

УДК 616.895.8:616.8-009.12:575.113.2:575.113.15:577.175.823

Для цитирования: Пожидаев И.В., Иванова С.А. Ассоциативный анализ гаплотипов и регуляторный потенциал генов серотониновых рецепторов у больных шизофренией с тардивной дискинезией. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2024. № 1 (122). С. 27-36. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-1\(122\)-27-36](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-1(122)-27-36)

Ассоциативный анализ гаплотипов и регуляторный потенциал генов серотониновых рецепторов у больных шизофренией с тардивной дискинезией

Пожидаев И.В., Иванова С.А.

НИИ психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Тардивная дискинезия (ТД) – это тяжелое и потенциально необратимое двигательное расстройство, которое может развиваться как побочный эффект длительного приема антипсихотических лекарств. Несмотря на то что патофизиологические механизмы, лежащие в основе антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезии ещё недостаточно изучены, литературные данные свидетельствуют о важной роли генетических факторов и возможном нарушении дофаминергической и серотонинергической систем. Изменение генетического регуляторного потенциала серотониновых рецепторов может играть роль в развитии антипсихотик-индуцированной ТД у больных шизофренией. **Цель:** проведение гаплотипного анализа генов серотониновых рецепторов, определение регуляторного потенциала изучаемых генов у пациентов с шизофренией при тардивной дискинезии. **Материал и методы.** Исследованию выполнено на выборке из 449 пациентов в возрасте 18-65 лет, страдающих шизофренией и проходивших стационарное лечение в НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томской клинической психиатрической больнице и Кемеровской областной клинической психиатрической больнице. Из них сформированы две группы: пациенты, соответствующие критериям наличия тардивной дискинезии (n=121), пациенты без двигательных расстройств (m=328). Дискинезии диагностировали по стандартизированной международной шкале патологических непреднамеренных движений (AIMS). Генотипирование 29 однонуклеотидных полиморфных вариантов 7 генов серотониновых рецепторов проводилось посредством масс-спектрометрии на генетическом анализаторе Sequenom. Оценка регуляторного потенциала связей однонуклеотидных полиморфизмов с экспрессией генов проведена с помощью портала проекта Genotype-Tissue Expression. **Результаты.** Проведенный анализ продемонстрировал ассоциацию гаплотипа СТТТАСС гена *HTR2A* с наличием тардивной дискинезии, который является предрасполагающим фактором развития данного побочного эффекта (OR=2.10, p=0,029). Выявленная ассоциация и аннотация биологических путей исследуемых генов подтверждают вовлечённость генов серотонинергических рецепторов в патогенез тардивной дискинезии, индуцированной длительной антипсихотической терапией.

Ключевые слова: шизофрения, тардивная дискинезия, серотониновые рецепторы, гаплотип, анализ гаплотипов, локус количественного признака.

ВВЕДЕНИЕ

Поздняя или тардивная дискинезия (ТД) – это нежелательный эффект длительной антипсихотической терапии, характеризующийся произвольными движениями, как правило, орофациальных мышц, конечностей и других групп мышц, которые могут быть необратимыми даже после отмены препарата [1]. Согласно результатам одного из зарубежных метаанализов, проведенного на основании 41 исследования и включающего более 11 тысяч пациентов, получающих антипсихотическую терапию, средняя частота встречаемости ТД составляет 25,3% [2]. Двигательные побочные эффекты, в свою очередь, осложняют течение основного заболевания, усиливая выраженность негативных, когнитивных

и аффективных расстройств, приводят к дополнительной социальной стигматизации больных, ухудшают качество жизни пациента и являются причиной отказа от терапии [3, 4, 5].

Дальнейший прогресс в области прогноза и терапии тардивной дискинезии, согласно мнению зарубежных и отечественных исследователей, неразрывно связан с пониманием механизмов, лежащих в основе развития данного расстройства, и с реализацией подходов к персонализации терапии [6, 7, 8]. Несмотря на активно разрабатываемые гипотезы возникновения побочных эффектов, патофизиологические механизмы, лежащие в основе антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезии, ещё недостаточно изучены [9].

В возникновении тардивной дискинезии важная роль отводится генетическим факторам, в первую очередь генам нейромедиаторных рецепторов, являющимся основными мишенями действия антипсихотических препаратов [10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. Наряду с дофаминовыми рецепторами, гены серотониновых рецепторов (5-HT) позиционируются как потенциальные гены-кандидаты, участвующие в патогенезе ТД [18, 19, 20, 21, 22]. Серотониновые рецепторы распространены в различных областях головного мозга, включая базальные ганглии, которые имеют большое значение в контроле двигательной активности. Изменения в функционировании серотониновых рецепторов могут быть связаны с развитием ТД [23].

Ранее на основании результатов генотипирования полиморфных вариантов 7 генов серотониновых рецепторов нами были выявлены статистически значимые ассоциации аллелей rs1928040 гена *HTR2A* с ТД и орофациальным фенотипом дискинезии [21]. Кроме того, были обнаружены гендер-специфические ассоциации rs1801412 *HTR2C* с аллелями и генотипами для лиц женского пола, страдающих поздней дискинезией.

