



Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Starodubtseva L.I., Tereshkina E.B., Morozova M.A., Beniashvili A.G., Rupchev G.E., Kaleda V.G., Omel'chenko M.A., Barkhatova A.N.

PhD, Dr. Nat.Sci., Professor, Head of the Laboratory of Neurochemistry;

PhD, Dr. Nat. Sci., Senior Researcher, Leading Scientist; Savushkina O.K., PhD, Senior Researcher;

PhD, Senior Researcher;

PhD, Senior Researcher;

MD, PhD, Head of the Laboratory of psychopharmacology;

MD, PhD, Senior Researcher;

PhD, Senior Researcher,

MD, PhD, Head of the Department of Endogenous Psychoses;

PhD, Researcher,

MD, PhD, Senior Researcher

Mental Health Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

neurochemo6@mail.ru

boksha_irina@mail.ru

SEARCH FOR BIOCHEMICAL PREDICTORS OF ANTIPSYCHOTIC THERAPY EFFICACY

Results obtained in three biomedical trials are summarized. The patients with acute paranoid schizophrenia (295.30 according with DSM-IV) treated with olanzapine and risperidone, respectively, were studied the first and second trials, and the first psychotic episode patients treated with clozapine and haloperidol were studied in the third trial. Three resulting databases were generated. Approaches are described to the search for biochemical parameters as potential biomarkers of antipsychotic therapy efficacy using regression analysis, as well as non-parametric statistics (Spearman correlations, Wilcoxon matched pairs test, Mann-Whitney U-test, Kruskal-Wallis test). Activity/amount of platelet enzymes, such as cytochrome c-oxidase and glutamine synthetase-like protein are proposed as candidates for the role of such biomarkers.

Key words: schizophrenia; first episode; antipsychotics; olanzapine; risperidone; clozapine; haloperidol; biomarkers; platelet enzymes; cytochrome c-oxidase; glutamine synthetase-like protein

Бурбаева Г.Ш., Бокша И.С., Савушкина О.К., Стародубцева Л.И., Терешкина Е.Б., Морозова М.А., Бениашвили А.Г., Рупчев Г.Е., Каледа В.Г., Омельченко М.А., Бархатова А.Н.

ФГБУ Научный центр психического здоровья РАМН, Москва

ПОИСК БИОХИМИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ.

Изложены основные результаты, полученные в трех биомедицинских исследованиях. В двух из них обследовались больные параноидной шизофренией (295.30 по DSM-IV) в стадии обострения, антипсихотическое лечение которых проводили оланзапином и рисперидоном, соответственно, а в третьем – больные с манифестным приступом эндогенного психоза, антипсихотическое лечение которых проводили клозапином с галоперидолом. По результатам исследований составлены три базы данных. С применением регрессионного и корреляционного анализов, а также методов непараметрической статистики - парных сравнений Вилкоксона, U-теста Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса описаны подходы, примененные при поиске биохимических показателей, претендующих на роль биомаркеров эффективности курсов антипсихотической фармакотерапии. На роль таких биомаркеров предложены активность/количество тромбоцитарных ферментов – цитохром с-оксидазы и белка, подобного глутаминсинтетазе.



Ключевые слова: шизофрения; манифестный приступ; эндогенные психозы; антипсихотическая фармакотерапия; рисперидон; оланзапин; клозапин; галоперидол; биомаркеры; цитохром с-оксидаза; белок, подобный глутаминсинтетазе

В результате исследований аутопсийного мозга был обнаружен ряд особенностей метаболизма глутамата у больных шизофренией по сравнению с психически здоровыми лицами. Эти особенности заключаются в повышении количества ключевых ферментов метаболизма глутамата – глутаминсинтетазы (ГС), белка, подобного ГС (ГСПБ), изоферментов глутаматдегидрогеназы (ГДГ) и изменении регуляторных связей, контролирующих соотношение этих ферментов [Бокша 2012, Прохорова и др., 2011, Бурбаева и др., 2008].

С обменом глутамата тесно связан энергетический метаболизм, который также нарушен при шизофрении. Показано, что в мозге при этом заболевании изменяется количество таких ключевых ферментов, как креатинфосфокиназа и цитохром с-оксидаза (ЦО) [Boksha et al., 2003].

Исследования аутопсийного мозга помогают понять механизм развития заболевания, однако проведение прижизненных обследований больных шизофренией могут быть полезны на практике для разработки диагностических и прогностических тестов. Поиск в периферической крови биохимических маркеров, связанных с изменениями, обнаруженными в мозге при шизофрении, важен также для прогноза течения заболевания и эффективности антипсихотической терапии.

