

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 575.1[616.89+616.899]

АССОЦИАЦИЯ УРОВНЯ СЫВОРОТОЧНОГО ПРОЛАКТИНА
С ПОЛИМОРФНЫМИ ВАРИАНТАМИ ГЕНОВ *GRIN2A*, *GRM3*, *GRM7*
У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ, ПРИНИМАЮЩИХ
КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫЕ И АТИПИЧНЫЕ АНТИПСИХОТИКИ

© 2023 г. В. В. Тигунцев^{а, *}, В. И. Герасимова^а, Е. Г. Корнетова^а, О. Ю. Федоренко^а,
А. Н. Корнетов^б, А. А. Гончарова^а, Е. Г. Полтавская^а, А. С. Бойко^а

^аНаучно-исследовательский институт психического здоровья Томского национального исследовательского
медицинского центра, Томск, 634014 Россия

^бСибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050 Россия

*e-mail: cristall2009@live.ru

Поступила в редакцию 24.05.2022 г.

После доработки 11.07.2022 г.

Принята к публикации 22.07.2022 г.

Дофаминовая, серотониновая и глутаматная системы тесно взаимодействуют в патогенезе и фармакотерапии шизофрении. Мы сформулировали гипотезу, согласно которой полиморфные варианты генов *GRIN2A*, *GRM3* и *GRM7* могут быть ассоциированы с развитием гиперпролактинемии у больных шизофренией, принимающих конвенциональные и атипичные антипсихотики в качестве базовой терапии. Обследовано 432 пациента славянских национальностей с установленным диагнозом шизофрения. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом. Для пилотного генотипирования выбрано 12 SNP в гене *GRIN2A*, четыре SNP в гене *GRM3* и шесть в гене *GRM7*. Аллельные варианты этих полиморфизмов определяли методом ПЦР в реальном времени. Уровень пролактина определяли иммуноферментным методом. В группах пациентов с нормальным и повышенным уровнем пролактина, принимающих конвенциональные антипсихотики, выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов *GRIN2A* rs9989388 и *GRIN2A* rs7192557, а также различия в уровнях сывороточного пролактина в зависимости от генотипов полиморфного варианта *GRM7* rs3749380. Обнаружены статистически значимые различия в частотах генотипов и аллелей полиморфного варианта *GRM3* rs6465084 в группах пациентов с гиперпролактинемией и без нее, чьим базовым препаратом был атипичный антипсихотик. Впервые показана ассоциация полиморфных вариантов генов *GRIN2A*, *GRM3* и *GRM7* с развитием гиперпролактинемии у больных шизофренией, принимающих конвенциональные и атипичные антипсихотики. Эти ассоциации не только подтверждают роль глутаматергической системы в развитии шизофрении, но и показывают, что следует учитывать генетическую составляющую в терапии больных с данным расстройством.

Ключевые слова: пролактин, гиперпролактинемия, глутамат, однонуклеотидные полиморфизмы, ПЦР в реальном времени, человек, антипсихотики, шизофрения

DOI: 10.31857/S0026898423010159, **EDN:** AXSWIL

ВВЕДЕНИЕ

Существуют три основные гипотезы, объясняющие патогенез шизофрении с точки зрения нарушений в нейромедиаторных системах центральной нервной системы (ЦНС).

Дофаминергическая гипотеза предполагает повышенную активность дофамина в мезолимбической системе. Эту гипотезу подтверждает механизм действия конвенциональных антипсихоти-

ков, направленный на блокаду D2-рецепторов [1]. Серотонинергическая гипотеза основана на том, что гиперфункция рецепторов 5-HT_{2A} на глутаматных нейронах приводит к повышенному выбросу глутамата в вентральной области покрышки, а это, в свою очередь, активирует мезолимбический тракт и повышает выброс дофамина в вентральном стриатуме [2].

Глутаматергическая гипотеза представляет шизофрению как следствие гипофункции NMDA-рецепторов на промежуточных ГАМКергических нейронах в коре головного мозга [3]. Такая гипо-

Сокращения: ГПРЛ – гиперпролактинемия; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; PANSS – Positive And Negative Syndrome Scale.

функция может привести к гиперактивации глутаматной нейротрансмиссии в вентральной области покрышки, а также к избытку дофамина в вентральном стриатуме через мезолимбический тракт. Согласно этой же гипотезе, позитивные симптомы шизофрении вызывает избыток дофамина в мезолимбическом тракте, обусловленный нарушениями в функционировании нейронной цепи глутамат–ГАМК–глутамат–дофамин. Негативные и когнитивные симптомы можно объяснить недостаточным высвобождением дофамина в мезокортикальной области из-за нарушения работы нейронной цепи глутамат–ГАМК–глутамат–ГАМК–дофамин [4].

Участие глутамата в патогенезе шизофрении также подтверждается результатами исследований, показавшими способность блокатора NMDA-рецепторов фенциклидина вызывать преходящие шизофреноподобные психозы [5, 6]. Патогенетический механизм этого явления основан на блокировании притока в клетку кальция через управляемые NMDA-рецепторами возбуждающие каналы [7]. Клинические наблюдения подтверждают, что для фенциклидиновых психозов характерны все три группы симптомов шизофрении: позитивные, негативные и когнитивные [8].

