LoTurco, B. J. Maher. – 2012. – Vol. 7.
78. Migration defects by DISC1 knockdown in C57BL/6,129X1/SvJ, and ICR strains via in utero gene transfer and virus-mediated RNAi / K. Kubo [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – V.400. – P.631–637.
79. Miller D. W. Effects of MK-801 on spontaneous and amphetamine-stimulated dopamine release in striatum measured with in vivo microdialysis in awake rats / D. W. Miller, E. D. Abercrombie // *Brain. Res. Bull.* – 1996. – P. 57–62.

80. Modeling sensitization to stimulants in humans: an [¹¹C] raclopride/positron emission tomography study in healthy men / I. Boileau [et al.] // *Arch Gen Psychiatry*. – 2006. – Vol. 63. – P. 1386–1395.
81. Moghaddam B. From Revolution to Evolution: The Glutamate Hypothesis of Schizophrenia and its Implication for Treatment / B. Moghaddam, D. Javitt. – 2011. – P. 4–15.
82. Morgan C. J. Ketamine use, cognition and psychological wellbeing: a comparison of frequent, infrequent and ex-users with polydrug and non-using controls / C. J. Morgan, L. Muetzelfeldt, H. V. Curran. – 2009. – P. 77–87.
83. Phosphorylation of eIF2 directs ATF5 translational control in response to diverse stress conditions / D. Zhou [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – №11. – P. 7064–7073.
84. Prenatal exposure to the 1957 influenza epidemic and adult schizophrenia: a follow-up study / M. Cannon [et al.] // *British Journal of Psychiatry*. – 1996. – Vol. 168. – P. 368–371.
85. Schizophrenia and affective disorders – cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family / D. H. Blackwood [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2001. – Vol. 69. – №2. – P. 428–433.
86. Schizophrenia in the genetic isolate of Finland / I. Hovatta [et al.] // *Am. J. Med. Genet.* – 1997. – Vol. 74. – P. 354–360.
87. Schizophrenia shows a unique metabolomics signature in plasma / Y. He [et al.] // *Transl. Psychiatry*. – 2012. – Vol. 2. – P.e149
88. Stahl, S. M. *Stahl's essential psychopharmacology: Neuroscientific basis and practical applications* // Cambridge University Press. – 2013.
89. Studies on a family with three cytogenetic markers / P. A. Jacobs [et al.] // *Annals of human genetics*. – 1970. – Vol. 33. – P. 325 – 328.
90. Tandon R. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology / R. Tandon, M. S. Keshavan, H. A. Nasrallah. – 2008. – P. 1–18.
91. The effect of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on striatal dopamine synthesis capacity: an (F)-DOPA PET study / T. Dahoun [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2018. – Vol. 27. – №20. – P. 3498-3506.
92. The Endophenotype Concept in Psychiatry: Etymology and Strategic Intentions / I. I. Gottesman [et al.] // *The American Journal of Psychiatry*. – 2003. – Vol. 160. – P. 636–645.
93. The impact of Disrupted-in-Schizophrenia 1 [DISC1] on the dopaminergic system: a systematic review / T. Dahoun [et al.] // *Transl. Psychiatry*. – 2017. – Vol. 7. – №1.
94. The role of C957T, TaqI and Ser311Cys polymorphisms of the DRD2 gene in schizophrenia: systematic review and meta-analysis / Thelma Beatriz Gonzalez-Castro [et al.] // *Behav. Brain Funct.* – 2016. – P. 14.

95. Toda M. Dopamine hypothesis of schizophrenia: making sense of it all / M. Toda, A. Abi-Dargham – 2007. – P. 329–336.
96. Understanding the role of DISC1 in psychiatric disease and during normal development / N. J. Brandon [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2009. – Vol. 29. – №41. – P. 12768– 12775.
97. Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia / J. H. Callicott [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – Vol. 102. – P. 8627–8632.
98. Wearne T. A. A Comparison of Methamphetamine-Induced Psychosis and Schizophrenia: A Review of Positive, Negative, and Cognitive Symptomatology / 93. T. A. Wearne, J. L. Cornish // Front Psychiatry. – 2018.
99. Xavier R. M. Genetic Basis of Positive and Negative Symptom Domains in Schizophrenia / R. M. Xavier, A. Vorderstrasse // Biological Research For Nursing. – 2017. – Vol. 19. – №5. – C. 559–575.
100. Zheng C. Rs1076560, a functional variant of the dopamine D2 receptor gene, confers risk of schizophrenia in Han Chinese / C. Zheng, Y. Shen, Q. Xu // Neurosci. Lett. – 2012. – P. 41–44.
101. Genes and Schizophrenia: Beyond Schizophrenia: The Role of DISC1 in Major Mental Illness / W. Hennah [et al.] // Schizophrenia Bulletin. – 2006. – Vol. 32. – № 3. – P. 409–416.

Отчет о проверке на заимствования №1



Автор: richard.nilson@mail.ru / ID: 6867675

Проверяющий: (richard.nilson@mail.ru / ID: 6867675)

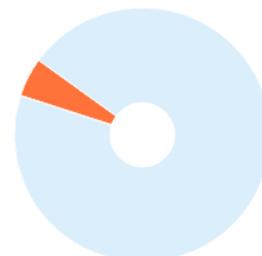
Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат»- <http://users.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 5
 Начало загрузки: 13.06.2019 20:42:27
 Длительность загрузки: 00:00:02
 Имя исходного файла: Министерство.txt
 Размер текста: 131 кБ
 Символов в тексте: 77485
 Слов в тексте: 9106
 Число предложений: 548

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 13.06.2019 20:42:30
 Длительность проверки: 00:00:09
 Комментарии: не указано
 Модули поиска: Модуль поиска Интернет



| ЗАИМСТВОВАНИЯ | ЦИТИРОВАНИЯ | ОРИГИНАЛЬНОСТЬ |
|---------------|-------------|----------------|
| 5,34% | 0% | 94,66% |

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общепотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.

Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.

Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.

Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.

Заимствования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

| № | Доля в отчете | Источник | Ссылка | Актуален на | Модуль поиска |
|------|---------------|---|---|-------------|------------------------|
| [01] | 0,76% | здесь | http://bio.tsu.ru | 17 Сен 2018 | Модуль поиска Интернет |
| [02] | 0,58% | http://www.tnimc.ru/upload/dissovet/dissovet-mental/%D0%9F%D0%BE%D... | http://tnimc.ru | 06 Ноя 2018 | Модуль поиска Интернет |
| [03] | 0,62% | http://physiol.ru/images/docs/2018/%D0%9B%D0%B8%D0%BF%D0%B8%D... | http://physiol.ru | 06 Ноя 2018 | Модуль поиска Интернет |

Еще источников: 16

Еще заимствований: 3,36%