Было выдвинуто предположение о том, что нарушения глутаматного и энергетического метаболизма носят системный характер и могут происходить не только в мозге, но и других органах, а также в периферической крови. Наше внимание привлекли тромбоциты, поскольку из литературы известно, что они могут служить удовлетворительной биохимической моделью, отражающей некоторые процессы, происходящие в нервной ткани. В тромбоцитах найден ряд компонентов серотонинергической и глутаматной систем – рецепторы и переносчики нейромедиаторов, а также ферменты глутаматного метаболизма – тромбоцитарные ГДГ, ГСПБ и фермент энергетического метаболизма – ЦО.

Т. о., при поиске биохимических маркеров были пройдены этапы обнаружения и характеристики ферментов глутаматного и энергетического метаболизма в тромбоцитах крови, разработки способов количественной оценки уровня этих ферментов и обнаружения корреляций между количеством ферментов и «шкальными» клиниче-

скими оценками психопатологического состояния до и после курсов антипсихотической терапии.

Для биомедицинских исследований были выбраны два тромбоцитарных фермента – ГСПБ и ЦО. Выбор этих ферментов обусловлен тем, что они, во-первых, обнаружены в количестве, достаточном для сравнительных анализов. Во-вторых, их активность/количество изменены в мозге при шизофрении и, если эти изменения носят системный характер, то подобные изменения можно ожидать и в тромбоцитах периферической крови. В-третьих, ферменты являются представителями биохимических систем (ГСПБ – глутаматной, ЦО – энергетической), функционирование которых нарушено в мозге при шизофрении.

В настоящей публикации изложены основные результаты, полученные в трех биомедицинских исследованиях. В двух из них обследовались больные параноидной шизофренией (295,30 по DSM-IV) в стадии обострения, антипсихотическое лечение которых проводили оланзапином и рисперидоном, соответственно, а в третьем – больные с манифестным приступом эндогенного психоза, антипсихотическое лечение которых проводили клозапином с галоперидолом.

Отметим, что благодаря дополнительным сравнительным исследованиям также было показано, что количество тромбоцитарного ГСПБ у больных шизофренией до начала курса антипсихотической терапии достоверно выше ($p < 0,01$ – 1-ое и 2-е исследование, $p < 0,006$ – третье исследование), а активность ЦО – достоверно ниже ($p < 0,000001$ 1-ое и 2-е исследование, $p < 0,000001$ 3-е исследование), чем в уравненных по возрасту и соотношению мужчин/женщин контрольных группах.

Были составлены три базы данных, включающие результаты клинического обследования каждого больного по «шкале позитивных и негативных синдромов» (PANSS), по «шкалам» NSA, BPRS и результаты определения количества тромбоцитарных ферментов.

При анализе базы данных, составленной по результатам первого исследования, была выделена подгруппа больных с высоким начальным уровнем ГСПБ (выше, чем медиана по группе). В этой подгруппе после антипсихотического лечения оланзапином в течение 28 недель отмечалось существенное достоверное снижение уровня ГСПБ ($p < 0,007$, метод парных сравнений Вилкок-

сона), но после лечения количество ГСПБ все еще отличалось от контрольных значений ($p < 0,0001$ по критерию Манна-Уитни).

Клиническая реакция на лечение оланзапином была определена *a priori* как снижение баллов, набранных по PANSS, на 20% и более от уровня до начала лечения. Эта клиническая реакция была использована в качестве признака, образующего категорию положительного исхода терапии, при поиске предикторов эффективности терапии. Оценка предикторов положительного исхода терапии осуществлялась с использованием анализа «кривой выживания» в регрессионной модели. Анализ этой кривой включает применение регрессионной модели для оценки зависимости между непрерывными переменными, содержащими «времена жизни» (т.е. время от начала терапии до клинической реакции). Было составлено уравнение регрессии. Количество тромбоцитарного ГСПБ и время до клинической реакции оказались связанными обратной корреляцией, т.е. чем выше уровень тромбоцитарного ГСПБ до лечения, тем меньшее время необходимо до достижения клинической реакции при антипсихотической терапии оланзапином [Burbaeva et al., 2006].

Во втором исследовании обследовали пациентов с тем же диагнозом. В отличие от предыдущего случая, проводилась антипсихотическая терапия рисперидоном в течение 8 недель, а в тромбоцитах больных – до и после лечения – определяли уровни ГСПБ и активности ЦО.

У больных была прослежена динамика клинических показателей (по шкале PANSS и шкале негативных симптомов - NSA), а также было проведено тестирование с помощью батареи нейрокогнитивных тестов, оценивающих различные аспекты памяти, внимания, исполнительных функций.