Недавние исследования показали, что серотонинергическая и глутаматергическая системы взаимодействуют в патогенезе и фармакотерапии шизофрении. В частности, рецепторы 5-HT_{2A} и GRM2 могут регулировать друг друга в функционально антагонистической аллостерической манере [9]. Эта взаимосвязь между рецепторами проявляется на различных уровнях: через регуляцию нижестоящих эффекторов, посредством эпигенетических и генетических факторов или как результат сборки рецепторов 5-HT_{2A} и GRM2 в гетеромерный комплекс, который участвует в механизме действия антипсихотиков [10].

Известно, что фармакотерапия антипсихотическими препаратами способствует снижению симптоматики шизофрении и переходу заболевания в состояние стабильной ремиссии [11, 12]. Данные препараты в зависимости от селективности действия подразделяются на конвенциональные (типичные, традиционные, первого поколения) и атипичные (второго поколения).

Эффект конвенциональных антипсихотиков достигается строго за счет блокады D₂-рецепторов дофамина [13]. Атипичные антипсихотические препараты воздействуют на большее число фармакологических мишеней, многие из них взаимодействуют с 5-HT₂-рецепторами (рисперидон, оланзапин, клозапин, зипрасидон, сертиндол). Благодаря расширенному спектру фармакологического действия, атипичные антипсихотические препараты показали высокую эффективность в отношении негативных симптомов шизофрении [14].

Один из наиболее распространенных побочных эффектов антипсихотических препаратов – гиперпролактинемия (ГПРЛ), существенно снижает качество жизни пациентов [15]. В основе развития ГПРЛ лежит блокада D₂-рецепторов дофамина и угнетение дофаминергической передачи в tuberoinfundibularной зоне головного мозга [16].

Традиционные антипсихотики довольно часто вызывают ГПРЛ (примерно у 40–90% пациентов). Большая часть атипичных препаратов также значительно повышает уровень пролактина в сыворотке крови [17], однако некоторые имеют низкий риск развития ГПРЛ (клозапин, оланзапин, зипрасидон), что связано с их большей аффинностью к 5-HT_{2A}-рецепторам, чем к D₂-рецепторам [18]. Этот эффект также можно объяснить антихолинергическими свойствами оланзапина и клозапина [19].

Неоспорима роль генетической составляющей в функционировании нейромедиаторных систем ЦНС, в частности глутаматергической [20, 21]. Ген *GRIN2A* кодирует субъединицу NMDA-рецептора, представителя суперсемейства ионотропных глутаматных рецепторов, которые принимают участие в кальций-опосредованном компоненте возбуждающей синаптической передачи в ЦНС. Гены *GRM3* и *GRM7* кодируют метаболитные рецепторы глутамата, связанные с G-белком. Эти рецепторы принимают участие в ингибировании каскада cAMP, но различаются по селективности агонистов. Полиморфизмы этих генов могут влиять на концентрацию глутамата, на активность глутаматергической нейротрансмиссии и, как следствие, на содержание дофамина в мезолимбическом тракте. В свою очередь, повышение уровня дофамина в этой области ведет к развитию ГПРЛ.

Исходя из того, что дофаминовая, серотонинергическая и глутаматная системы тесно взаимодействуют в патогенезе и фармакотерапии шизофрении, мы сформулировали гипотезу, согласно которой полиморфные варианты генов *GRIN2A*, *GRM3* и *GRM7* могут быть ассоциированы с развитием ГПРЛ у больных, принимающих конвенциональные и атипичные антипсихотики в качестве базовой терапии.

Мы сравнили частоты генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *GRIN2A*, *GRM3* и *GRM7* в группах больных шизофренией с ГПРЛ и без нее, проживающих в Томской области, принадлежащих к славянской этноязыковой общности и принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные и атипичные антипсихотики.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Нами обследовано 432 пациента с установленным диагнозом шизофрения, проходивших ста-

ционарное лечение в клиниках НИИ психического здоровья Томского НИМЦ и в Томской клинической психиатрической больнице. Основными критериями для включения пациентов были верифицированный диагноз шизофрении по МКБ-10 (Международная классификация болезней 10 пересмотра), возраст 18–65 лет, подписанное информированное согласие пациента, принадлежность к славянской этноязыковой общности, постоянное проживание на территории Западной Сибири. В исследование не включали пациентов с острыми и хроническими инфекционными, воспалительными, аутоиммунными, соматическими заболеваниями в острой фазе, синдромом зависимости от опиоидов, каннабиноидов, седативных или снотворных веществ, кокаина, психостимуляторов, включая кофеин, галлюциногенов, летучих растворителей.

Среди обследованных было 211 мужчин (48.5%) и 221 женщина (51.5%) в возрасте 18–65 лет, медиана 40 [32; 51] лет.