Таким образом, изучение дальнейшей роли генов серотониновых рецепторов в механизмах развития тардивной дискинезии представляется актуальным направлением исследований.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение гаплотипного анализа генов серотониновых рецепторов, определение регуляторного потенциала изучаемых генов у пациентов с шизофренией при тардивной дискинезии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании включена выборка из 449 пациентов, страдающих шизофренией. Критерии включения: подтвержденный диагноз шизофрении по критериям МКБ-10, длительное применение антипсихотических препаратов, возраст пациентов от 18 до 65 лет, принадлежность к славянскому этносу, добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Обследование пациентов с целью диагностики дискинезий проводилось с использованием стандартизированной международной шкалы патологических непреднамеренных движений (Abnormal Involuntary Movement Scale – AIMS), позволяющей диагностировать наличие дискинезии и степень её выраженности. Для постановки диагноза тардивной дискинезии использовали критерий Schooler and Kane [24], в соответствии с которым необходимо наличие 3 баллов по одному из пунктов шкалы либо по 2 балла по двум пунктам шкалы. Далее баллы подверглись преобразованию в бинарный признак (наличие/отсутствие ТД). На основании примененного критерия ТД была диагностирована

у 121 пациента; не имели двигательных расстройств 328 пациентов.

Для получения ДНК забор венозной крови у пациентов осуществлялся в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА (Vacuette EDTA). Геномную ДНК выделяли с использованием стандартного фенол-хлороформного протокола из лейкоцитов периферической крови. Последующее хранение образцов выделенной ДНК производилось в воде mQ при -20°C . Качество и количество полученной ДНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop8000. Генотипирование однонуклеотидных полиморфных вариантов проводилось посредством масс-спектрометрии (MALDI-TOF) на генетическом анализаторе Sequenom MASS-Array Analyzer 4 наборами iPLEX Gold 384.

Выбор полиморфных вариантов для исследования был выполнен на основе литературных данных по полиморфным вариантам, изученным в отношении тардивной дискинезии и экстрапирамидных расстройств в других выборках с иным этническим составом, и по полиморфным вариантам генов, гипотетически принимающих участие в реализации механизмов действия антипсихотиков в терапевтических и побочных эффектах.

Статистическая обработка полученных результатов генотипирования выполнена в несколько этапов. Первоначально результаты для однонуклеотидных полиморфизмов были проверены по критерию «процент успешно прогенотипированных образцов для каждого SNP» и на соответствие распределению частот генотипов ожидаемому при условии соблюдения равновесия Харди–Вайнберга с помощью критерия хи-квадрат. Последующий статистический анализ выполнен в программной среде R 3.6.2 с использованием базовых функций и дополнительных пакетов для обработки генетических данных. Ассоциативный анализ был выполнен с помощью критерия хи-квадрат и точного критерия Фишера (при условии менее 5 наблюдений в любой ячейке). Ассоциативный анализ гаплотипов проводился с помощью пакета haplo.stats. Оценку уровня экспрессии исследуемых генов в различных структурах мозга проводили на основе биоинформатического анализа с помощью атласа экспрессии (<https://www.ebi.ac.uk/gxa/home>). Оценку регуляторного потенциала проводили путем определения связей однонуклеотидных полиморфизмов, обнаруживших статистически значимые ассоциации между тардивной дискинезией и экспрессией генов (eQTL) с помощью портала проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) (<http://www.gtexportal.org/>). Для функциональной аннотации генов с целью определения биологических процессов и молекулярных функций использовался функционал базы данных Gene Ontology.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из общей выборки исследования были сформированы две группы пациентов: с поздней дискинезией (n=121), с отсутствием побочных двигательных расстройств (n=328). Распределение пациентов с шизофренией и наличием/отсутствием ТД

в соответствии с половозрастными и клиническими характеристиками представлено в таблице 1. Средний возраст больных с ТД и длительность заболевания оказались статистически значимо (p<0,001) выше, чем у пациентов без ТД.

Т а б л и ц а 1. Половозрастные и клинические характеристики пациентов с шизофренией с ТД и без ТД

Характеристика		Пациенты без ТД (n=328)	Пациенты с ТД (n=121)	t-критерий Стьюдента (p)
Пол	Мужчины, n (%)	152 (46,3%)	71 (58,7%)	
	Женщины, n (%)	176 (53,7%)	50 (41,3%)	
Возраст, лет		37 [31; 48]	48 [37,5; 58]	p<0,001
Возраст манифестации, лет		24 [20; 30]	25 [20; 32]	p=0,974
Длительность заболевания, лет		11 [5; 18]	20 [12; 29,5]	p<0,001

Все исследованные полиморфные варианты были отобраны в соответствии с литературными данными и проверены по базам генетических данных: *HTR1A* (rs10042486, rs749099, rs1364043, rs1800042, rs6295), *HTR1B* (rs6298, rs6296, rs130058), *HTR2A* (rs6314, rs6313, rs1928040, rs6311, rs6312, rs7997012, rs9316233, rs2224721),

HTR2C (rs3813929, rs569959, rs5946189, rs4911871, rs6318, rs12858300, rs17326429, rs1801412), *HTR3A* (rs1176713, rs33940208, rs1062613), *HTR3B* (rs1176744), *HTR6* (rs1805054). Подробные характеристики полиморфных вариантов представлены в таблице 2.

Т а б л и ц а 2. Характеристики однонуклеотидных полиморфных вариантов изучаемых генов

Ген	Аллельный вариант	Хромосома: Позиция	Регион расположения	Аллели	Частота минорного аллеля по данным Ensembl	Собственная частота минорного аллеля
Серотониновые рецепторы						
<i>HTR1A</i>	rs10042486	5:63965502	Интрон	C/T	0,35 (C)	0,48
<i>HTR1A</i>	rs749099	5:63958009	Интрон	C/T	0,35 (C)	0,47
<i>HTR1A</i>	rs1364043	5:63955024	Межгенное пространство	T/G	0,33 (G)	0,25
<i>HTR1A</i>	rs1800042	5:63960902	Экзон	C/A/T	<0,01 (T)	0,003
<i>HTR1A</i>	rs6295	5:63962738	Интрон	C/G	0,45 (C)	0,47
<i>HTR2A</i>	rs6314	13:46834899	Экзон	G/A	0,07 (A)	0,26
<i>HTR2A</i>	rs6313	13:46895805	Экзон	G/A	0,44 (A)	0,27
<i>HTR2A</i>	rs1928040	13:46873101	Интрон	G/A	0,45 (G)	0,26
<i>HTR2A</i>	rs6311	13:46897343	Интрон	C/T	0,44 (T)	0,34
<i>HTR2A</i>	rs6312	13:46896689	Экзон	C/T	0,08 (C)	0,42
<i>HTR2A</i>	rs7997012	13:46837850	Интрон	A/G	0,27 (A)	0,34
<i>HTR2A</i>	rs9316233	13:46859220	Интрон	C/G/T	0,30 (G)	0,05
<i>HTR2A</i>	rs2224721	13:46858019	Интрон	T/G	0,34 (T)	0,50
<i>HTR3A</i>	rs1176713	11:113989703	Экзон	A/G	0,28 (G)	0,05
<i>HTR3A</i>	rs33940208	11:113975355	Экзон	C/T	0,14 (T)	0,22
<i>HTR3A</i>	rs1062613	11:113975284	Интрон	T/C	0,25 (T)	0,25
<i>HTR1B</i>	rs6298	6:77463275	Экзон	G/A	0,34 (A)	0,15
<i>HTR1B</i>	rs6296	6:77462543	Экзон	C/G	0,34 (G)	0,28
<i>HTR1B</i>	rs130058	6:77463564	Экзон	T/A/G	0,18 (A)	0,11
<i>HTR3B</i>	rs1176744	11:113932306	Экзон	A/C	0,35 (C)	0,22
<i>HTR6</i>	rs1805054	1:19666020	Экзон	C/T	0,17 (T)	0,11
<i>HTR2C</i>	rs3813929	X:114584047	Межгенное пространство	C/G/T	0,13 (T)	0,04
<i>HTR2C</i>	rs569959	X:114585887	Интрон	C/G/T	0,31 (C)	0,16
<i>HTR2C</i>	rs5946189	X:114837657	Интрон	C/T	0,19 (C)	0,05
<i>HTR2C</i>	rs4911871	X:114762580	Интрон	A/G	0,17 (G)	0,23
<i>HTR2C</i>	rs6318	X:114731326	Экзон	C/G/T	0,17 (C)	0,02
<i>HTR2C</i>	rs12858300	X:114662932	Интрон	G/C	0,03 (C)	0,22
<i>HTR2C</i>	rs17326429	X:114591899	Интрон	G/A	0,13 (A)	0,13
<i>HTR2C</i>	rs1801412	X:114908141	Интрон	T/G	0,06 (G)	0,21

Примечание. Референсная частота минорного аллеля из базы Ensembl для европеоидов.

Согласно приведённой выше характеристике частот по материалам собственного исследования и данным проекта «1000 геномов» для большей части полиморфизмов частоты минорного аллеля совпадают или имеют небольшие отклонения в пределах величин, показанных для европеоидных популяций. Вариация частот, сильно отличающихся в большую или меньшую сторону, вероятно, объясняется связью этих локусов с шизофренией.

Как следует из результатов относительно проверки распределения частот на соответствие ожидаемому по закону Харди–Вайнберга, не все результаты удовлетворяют данному условию, в свя-

зи с чем локус rs1176744 гена *HTR3B* был исключен из дальнейшего ассоциативного анализа.

Для выявления генотипа полиморфного варианта rs1928040 гена *HTR2A*, вносящего наибольший вклад в предрасположенность к ТД, был проведен сравнительный анализ частот гомозиготных генотипов против объединённых гетерозиготных и альтернативных гомозиготных генотипов между группами. Применительно к данному полиморфному варианту установлено, что носительство генотипа ТТ (OR=1,71, 95% CI 1,02–2,86, p=0,039) и аллель Т (OR=1,46, 95% CI 1,08–1,98, p=0,015) повышают риск развития ТД (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Распределение результатов сравнения частот гомозиготных генотипов против объединённых гетерозиготных и альтернативных гомозиготных генотипов для rs1928040 гена *HTR2A*

Генотипы	Пациенты без ТД	Пациенты с ТД	OR, 95% CI	t-критерий Стьюдента (p)
СС	110 (0,387)	35 (0,292)	0,65 [0,41–1,03]	0,068
ТС+ТТ	174 (0,613)	85 (0,708)		
ТТ	48 (0,169)	31 (0,258)	1,71 [1,02–2,86]	0,040
СС+ТС	236 (0,831)	89 (0,742)		

П р и м е ч а н и е. OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал (нижняя и верхняя границы).

При проведении анализа полиморфных вариантов гена *HTR2C*, расположенных на X-хромосоме, группы пациентов были дополнительно разделены по полу. Для группы женщин с шизофренией была выявлена ассоциация аллельного варианта rs12858300 ($\chi^2=5,424$, p=0,020), которая показала, что аллель С статистически значимо повышает риск развития ТД у женщин (OR=2,61, 95% CI 1,13–6,02, p=0,020). В ходе дополнительного анализа данного полиморфного

варианта по открытым онлайн-базам генетических данных было обнаружено, что частота в европеоидных популяциях минорного аллеля С для rs12858300 составляет 6%. Поскольку в группах сравнения было идентифицировано небольшое количество носителей данного аллеля, данный факт определяет необходимость продолжения дальнейших исследований на выборках большего объема для подтверждения вклада аллеля С в патогенез тардивной дискинезии.