Длительность заболевания у 265 человек (61.3%) превышала 10 лет, у 77 пациентов (17.8%) – от 5 до 10 лет, у 77 (17.8%) – от 1 г. до 5 лет, у 13 человек (3.0%) не превышала 1 г.

Суточный хлорпромазиновый эквивалент принимаемых антипсихотиков составил 450 [232.5; 800] мг, медиана длительности терапии – 11.7 [3, 18] г. При первичном обследовании пациентов использовали шкалу позитивных и негативных синдромов PANSS (Positive And Negative Syndrome Scale [22]), которая позволяет проводить стандартизированную оценку различных векторов психопатологической симптоматики шизофрении, определять клинический профиль больного и проследить динамику состояния в процессе терапии. Нами получены следующие результаты, представленные в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (табл. 1).

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом [23]. Для генотипирования выбрано 12 SNP в гене *GRIN2A* (rs11644461, rs11646587, rs11866328, rs7190619, rs7192557, rs7196095, rs7206256, rs9788936, rs9989388, rs1345423, rs4782039, rs8057394), четыре SNP в гене *GRM3* (rs1468412, rs6465084, rs2237562, rs2299225) и шесть SNP в гене *GRM7* (rs779746, rs1450099, rs17031835, rs3749380, rs1396409, rs12491620). Полиморфные варианты отбирали на основании публикаций в сфере генетики и фармакогенетики шизофрении, в которых показано как участие генов *GRIN2A* и *GRM7* в ответе на терапию антипсихотическими препаратами [24, 25], так и констатирована противоречивость данных о вовлеченности гена *GRM3* в патогенез шизофрении [26].

Аллельные варианты определяли методом ПЦР в реальном времени с использованием набо-

Таблица 1. Показатели пациентов исследуемой выборки по шкале PANSS

Шкала PANSS	Me [Q1; Q3]
Позитивные симптомы	23 [19, 27]
Негативные симптомы	25 [21, 28]
Общепсихопатологические симптомы	51 [44; 57]
Общий показатель	99 [91; 108]

ров SNP Genotyping Assay на приборе StepOne-Plus (США).

Уровень пролактина определяли иммуноферментным методом с использованием набора реагентов PRL Test System (“MonobindInc”, США) для количественного определения содержания гормона в сыворотке крови. У женщин репродуктивного возраста забор крови производили в первую фазу менструального цикла. Антипсихотик-индуцированную ГПРЛ диагностировали при уровне пролактина выше 25 нг/мл у женщин и 20 нг/мл у мужчин в соответствии с международными критериями [27].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ SPSS 17.0. Применяли расчет средних величин, χ^2 Пирсона, в том числе, с учетом поправки Йетса, точный критерий Фишера (если не менее чем в одной из исследуемых групп было меньше пяти человек), Н-критерий Крускала–Уоллеса, U-критерий Манна–Уитни и множественный регрессионный анализ. Поскольку часть показателей не подчинялась закону нормального распределения, использовали непараметрические критерии, их описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом. Критический уровень значимости принят равным 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Антипсихотик-индуцированная ГПРЛ выявлена у 262 (60.6%) из 432 пациентов нашей выборки и не выявлена у 170 (39.4%). Распределение пациентов по полу в этих группах представлено в табл. 2. Данные о длительности течения заболевания в группах приведены в табл. 3.

Поскольку ГПРЛ развивается при постоянном приеме антипсихотических препаратов в течение нескольких недель, выявленные различия могут быть следствием особенностей выборки, в том числе условного деления на подгруппы в зависимости от длительности антипсихотической терапии. По этой причине эти различия не учитывали при дальнейшем анализе частот генотипов и аллелей изучаемых полиморфных вариантов.

Далее выборку разбили на две группы в зависимости от класса базового антипсихотика с последующим делением по наличию/отсутствию ГПРЛ.

Таблица 2. Частота развития гиперпролактинемии у больных шизофренией

Пациенты	ГПРЛ–, n (%)	ГПРЛ+, n (%)	χ^2	<i>p</i>
Мужчины	97 (57.1)	114 (43.5)	7.04	0.008
Женщины	73 (42.9)	148 (56.6)*		
Всего	170 (100)	262 (100)		

Таблица 3. Гиперпролактинемия у пациентов с различной длительностью заболевания

Длительность заболевания	ГПРЛ–, n(%)	ГПРЛ+, n(%)	<i>F</i>	<i>p</i>
Менее 1 года	3 (1.8)	11 (4.2)*	11.48	0.009
1–5 лет	17 (10)	60 (22.9)		
5–10 лет	27 (15.9)	50 (19.1)		
Более 10 лет	123 (72.4)	141 (53.8)		
Всего	170 (100.0)	262 (100.0)		

Таблица 4. Частота ГПРЛ у пациентов разного пола, получающих конвенциональные антипсихотики

Пол	ГПРЛ–	ГПРЛ+	χ^2	<i>p</i>
Женщины	38 (29%)	93 (71%)*	8.17	0.004
Мужчины	64 (46.7%)	73 (53.3%)		

Не выявлено статистически значимых различий в частотах ГПРЛ в группах пациентов, принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные и атипичные антипсихотики ($\chi^2 = 0.27$; $p = 0.64$). ГПРЛ диагностирована у 61.9% пациентов, получающих конвенциональные антипсихотики, и у 59.1% пациентов, получающих атипичные антипсихотики.