Т а б л и ц а 4. Распределение результатов ассоциативного анализа между гаплотипами и наличием тардивной дискинезии

Ген	Гаплотип	Частота	OR	95% CI	t-критерий Стьюдента (p)
<i>HTR1A</i>	ref CGTGG	0,520	1,00	–	–
	TAGGC	0,245	0,94	[0,65–1,34]	0,720
	TATGC	0,228	1,19	[0,82–1,73]	0,352
<i>HTR2A</i>	ref CCCCCAACC	0,254	1,00	–	–
	CCCCAGCC	0,175	1,08	[0,59–1,95]	0,808
	CTTTAACC	0,124	2,10	[1,08–4,08]	0,029*
	CTTTAGCC	0,132	0,81	[0,44–1,48]	0,489
<i>HTR3A</i>	ref TCC	0,688	1,00	–	–
	CCC	0,071	0,89	[0,46–1,71]	0,728
	CCT	0,143	1,05	[0,69–1,61]	0,815
	TCT	0,078	1,15	[0,64–2,09]	0,639
<i>HTR1B</i>	ref CGA	0,479	1,00	–	–
	CGT	0,254	1,24	[0,86–1,79]	0,255
	TCA	0,266	1,06	[0,74–1,52]	0,738
<i>HTR2C</i>	ref CATAGGGT	0,645	1,00	–	–
	CATGGGGT	0,067	1,20	[0,76–1,89]	0,426
	CGCACGGT	0,105	1,10	[0,75–1,62]	0,629
	TGTGGGAT	0,101	0,91	[0,59–1,41]	0,668

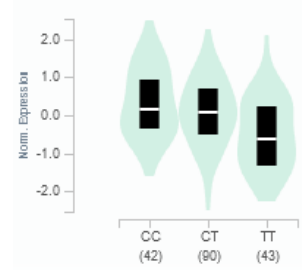
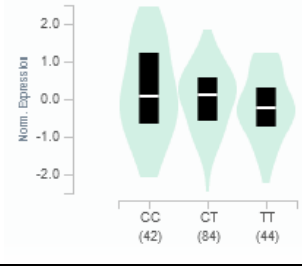
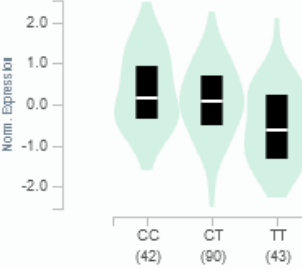
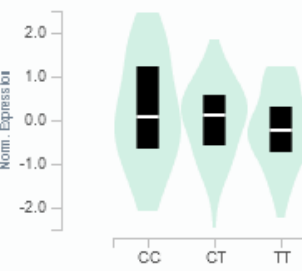
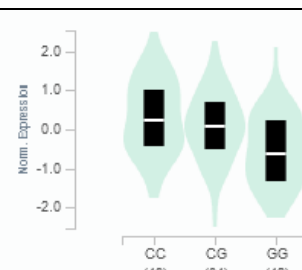
П р и м е ч а н и е. ref – Референсный гаплотип с наибольшей частотой, для которого статистики не вычисляются; OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал (нижняя и верхняя границы).

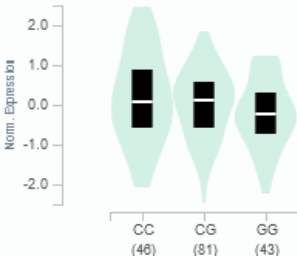
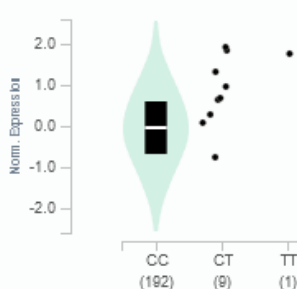
Относительно аллельного варианта rs1801412 гена *HTR2C* в группе женщин обнаружена ассоциация как для генотипов ($\chi^2=4,882, p=0,027$), так и для аллелей ($\chi^2=4,646, p=0,031$). Показано, что носительство аллеля Т уменьшает риск развития ТД (OR=0,34, 95% CI 0,12–0,94, $p=0,031$), что справедливо, соответственно, и для носительства

генотипа ТТ (OR=0,32, 95% CI 0,11–0,92, $p=0,027$).

На следующем этапе был проведён ассоциативный анализ на основе структуры гаплотипов при наличии/отсутствии тардивной дискинезии для каждого гена серотонинового рецептора. Полученные данные представлены в таблице 4.

Т а б л и ц а 5. Данные анализа экспрессии по исследуемым генам

Названия гена, rs	Изменение экспрессии в зависимости от генотипов	Название регулируемого гена, ткань	Медиана экспрессии в зависимости от генотипа	P
<i>HTR1A</i> , rs10042486		RNF180 Полушарие мозжечка	CC – 0,1576 CT – 0,06414 TT – -0,6218 С – референсный аллель Т – альтернативный аллель	FDR 9,70E-08
<i>HTR1A</i> , rs10042486		RNF180 Путамен (базальные ганглии)	CC – 0,05868 CT – 0,1175 TT – -0,2292 С – референсный аллель Т – альтернативный аллель	0,00002
<i>HTR1A</i> , rs749099		RNF180 Полушарие мозжечка	CC – 0,1576 CT – 0,06414 TT – -0,6218 С – референсный аллель Т – альтернативный аллель	FDR 9,70E-08
<i>HTR1A</i> , rs749099		RNF180 Путамен (базальные ганглии)	CC – 0,05868 CT – 0,1175 TT – -0,2292 С – референсный аллель Т – альтернативный аллель	0,00002
<i>HTR1A</i> , rs6295		RNF180 Полушарие мозжечка	CC – 0,2153 CG – 0,06414 GG – -0,6392 С – референсный аллель G – альтернативный аллель	FDR 1,90E-07