Оценили также развитие ГПРЛ в группах определенной половой принадлежности. Оказалось, что среди женщин, получающих конвенциональные антипсихотики, ГПРЛ встречалась статистически значимо чаще, чем у мужчин ($\chi^2 = 8.17$; $p = 0.004$; табл. 4). В группе больных, чьим базовым препаратом был атипичный антипсихотик, подобных различий не обнаружено.

На следующем этапе проведено генотипирование пациентов по выбранным однонуклеотидным полиморфизмам. Анализ распределения частот генотипов и аллелей позволил выявить статистически значимые различия между группами пациентов с нормальным и повышенным уровнем пролактина по полиморфному варианту *GRIN2A* rs9989388 среди принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные антипсихотики ($\chi^2 = 5.99$; $p = 0.03$; табл. 5): генотип TC преобладал в группе пациентов с ГПРЛ ($OR = 1.93$; 95% CI 1.14–3.28). Также обнаружены статистически значимые различия в частотах генотипов и аллелей полиморфного варианта rs7192557 того

же гена. Генотип GG ($\chi^2 = 5.89$; $p = 0.05$; $OR = 0.56$; 95% CI 0.34–0.93) и аллель G ($\chi^2 = 5.30$; $p = 0.02$; $OR = 0.60$; 95% CI 0.39–0.91) чаще встречались у пациентов с нормальным уровнем пролактина в сыворотке крови, в то время как аллель A был более характерен для подгруппы с ГПРЛ ($OR = 1.67$; 95% CI 1.10–2.54).

Среди пациентов, чьим базовым препаратом был атипичный антипсихотик, обнаружены статистически значимые различия в частотах генотипов и аллелей полиморфного варианта *GRM3* rs6465084 (табл. 6). Генотип AA ($F = 8.02$; $p = 0.02$; $OR = 2.02$; 95% CI 1.07–3.81) и аллель A ($\chi^2 = 6.87$; $p = 0.01$; $OR = 2.02$; 95% CI 1.07–3.81) предрасполагали к развитию ГПРЛ. Генотип GG ($OR = 0.21$; 95% CI 0.06–0.82) и аллель G ($OR = 0.50$; 95% CI 0.30–0.82), напротив, оказывали протективный эффект в отношении повышения уровня сывороточного пролактина.

Далее сравнили уровни сывороточного пролактина у пациентов с разными генотипами исследуемых полиморфизмов. Удалось обнаружить статистически значимые различия ($H = 7.36$; $p = 0.025$) в частотах генотипов полиморфного варианта *GRM7* rs3749380 в группе пациентов, принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные антипсихотики: у носителей генотипа TT уровень пролактина был примерно в 1.5 раза выше, чем у носителей генотипов CC и CT (табл. 7).

Таблица 5. Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов гена *GRIN2A* в группах пациентов с ГПРЛ и без побочного эффекта, принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные антипсихотики

Ген <i>GRIN2A</i>		ГПРЛ (<i>n</i> , %)	Без побочного эффекта (<i>n</i> , %)	OR		χ^2/F	<i>p</i>
				знач.	95% CI		
Полиморфизм rs9989388							
Генотип	CC	82 (50.3)	60 (61.2)	0.64	0.39–1.07	5.99	0.03
	TC	75 (46.0)	30 (30.6)	1.93	1.14–3.28		
	TT	6 (3.4)	8 (8.2)	0.43	0.15–1.28		
Аллель	C	239 (73.5)	150 (76.5)	0.85	0.56–1.29	0.43	0.51
	T	86 (26.5)	46 (23.5)	1.17	0.78–1.77		
Полиморфизм rs7192557							
Генотип	GG	80 (48.5)	62 (62.7)	0.56	0.34–0.93	5.89	0.05
	GA	72 (43.6)	34 (34.3)	1.48	0.88–2.48		
	AA	13 (7.9)	3 (3.0)	2.74	0.76–9.86		
Аллель	G	232 (70.3)	158 (79.8)	0.60	0.39–0.91	5.30	0.02
	A	98 (29.7)	40 (20.2)	1.67	1.10–2.54		

Таблица 6. Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *GRM3* rs6465084 в группах пациентов с ГПРЛ и без побочного эффекта, принимающих в качестве базовой терапии атипичные антипсихотики

Полиморфизм <i>GRM3</i> rs6465084		ГПРЛ (<i>n</i> , %)	Безпобочного эффекта (<i>n</i> , %)	OR		χ^2/F	<i>p</i>
				знач.	95% CI		
Генотип	AA	57 (60.6)	29 (43.3)	2.02	1.07–3.81	8.02	0.02
	GA	34 (36.2)	29 (43.3)	0.74	0.39–1.41		
	GG	3 (3.2)	9 (13.4)	0.21	0.06–0.82		
Аллель	A	148 (74.5)	87 (64.9)	1.99	1.22–3.29	6.87	0.01
	G	40 (25.5)	47 (35.1)	0.50	0.30–0.82		

Таблица 7. Распределение уровня пролактина в зависимости от генотипов полиморфного варианта *GRM7* rs3749380 в группе пациентов с шизофренией, принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные антипсихотики

Генотип <i>GRM</i> rs3749380	<i>N</i>	Уровень пролактина, Me (Q1, Q3)	<i>H</i>	<i>p</i>
CC	96	30.96 [16.36; 61.56]	7.36	0.025
CT	122	27.40 [13.83; 61.95]		
TT	46	50.11 [22.99; 92.15]		

Дополнительно в общей выборке проведен множественный регрессионный анализ, направленный на выявление потенциального вклада фактора пола в выявленные ассоциации. На основании построения регрессионной модели (табл. 8) показано, что в группе пациентов, принимающих конвенциональные антипсихотики, риск развития ГПРЛ ассоциирован с полом ($p = 0.004$; $R^2 = 0.0297$).

Таким образом, обнаруженные ассоциации полиморфных вариантов *GRIN2A* rs998938 и *GRIN2A* rs7192557 с развитием ГПРЛ, а также полиморфного варианта *GRM7* rs3749380 с уровнем пролактина в сыворотке крови могут быть связаны со статистически значимым различием в частоте ГПРЛ у мужчин и женщин в исследуемой выборке.

Таблица 8. Множественный регрессионный анализ влияния пола на риск развития ГПРЛ

Группа	B	p
Принимающие конвенциональные антипсихотики	-0.167	0.004*
Принимающие атипичные антипсихотики	-0.077	0.359

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Взаимосвязь нейромедиаторных систем головного мозга в патогенезе и фармакотерапии шизофрении является одной из малоизученных проблем современной биологической психиатрии. Полиморфные варианты генов, выбранные нами, уже становились предметом изучения в качестве биомаркеров риска шизофрении, однако эти работы касались исключительно глутаматергической системы без вовлечения дофаминовой системы как основного звена патогенеза антипсихотик-индуцированной ГПРЛ.

Нами впервые обнаружены ассоциации полиморфных вариантов генов глутаматергической системы с развитием антипсихотик-индуцированной ГПРЛ у больных шизофренией, принимающих в качестве базовой терапии конвенциональные и атипичные антипсихотики.

Опубликованы данные, доказывающие вовлеченность метаботропного глутаматного рецептора (GRM3) в патогенез шизофрении. Так, лечение пациентов аналогом аминокислоты LY2140023, чье действие направлено на активацию глутаматных рецепторов GRM3/GRM2, приводило к сглаживанию позитивных и негативных симптомов, сравнимому с терапией оланзапином [28]. Выявлена также повышенная частота встречаемости генотипа AA и аллеля A функционального полиморфизма *GRM3* rs6465084 у больных шизофренией по сравнению с контрольной группой [29]. С этим косвенно согласуются полученные нами результаты, согласно которым полиморфный вариант *GRM3* rs6465084 ассоциирован с развитием ГПРЛ у пациентов, принимающих атипичные антипсихотики. Есть и контраргументы участия этого гена в патогенезе шизофрении. Например, коллектив авторов во главе с Norton N. [30] не смог обнаружить различий в частотах генотипов, аллелей и гаплотипов всех исследованных ранее полиморфизмов гена *GRM3* между больными шизофренией и здоровыми лицами в популяции Великобритании. Подобные отрицательные результаты получены и на японской популяции [31]. Дальнейшие комплексные исследования могли бы пролить свет на этот вопрос.

Вклад полиморфных вариантов гена *GRM7* в патогенез шизофрении нашел подтверждение в исследовании на китайской популяции, где Liang W. и соавт. [25] удалось выявить ассоциацию нескольких полиморфизмов с ответом на терапию кветиапином, рисперидоном, галоперидо-

лом и перициaziном. Также частоты аллелей одного полиморфизма указанного гена статистически значимо различались в группах больных шизофренией и в контроле. Эта разница осталась значимой после введения поправки Бонферрони, однако отношение шансов, равное 0.95, заставляет относиться к таким результатам с осторожностью. Франко-канадские исследователи показали ассоциацию полиморфизма *GRM7* rs1396409 с нейрокогнитивным дефицитом на ранних стадиях психоза [32].

Нам удалось обнаружить статистически значимые различия в уровнях сывороточного пролактина в зависимости от генотипов полиморфизма *GRM7* rs3749380 в группе пациентов, получающих конвенциональные антипсихотики, однако не выявлено ассоциации этого локуса с риском развития ГПРЛ. Можно предположить, что отсутствие ассоциаций обусловлено особенностями выборки и тем, что под действием антипсихотических препаратов уровень сывороточного пролактина у некоторых пациентов в зависимости от их фармакогенетических особенностей может повышаться сильнее, чем у других. При этом ГПРЛ с высокой вероятностью диагностируется и у тех, и у других. Различия в повышенных уровнях пролактина становятся видны только при количественном их сравнении, что и показано на примере полиморфного варианта *GRM7* rs3749380.