<p><i>HTR1A</i>, rs6295</p>		<p>RNF180 Путамен (базальные ганглии)</p>	<p>CC – 0,05868 CG – 0,1249 GG – -0,2443 C – референсный аллель G – альтернативный аллель</p>	<p>0,000012</p>
<p><i>HTR3A</i>, rs33940208</p>		<p>C11orf71 Прилежащее ядро (базальные ганглии)</p>	<p>CC – -0,04941 CT – данные отсутствуют TT – данные отсутствуют C – референсный аллель, T – альтернативный аллель</p>	<p>0,00003</p>

Как показано в таблице 4, по результатам ассоциативного анализа обнаружено, что гаплотип СТТТААСС гена *HTR2A* ассоциирован с наличием tardive dyskinesia и является предрасполагающим фактором развития данного побочного эффекта (OR=2,10, p=0,029).

С целью оценки регуляторного потенциала были изучены связи всех исследуемых однонуклеотидных полиморфизмов с экспрессией генов (eQTL) с помощью данных Genotype-Tissue Expression (GTEx) Project (<http://www.gtexportal.org/>). Поскольку некоторые из генов серотониновых рецепторов имеют высокий уровень экспрессии в структурах мозга, с учетом регуляторного потенциала полиморфизма получены результаты, представленные в таблице 5. Уровень значимости влияния для всех найденных генетических локусов (eQTL) имеет значение p<0,0001.

Изображенные в таблице 5 графики для каждого аллельного варианта демонстрируют, как

изменяется экспрессия в зависимости от генотипа. Проверка полиморфных вариантов генов, которые как в нашем исследовании, так и по данным литературы ассоциированы с развитием ТД на предмет, являются ли они eQTL-локусами, показала отсутствие информации в базе данных проекта Genotype-Tissue Expression, т.е. ни один из вариантов гена *HTR2A* не является генетическим локусом количественного признака, даже несмотря на то что присутствует ассоциированный гаплотип.

Для функциональной аннотации генов использовался функционал базы данных Gene Ontology с целью определения биологических процессов и молекулярных функций, в которые потенциально вовлечены исследуемые гены. Были отобраны пять биологических путей и пять молекулярных функций с наименьшим значением p с поправкой FDR для достижения наиболее значимых результатов (табл. 6 и 7).

Т а б л и ц а 6. Классификация биологических путей в соответствии с базой данных Gene Ontology

Классификатор	Биологический путь	Гены, задействованные в биологическом пути	FDR
GO:0007210	Сигнальный путь рецептора серотонина	<i>HTR1A</i> , <i>HTR2A</i> , <i>HTR3A</i> , <i>HTR1B</i> , <i>HTR3B</i> , <i>HTR6</i>	1.22e-19
GO:0007268	Химическая синаптическая передача	<i>HTR1A</i> , <i>HTR2A</i> , <i>HTR3A</i> , <i>HTR1B</i> , <i>HTR3B</i> , <i>HTR6</i>	1.44e-11
GO:0007187	Сигнальный путь рецептора, связанный с G-белком, связанный со вторичным мессенджером циклических нуклеотидов	<i>HTR1A</i> , <i>HTR2A</i> , <i>HTR1B</i> , <i>HTR6</i>	4.02e-11
GO:0007267	Межклеточная передача сигналов	<i>HTR1A</i> , <i>HTR2A</i> , <i>HTR3A</i> , <i>HTR1B</i> , <i>HTR3B</i> , <i>HTR6</i>	3.83e-10
GO:0009719	Ответ на эндогенный раздражитель	<i>HTR1A</i> , <i>HTR2A</i> , <i>HTR3A</i> , <i>HTR1B</i> , <i>HTR3B</i> , <i>HTR6</i>	3.62e-09

П р и м е ч а н и е. GO: – классификатор в соответствии с принятой классификацией в базе Gene Ontology, FDR – значение уровня значимости с поправкой FDR в отношении аннотированных генов исследованного биологического пути.

Т а б л и ц а 7. Классификация молекулярных функций в соответствии с базой данных Gene Ontology

Классификатор	Молекулярная функция	Гены, задействованные в молекулярной функции	FDR
GO:0008227	Активность аминного рецептора, связанного с G-белком	<i>HTR1A, HTR2A, HTR1B, HTR6</i>	2.48E-16
GO:0030594	Активность рецептора нейротрансмиттера	<i>HTR1A, HTR2A, HTR3A, HTR1B, HTR3B, HTR6</i>	2.48E-16
GO:0004993	Активность рецептора серотонина, связанная с G-белком	<i>HTR1A, HTR2A, HTR1B, HTR6</i>	9.08E-15
GO:0004888	Активность трансмембранного сигнального рецептора	<i>HTR1A, HTR2A, HTR3A, HTR1B, HTR3B, HTR6</i>	7.05E-10
GO:0051378	Связывание серотонина	<i>HTR1A, HTR2A, HTR3A, HTR1B</i>	1.39E-08

Примечание. GO: – классификатор в соответствии с принятой классификацией в базе Gene Ontology, FDR – значение уровня значимости с поправкой FDR в отношении аннотированных генов исследованной молекулярной функции.