Коллектив нашего института и ранее искал данные, подтверждающие глутаматергическую теорию шизофрении. Например, ранее на выборке пациентов Сибирского региона нами показана [33] ассоциация полиморфизма *GRIN2A* rs7206256 с ранним возрастом манифестации шизофрении. С ведущей симптоматикой и типом течения заболевания подобных ассоциаций не обнаружено. Участие указанного гена в патогенезе шизофрении подтверждают и результаты нашего исследования.

Множественный регрессионный анализ, проведенный на общей выборке, показал связь риска развития ГПРЛ с полом пациентов, принимающих конвенциональные антипсихотики. Как наши данные [34], так и результаты других ученых [35], подтверждают, что женский пол является фактором риска развития антипсихотик-индуцированной ГПРЛ. Антипсихотики первого поколения вызывают ГПРЛ примерно у 40–90% пациентов, поскольку их действие направлено строго на блокаду D2-дофаминовых рецепторов [36]. Таким

образом, в основе выявленной ассоциации может лежать профиль принимаемых пациентами конвенциональных антипсихотиков, которые с высокой частотой вызывают развитие ГПРЛ. В свою очередь, среди атипичных антипсихотиков, которые назначались пациентам исследуемой выборки, преобладали кветиапин и оланзапин, имеющие низкий риск повышения сывороточного пролактина.

Несмотря на довольно активное изучение патогенеза и фармакотерапии шизофрении, нам не удалось найти в международных базах данных публикаций, направленных на изучение вклада генов глутаматной системы в развитие антипсихотик-индуцированной ГПРЛ. Наше исследование является пилотным и имеет ряд ограничений, поскольку мы не использовали поправку на множественные сравнения. Кроме того, рассматривается возможность анализа частот гаплотипов в исследованных группах.

Результаты данного исследования еще раз подтверждают тесную связь дофаминергической, серотонинергической и глутаматергической систем в развитии шизофрении, однако требуют более детального изучения, в том числе, на других популяциях.

Работа получила поддержку Российского научного фонда (грант № 21-15-00212 2021–2023 гг. для О.Ю. Федоренко).

Протокол исследования одобрен этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (от 14 мая 2021 г., Дело № 142/2.2021). Все процедуры, выполненные в настоящем исследовании, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников получено информированное добровольное согласие.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McCutcheon R.A., Krystal J.H., Howes O.D. (2020) Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment. *World Psychiatry*. **19**(1), 15–33. <https://doi.org/10.1002/wps.20693>
2. Stahl S. (2018) Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis: dopamine, serotonin, and glutamate. *CNS Spectrums*. **23**(3), 187–191. <https://doi.org/10.1017/S1092852918001013>
3. Гареева А.Э. (2019) Современный взгляд на нейробиологические гипотезы шизофрении. *Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. **69**(4), 437–455. <https://doi.org/10.1134/S0044467719040038>
4. Schwartz T.L., Sachdeva S., Stahl S.M. (2012) Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. *Front. Pharmacol.* **3**, 195.
5. Cadinu D., Grayson B., Podda G., Harte M.K., Doostdar N., Neill J.C. (2018) NMDA receptor antagonist rodent models for cognition in schizophrenia and identification of novel drug treatments, an update. *Neuropharmacology*. **142**, 41–62. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.11.045>
6. Adell A. (2020) Brain NMDA receptors in schizophrenia and depression. *Biomolecules*. **10**(6), 947. <https://doi.org/10.3390/biom10060947>
7. Javitt D.C., Jotkowitz A., Sircar R., Zukin S.R. (1987) Non-competitive regulation of phencyclidine/sigma-receptors by the *N*-methyl-*D*-aspartate receptor antagonist *D*-(-)-2-amino-5-phosphonovaleric acid. *Neurosci. Lett.* **78**(2), 193–198. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(87\)90632-x](https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90632-x)
8. Fujigaki H., Mouri A., Yamamoto Y., Nabeshima T., Saito K. (2019) Linking phencyclidine intoxication to the tryptophan-kynurenine pathway: therapeutic implications for schizophrenia. *Neurochem. Int.* **125**, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.02.001>
9. Shah U.H., González-Maeso J. (2019) Serotonin and glutamate interactions in preclinical schizophrenia models. *ACS Chem. Neurosci.* **10**(7), 3068–3077. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.9b00044>
10. Ibi D., de la Fuente Revenga M., Kezunovic N., Mugu-ruza C., Saunders J.M., Gaitonde S.A., Moreno J.L., Ijaz M.K., Santosh V., Kozlenkov A., Holloway T., Seto J., García-Bea A., Kurita M., Mosley G.E., Jiang Y., Christoffel D.J., Callado L.F., Russo S.J., Dracheva S., López-Giménez J.F., Ge Y., Escalante C.R., Meana J.J., Akbarian S., Huntley G.W., González-Maeso J. (2017) Antipsychotic-induced Hdac2 transcription via NF-κB leads to synaptic and cognitive side effects. *Nat. Neurosci.* **20**(9), 1247–1259. <https://doi.org/10.1038/nn.4616>
11. Мосолов С.Н. (2018) Психозы дофаминовой гиперчувствительности на современном этапе антипсихотической фармакотерапии шизофрении: что нужно знать практикующему врачу. *Современная терапия психических расстройств*. **4**, 41–49.
12. Иванов М.В., Незнанов Н.Г., Костерин Д.Н. (2014) Антипсихотики. В: *Рациональная фармакотерапия в психиатрической практике. Руководство для практикующих врачей*. Сер. “Рациональная фармакотерапия”; под ред. Александровского Ю.А., Незнанова Н.Г. М.: Литтерра, 142–175.
13. Mittal S., Prasad S., Ghosh A. (2018) Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia: case studies and review. *Postgrad. Med. J.* **94**(1110), 226–229. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2017-135221>
14. Jeong H., Lee M. (2013) Long-acting injectable antipsychotics in first-episode schizophrenia. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* **11**(1), 1–6.
15. Горобец Л.Н., Буланов В.С., Литвинов А.В. (2016) Особенности формирования нейроэндокринных дисфункций у больных шизофренией в амбулатор-

- ной практике (натуралистическое исследование). *Фарматека*. **S4**, 41–45.
16. Османова Д.З., Бойко А.С., Федоренко О.Ю., Пожидаев И.В., Фрейдин М.Б., Стегний В.Н., Корнетова Е.Г., Иванова С.А. (2018) Роль генов дофаминергической системы в развитии антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией. *Психическое здоровье*. **16**(5), 25–27.
 17. Leucht S., Cipriani A., Spineli L., Mavridis D., Orey D., Richter F., Samara M., Barbui C., Engel R.R., Geddes J.R., Kissling W., Stapf M.P., Lässig B., Salanti G., Davis J.M. (2013) Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: a multiple-treatments meta-analysis. *Lancet*. **382**(9896), 951–962. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60733-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60733-3)
 18. Meltzer H.Y., Elkis H., Vanover K., Weiner D.M., van Kammen D.P., Peters P., Hacksell U. (2012) Pimavanserin, a selective serotonin (5-HT)_{2A}-inverse agonist, enhances the efficacy and safety of risperidone, 2 mg/day, but does not enhance efficacy of haloperidol, 2 mg/day: comparison with reference dose risperidone, 6 mg/day. *Schizophr. Res.* **141**(2–3), 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2012.07.029>
 19. Baldessarini R.J., Tarazi F.I. 2001. Drugs and the treatment of psychiatric disorders: antipsychotic and antimanic agents. In *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th ed. Hardman J.G., Limbird L.E., Gilman A.G., Eds. New York: McGraw-Hill Press, 485–528.
 20. Uno Y., Coyle J.T. (2019) Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* **73**(5), 204–215. <https://doi.org/10.1111/pcn.12823>
 21. Egerton A., Grace A.A., Stone J., Bossong M.G., Sand M., McGuire P. (2020) Glutamate in schizophrenia: neurodevelopmental perspectives and drug development. *Schizophr. Res.* **223**, 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.09.013>
 22. Kay S.R., Fiszbein A., Opler L.A. (1987) The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **13**(2), 261–276.
 23. Sambrook J., Fritsch E.R., Maniatis T. (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual* 2nd ed. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Lab. Press.
 24. Bakker P.R., Al Hadithy A.F., Amin N., van Duijn C.M., van Os J., van Harten P.N. (2012) Antipsychotic-induced movement disorders in long-stay psychiatric patients and 45 tag SNPs in 7 candidate genes: a prospective study. *PLoS One*. **7**(12), e50970. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050970>
 25. Liang W., Yu H., Su Y., Lu T., Yan H., Yue W., Zhang D. (2020) Variants of *GRM7* as risk factor and response to antipsychotic therapy in schizophrenia. *Transl. Psychiatry*. **10**(1), 83. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0763-4>
 26. Yang X., Wang G., Wang Y., Yue X. (2015) Association of metabotropic glutamate receptor 3 gene polymorphisms with schizophrenia risk: evidence from a meta-analysis. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **11**, 823–833. <https://doi.org/10.2147/NDT.S77966>
 27. Peuskens J., Pani L., Detraux J., De Hert M. (2014) The effects of novel and newly approved antipsychotics on serum prolactin levels: a comprehensive review. *CNS Drugs*. **28**(5), 421–453.
 28. Patil S.T., Zhang L., Martenyi F., Lowe S.L., Jackson K.A., Andreev B.V., Avedisova A.S., Bardenstein L.M., Gurovich I.Y., Morozova M.A., Mosolov S.N., Neznanov N.G., Reznik A.M., Smulevich A.B., Tochilov V.A., Johnson B.G., Monn J.A., Schoepp D.D. (2007) Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized phase 2 clinical trial. *Nat. Med.* **13**, 1102–1107.
 29. Mössner R., Schuhmacher A., Schulze-Rauschenbach S., Kühn K.U., Rujescu D., Rietschel M., Zobel A., Franke P., Wölwer W., Gaebel W., Häfner H., Wagner M., Maier W. (2008) Further evidence for a functional role of the glutamate receptor gene *GRM3* in schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **18**(10), 768–772. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.05.007>
 30. Norton N., Williams H.J., Dwyer S., Ivanov D., Preece A.C., Gerrish A., Williams N.M., Yerassimou P., Zammit S., O'Donovan M.C., Owen M.J. (2005) No evidence for association between polymorphisms in *GRM3* and schizophrenia. *BMC Psychiatry*. **5**, 23. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-5-23>
 31. Tochigi M., Suga M., Ohashi J., Otowa T., Yamasue H., Kasai K., Kato T., Okazaki Y., Kato N., Sasaki T. (2006) No association between the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (*GRM3*) and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr. Res.* **88**(1–3), 260–264. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2006.07.008>
 32. Chaumette B., Sengupta S.M., Lepage M., Malla A., Iyer S.N., Kebir O.; ICAAR study group, Dion P.A., Rouleau G.A., Krebs M.O., Shah J.L., Joober R. (2020) A polymorphism in the glutamate metabotropic receptor 7 is associated with cognitive deficits in the early phases of psychosis. *Schizophr. Res.* **S0920-9964**(20), 30371–30376. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.06.019>
 33. Poltavskaya E.G., Fedorenko O.Y., Kornetova E.G., Loonen A.J.M., Kornetov A.N., Bokhan N.A., Ivanova S.A. (2021) Study of early onset schizophrenia: associations of *GRIN2A* and *GRIN2B* polymorphisms. *Life (Basel)*. **11**(10), 997. <https://doi.org/10.3390/life11100997>
 34. Корнетова Е.Г., Иванова С.А., Тигунцев В.В., Бойко А.С., Лобачёва О.А., Корнетов А.Н., Семке А.В. (2019) Антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия у больных шизофренией: социальные, клинические, иммунологические и терапевтические особенности. Томск: Интегральный Переплет.
 35. Янковская А.Г. (2017) Уровень пролактина у женщин с шизофренией на ранних этапах заболевания в условиях психофармакотерапии. *Журн. гродненского гос. мед. университета*. **15**(4), 437–441.
 36. Mittal S., Prasad S., Ghosh A. (2017) Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia: case studies and review. *Postgrad. Med. J.* **0**, 1–4. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2017-135221>