Т а б л и ц а 8. Результаты анализа сайтов связывания факторов транскрипции

Ген. Полиморфизм	Последовательность	Аллель	Транскрипционный фактор
rs1928040 <i>HTR2A</i>	CTTCAGAGACAAATTCTC ATTCAA <u>V</u> GTGAAATGAT CTTCAGTTATGAGTG	C – референсный	GR-beta, C/EBP-beta
		T – альтернативный	GR-beta, C/EBPbeta
rs1801412 <i>HTR2C</i>	ATAGCTTTTCACTTCTTA AGGACAG <u>V</u> GTTCAAATTC TGATTATTACAACAA	T – референсный	GR-beta, FOXP3, C/EBP-beta, TFII-I, IRF-2, PR B*, PR A*, AR*
		G – альтернативный	GR-beta, FOXP3, C/EBP-beta, TFII-I, IRF-2, RXR-alpha**, RAR-beta**, GR-alpha**

Примечание. V – показано место, где находится однонуклеотидный полиморфизм; * – транскрипционный фактор, который имеет сайт связывания в последовательности референсного аллеля, но пропадает при исследовании последовательности альтернативного аллеля; ** – сайт связывания транскрипционного фактора, который отсутствует в последовательности референсного аллеля, но появляется при исследовании последовательности альтернативного аллеля.

По итогам анализа сайтов связывания транскрипционных факторов для ассоциированных полиморфных вариантов генов *HTR2A* и *HTR2C* были получены результаты, представленные в таблице 8. Как видно из показателей данного анализа, изученные полиморфные варианты имеют сайты связывания, которые при однонуклеотидной замене добавляются или наоборот исчезают. При исследовании последовательности с альтернативным аллелем появляются сайты связывания транскрипционных факторов, таких как RXR-alpha, RAR-beta, GR-alpha, GR-альфа, которые участвуют в регуляции многих биологических процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование и биоинформационный анализ позволили обнаружить ассоциации между тардивной дискинезией и полиморфными вариантами rs1928040 гена *HTR2A*, rs12858300 и rs1801412 гена *HTR2C*, а также гаплотипом СТТТААСС гена *HTR2A*. Установлено, что ни один из генетических полиморфизмов не является eQTL-локусом. В то же время для изученных вариантов существуют сайты связывания, которые добавляются или исчезают при однонуклеотидной замене. Выявленные

ассоциации и аннотация биологических путей исследуемых генов подтверждают вовлечённость генов серотонинергических рецепторов в патогенез тардивной дискинезии, индуцированной длительной антипсихотической терапией.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено в рамках выполнения комплексной темы НИР «Биопсихосоциальные механизмы патогенеза и клинического полиморфизма, адаптационный потенциал и предикторы эффективности терапии у больных с психическими и поведенческими расстройствами в регионе Сибири», регистрационный номер 122020200054-8.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Клиническое исследование с участием людей выполнено с соблюдением принципов информированного согласия Хельсинкской декларации ВМА и одобрено локальным этическим комитетом по Биомедицинской этике НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 156 от 17 октября 2022 г., дело № 156/2.2022).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность сотрудникам НИИ психического здоровья Томского НИМЦ Д.З. Падериной, А.С. Бойко, О.Ю. Федоренко, Е.Г. Корнетовой и главным врачам клиник НИИ психического здоровья В.Ф. Лебедевой, Томской клинической психиатрической больницы С.М. Андрееву и Кемеровской областной клинической психиатрической больницы В.А. Сорокиной за помощь в проведении клинического исследования и наборе пациентов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Correll CU, Kane JM, Citrome LL. Epidemiology, prevention, and assessment of tardive dyskinesia and advances in treatment. *J Clin Psychiatry*. 2017 Sep/Oct;78(8):1136-1147. doi: 10.4088/JCP.tv17016ah4c. PMID: 29022654.
- Carbon M, Hsieh CH, Kane JM, Correll CU. Tardive dyskinesia prevalence in the period of second-generation antipsychotic use: a meta-analysis. *J Clin Psychiatry*. 2017 Mar;78(3):e264-e278. doi: 10.4088/JCP.16r10832. PMID: 28146614.
- Корнетова Е.Г., Бойко А.С., Бородюк Ю.Н., Семке А.В. Тардивная дискинезия у больных шизофренией: клиника и факторы риска. Томск: Изд-во «Новые печатные технологии», 2014. 106 с. Kornetova EG, Boiko AS, Borodyuk YuN, Semke AV. Tardive dyskinesia in patients with schizophrenia: clinical features and risk factors. Tomsk: Publishing House "New Printing Technologies", 2014:106 (in Russian).
- Rekhi G, Tay J, Lee J. Impact of drug-induced Parkinsonism and tardive dyskinesia on health-related quality of life in schizophrenia. *J Psychopharmacol*. 2022 Feb;36(2):183-190. doi: 10.1177/02698811211055812. Epub 2022 Jan 3. PMID: 34979813.
- Takeuchi H, Mori Y, Tsutsumi Y. Pathophysiology, prognosis and treatment of tardive dyskinesia. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2022 Oct 21;12:20451253221117313. doi: 10.1177/20451253221117313. PMID: 36312846; PMCID: PMC9597038.
- Корнетова Е.Г., Семке А.В., Дмитриева Е.Г., Бородюк Ю.Н., Бойко А.С. Клинические и социальные факторы риска тардивной дискинезии у пациентов с шизофренией в процессе лечения антипсихотиками. *Бюллетень сибирской медицины*. 2015. Т. 14, № 1. С. 32-39 Kornetova EG, Semke AV, Dmitrieva EG, Borodyuk YuN, Boiko AS. Clinical and social risk factors for tardive dyskinesia in patients with schizophrenia during treatment with antipsychotics. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2015;14(1):32-39 (in Russian).
- Loonen AJ, Ivanova SA. New insights into the mechanism of drug-induced dyskinesia. *CNS Spectr*. 2013 Feb;18(1):15-20. doi: 10.1017/s1092852912000752. PMID: 23593652.
- Caroff SN. A new era in the diagnosis and treatment of tardive dyskinesia. *CNS Spectr*. 2022 Oct 24;4-14. doi: 10.1017/S1092852922000992. Epub ahead of print. PMID: 36278439.
- Вайман Е.Э., Шнайдер Н.А., Незнанов Н.Г., Насырова Р.Ф. Патофизиологические механизмы, лежащие в основе антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019. Т. 18, № 4. С. 169-184. Veiman EE, Shneider NA, Neznanov NG, Nasyrova RF. Pathophysiological mechanisms underlying antipsychotic-induced tardive dyskinesia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(4):169-184 doi: 10.20538/1682-0363-2019-4-169-184 (in Russian).
- Иванова С.А., Федоренко О.Ю., Бохан Н.А., Лунен А. Фармакогенетика тардивной дискинезии. Томск: Изд-во «Новые печатные технологии», 2015. 120 с. Ivanova SA, Fedorenko OYu, Bokhan NA, Loonen A. Pharmacogenetics of tardive dyskinesia. Tomsk: Publishing House "New Printing Technologies", 2015:120 (in Russian).
- Müller DJ, Chowdhury NI, Zai CC. The pharmacogenetics of antipsychotic-induced adverse events. *Curr Opin Psychiatry*. 2013 Mar;26(2):144-50. doi: 10.1097/YCO.0b013e32835dc9da. PMID: 23370274.
- Boiko AS, Ivanova SA, Pozhidaev IV, Freidin MB, Osmanova DZ, Fedorenko OY, Semke AV, Bokhan NA, Wilffert B, Loonen AJM. Pharmacogenetics of tardive dyskinesia in schizophrenia: the role of *chrml* and *chrn2* muscarinic receptors. *World J Biol Psychiatry*. 2020 Jan;21(1):72-77. doi: 10.1080/15622975.2018.1548780. Epub 2019 Jan 9. PMID: 30623717.
- Levchenko A, Kanapin A, Samsonova A, Fedorenko OY, Kornetova EG, Nurgaliev T, Mazo GE, Semke AV, Kibitov AO, Bokhan NA, Gainetdinov RR, Ivanova SA. A genome-wide association study identifies a gene network associated with paranoid schizophrenia and antipsychotics-induced tardive dyskinesia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021 Mar 8;105:110134. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110134. Epub 2020 Oct 13. PMID: 33065217.
- Lanning RK, Zai CC, Müller DJ. Pharmacogenetics of tardive dyskinesia: an updated review of the literature. *Pharmacogenomics*. 2016 Aug;17(12):1339-51. doi: 10.2217/pgs.16.26. Epub 2016 Jul 29. PMID: 27469238.
- Loonen AJ, Wilffert B, Ivanova SA. Putative role of pharmacogenetics to elucidate the mechanism of tardive dyskinesia in schizophrenia. *Pharmacogenomics*. 2019 Nov;20(17):1199-1223. doi: 10.2217/pgs-2019-0100. Epub 2019 Nov 5. PMID: 31686592.
- Шнайдер Н.А., Вайман Е.Э., Незнанов Н.Г., Насырова Р.Ф. Фармакогенетика антипсихотик-индуцированных экстрапирамидных расстройств. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2022. 288 с. Schneider NA, Vaiman EE, Neznanov NG, Nasyrova RF. Pharmacogenetics of antipsychotic-

- induced extrapyramidal disorders. St. Petersburg: DEAN Publishing House, 2022. 288 (in Russian).
17. Федоренко О.Ю., Иванова С.А., Корнетова Е.Г. Роль полиморфизма генов дофаминовой и глутаматной систем в клинической гетерогенности шизофрении и развитии антипсихотик-индуцированных побочных эффектов. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2023. № 1 (118). Fedorenko OYu, Ivanova SA, Kornetova EG. The role of gene polymorphism of the dopamine and glutamate systems in the clinical heterogeneity of schizophrenia and the development of antipsychotic-induced side effects. Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry. 2023; 1 (118): 5-13. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-1\(118\)-5-13](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-1(118)-5-13) (in Russian).
 18. Вайман Е.Э., Шнайдер Н.А., Незнанов Н.Г., Насырова Р.Ф. Гены-кандидаты, участвующие в развитии антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезии у пациентов с шизофренией. Нервно-мышечные болезни. 2020. Т. 10, № 3. С. 10-26. Veiman EE, Shneider NA, Neznanov NG, Nasyrova RF. Candidate genes involved in the development of antipsychotic-induced tardive dyskinesia in patients with schizophrenia. Neuromuscular Diseases. 2020;10(3):10-26. <https://doi.org/10.17650/2222-8721-2020-10-3-10-26> (in Russian).
 19. Федоренко О.Ю., Иванова С.А., Семке А.В., Бохан Н. А. Тардивная дискинезия: успехи современной фармакогенетики. Современная терапия психических расстройств. 2017. № 1. С. 22-28. Fedorenko OYu, Ivanova SA, Semke AV, Bokhan NA. Tardive dyskinesia: advances in modern pharmacogenetics. Modern Therapy of Mental Disorders. 2017. No. 1. P. 22-28 (in Russian).
 20. Hsieh CJ, Chen YC, Lai MS, Hong CJ, Chien KL. Genetic variability in serotonin receptor and transporter genes may influence risk for tardive dyskinesia in chronic schizophrenia. Psychiatry Res. 2011 Jun 30;188(1):175-6. doi: 10.1016/j.psychres.2010.10.006. Epub 2010 Nov 4. PMID: 21055833.
 21. Pozhidaev IV, Paderina DZ, Fedorenko OY, Kornetova EG, Semke AV, Loonen AJM, Bokhan NA, Wilffert B, Ivanova SA. 5-Hydroxytryptamine Receptors and Tardive Dyskinesia in Schizophrenia. Front Mol Neurosci. 2020 Apr 24;13:63. doi: 10.3389/fnmol.2020.00063. PMID: 32390801; PMCID: PMC7193905.
 22. Tsermpini EE, Redenšek S, Dolžan V. Genetic factors associated with tardive dyskinesia: from pre-clinical models to clinical studies. Front Pharmacol. 2022 Jan 24;12:834129. doi: 10.3389/fphar.2021.834129. PMID: 35140610; PMCID: PMC8819690.
 23. Loonen AJM, Ivanova SA. Role of 5-HT2C receptors in dyskinesia. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2016;8(1):5-10.
 24. Schooler NR, Kane JM. Research diagnoses for tardive dyskinesia. Arch Gen Psychiatry. 1982 Apr;39(4):486-7. doi: 10.1001/archpsyc.1982.04290040080014. PMID: 6121550.