Association of the Level of Serum Prolactin and Polymorphic Variants of the *GRIN2A*, *GPM3*, *GPM7* GENES in Patients with Schizophrenia Taking Conventional and Atypical Antipsychotics

V. V. Tiguntsev^{1, *}, V. I. Gerasimova¹, E. G. Kornetova¹, O. Yu. Fedorenko¹, A. N. Kornetov²,
A. A. Goncharova¹, E. G. Poltavskaya¹, and A. S. Boyko¹

¹Mental Health Research of the Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, 634014 Russia

²Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: cristall2009@live.ru

Dopamine, serotonin and glutamate systems are jointly involved in the pathogenesis and pharmacotherapy of schizophrenia. We formulated a hypothesis that polymorphic variants of the *GRIN2A*, *GRM3*, and *GRM7* genes may be associated with the development of hyperprolactinemia in patients with schizophrenia taking conventional and atypical antipsychotics as basic treatment. 432 Caucasian patients diagnosed with schizophrenia were examined. DNA was isolated from peripheral blood leukocytes by the standard phenol-chloroform method. For pilot genotyping, 12 SNPs in the *GRIN2A* gene, 4 SNPs in the *GRM3* gene, and 6 SNPs in the *GRM7* gene were selected. Allelic variants of the studied polymorphisms were determined by real-time PCR. The level of prolactin was determined by enzyme immunoassay. Among persons taking conventional antipsychotics, there were statistically significant differences in the distribution of genotype and allele frequencies in groups of patients with normal and elevated prolactin levels for the *GRIN2A* rs9989388 and *GRIN2A* rs7192557 polymorphic variants, as well as differences in serum prolactin levels depending on the genotypes of the *GRM7* rs3749380 polymorphic variant. Among persons taking atypical antipsychotics, statistically significant differences were found in the frequencies of genotypes and alleles of the *GRM3* rs6465084 polymorphic variant. For the first time, an association of polymorphic variants of the *GRIN2A*, *GRM3*, and *GRM7* genes with the development of hyperprolactinemia in patients with schizophrenia taking conventional and atypical antipsychotics has been established. They not only confirm the close connection of the dopaminergic, serotonergic, and glutamatergic systems in the development of schizophrenia, but also demonstrate the potential of taking into account the genetic component for its therapy.

Keywords: prolactin, glutamate, single nucleotide polymorphisms, real-time PCR, ELISA, human, antipsychotics, molecular genetics, schizophrenia