Поступила в редакцию 26.10.2023
Утверждена к печати 05.02.2024

Пожидаев Иван Вячеславович, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. ResearcherID P-2354-2017. Scopus Author ID 57188551226. ORCID iD 0000-0003-1238-7495. AuthorID РИНЦ 940640

Иванова Светлана Александровна, д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. SPIN-код РИНЦ 5776-1365. ResearcherID C-5333-2012. Scopus Author ID 36113599800. ORCID iD 0000-0001-7078-323X. ivanovaniipz@gmail.com

✉ Пожидаев Иван Вячеславович, ivanpzhidaev2@yandex.ru

UDC 616.895.8:616.8-009.12:575.113.2:575.113.15:577.175.823

For citation: Pozhidaev I.V., Ivanova S.A. Association analysis of haplotypes and regulatory potential of serotonin receptor genes in patients with schizophrenia and tardive dyskinesia. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2024; 1 (122): 27-36. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-1\(122\)-27-36](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2024-1(122)-27-36)

Association analysis of haplotypes and regulatory potential of serotonin receptor genes in patients with schizophrenia and tardive dyskinesia

Pozhidaev I.V., Ivanova S.A.

*Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
Aleutskaya Street 4, 634014, Tomsk, Russian Federation*

ABSTRACT

Background. Tardive dyskinesia (TD) is a severe and potentially irreversible movement disorder that can develop as a side effect of long-term use of antipsychotic medications. Despite the fact that the pathophysiological mechanisms underlying antipsychotic-induced tardive dyskinesia are not yet sufficiently studied, literature data indicates the important role of genetic factors and the possible disruption of the dopaminergic and serotonergic systems. Changes in the genetic regulatory potential of serotonin receptors may play a role in the development of the antipsychotic-induced TD in patients with schizophrenia. **Objective:** to conduct a haplotype analysis of serotonin receptor genes, to determine the regulatory potential of the study genes in patients with schizophrenia and tardive dyskinesia. **Material and Methods.** The study was carried out on a sample of 449 patients aged 18-65 years suffering from schizophrenia and undergoing inpatient treatment at Mental Health Research Institute of Tomsk National Research Medical Center, Tomsk Clinical Psychiatric Hospital and Kemerovo Regional Clinical Psychiatric Hospital. Two groups were formed from them: patients meeting the criteria for the presence of tardive dyskinesia (n=121), patients without movement disorders (n=328). Dyskinesia was diagnosed using the standardized Abnormal Involuntary Movement Scale (AIMS). Genotyping 29 single-nucleotide polymorphic variants of 7 serotonin receptor genes was carried out using mass spectrometry on a Sequenom genetic analyzer. The regulatory potential of associations between single nucleotide polymorphisms and gene expression was assessed using the Genotype-Tissue Expression project portal. **Results.** The analysis demonstrated the association of the CTTTAACC haplotype of the *HTR2A* gene with the presence of tardive dyskinesia, that was a predisposing factor in the development of this side effect (OR=2.10, p=0.029). The detected association and annotation of the biological pathways of the studied genes confirmed the involvement of serotonergic receptor genes in the pathogenesis of medication-induced tardive dyskinesia under long-term therapy with antipsychotics.

Keywords: schizophrenia, tardive dyskinesia, serotonin receptors, haplotype, haplotype analysis, quantitative trait locus.

Received October 26, 2023

Accepted February 05, 2024

Pozhidaev Ivan V., junior researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation. ResearcherID P-2354-2017. Scopus Author ID 57188551226. ORCID iD 0000-0003-1238-7495. AuthorID RSCI 940640.

Ivanova Svetlana A., D.Sc. (Medicine), Deputy Director for Research, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation. SPIN-code RSCI 5776-1365. ResearcherID C-5333-2012. Scopus Author ID 36113599800. ORCID iD 0000-0001-7078-323X. ivanovaniipz@gmail.com

✉ Pozhidaev Ivan V., ivanpozhidaev2@yandex.ru