При анализе базы данных было обнаружено, что число наблюдений низких значений уровня ГСПБ у больных после курса лечения возросло, и можно было сказать, что в целом количество тромбоцитарного ГСПБ в группе больных после антипсихотического лечения достоверно снизилось ($p < 0,05$, критерий парных сравнений Вилкоксона).

Оказалось, что если группу больных разделить по начальному (до курса лечения) уровню ГСПБ на 2 подгруппы: $\geq$ медианы и $<$ медианы, то в первой из них наблюдается достоверное снижение баллов по PANSS и NSA в результате лечения, а также улучшение результатов выполнения ряда нейрокогнитивных тестов ($p < 0,01$, метод парных сравнений Вилкоксона).

После курса антипсихотической терапии активность ЦО в группе больных в целом достоверно повысилась ($p < 0,01$, метод парных сравнений Вилкоксона): повышение произошло у большинства больных (у 20 из 27). Но, хотя в группе возросло количество наблюдений относительно более высоких значений активности ЦО, в целом она все еще достоверно отличалась по этому показателю от контрольной группы ($p < 0,00015$, критерий Манна-Уитни).

При поиске предиктора эффективности терапии было обнаружено наличие положительной достоверной корреляции между начальной активностью ЦО и изменением «суммарного балла» по «подшкале» PANSS негативных расстройств ($R = 0,45$, $p < 0,02$) и шкале NSA

($R = 0,48$, $p < 0,05$) в результате лечения. Это означает, что чем выше была начальная активность ЦО, тем сильнее у больного в результате лечения уменьшится выраженность дефицитарных расстройств (оцененная по PANSS или NSA).

Анализ распределения активности ЦО у больных до курса лечения показал, что у большинства наблюдаются значения активности ЦО вблизи медианы по группе, но отмечаются и значительные отклонения от медианы в обе стороны – низких и высоких значений.

В связи с этим, группа больных была разделена по медиане значений активности ЦО до лечения на подгруппы « $\geq$ медиане» и « $<$ медианы» (возрастных различий между подгруппами не было). При этом в первой подгруппе оказалось достоверно больше «респондеров» - больных, у которых после лечения баллы по «подшкале» PANSS позитивных расстройств снизились на 20% и более ($X^2 = 9,53$, с поправкой Йетса = 7,6, $p < 0,01$), а во второй подгруппе – достоверно больше «нореспондеров» по «подшкале» PANSS негативных расстройств ($X^2 = 6,52$, с поправкой Йетса = 4,53, $p < 0,025$). Т.о., для больных с изначально более высокими значениями активности ЦО антипсихотическая терапия рисперидоном относительно более эффективна, чем для больных с низкими значениями ЦО: в подгруппе с начальными значениями активности ЦО $\geq$ медиане оказалось достоверно больше больных с улучшившимися клиническими и нейрокогнитивными показателями после курса лечения.

При детальном анализе клинических параметров оказалось, что во второй подгруппе больных (с начальными значениями ЦО $<$ медианы) достоверно не изменился ни один клинический показатель, хотя результаты выполнения отдельных нейрокогнитивных тестов улучшились.

Итак, результаты этих двух исследований позволяют заключить, что среди больных параноидной шизофренией в состоянии обострения более высокая эффективность антипсихотической терапии оланзапином отмечается у пациентов с относительно более высоким исходным уровнем тромбоцитарного ГСПБ; более высокая эффективность лечения другим антипсихотиком – рисперидоном – наблюдается у больных с относительно более высокой начальной активностью тромбоцитарной ЦО [Burbavea et al., 2011].

В третьем исследовании обследовалась группа больных мужчин с первым эпизодом эндогенного психоза, а курс антипсихотического лечения проводился галоперидолом с клозапином.

В результате лечения достоверно повысилась активность ЦО только у тех пациентов, у которых она изначально была ниже медианы ($p < 0,005$, метод парных сравнений Вилкоксона), а количество ГСПБ достоверно не изменилось.

Что касается связи биохимических показателей с клиническими, то до начала курса лечения исходное количество ГСПБ оказалось связанным положительной корреляцией с числом баллов, набранных по «подшкале» PANSS негативных расстройств ($R = 0,35$, $p < 0,01$), т.е. чем выше был уровень ГСПБ, тем больше была выраженность расстройств, оцененная по данной «подшкале». В ходе лечения выявились отрицательные коррелятивные связи между активностью ЦО и числом баллов по PANSS ($R = -0,33$, $p < 0,01$) и баллами, набранными по «подшкале» PANSS общепсихопатологических симптомов ($R = -0,31$, $p < 0,02$). Т.е. чем выше была активность ЦО, тем меньше выраженность соответствующего типа расстройств.

При поиске биохимических предикторов эффективности антипсихотической терапии, проведенном аналогично тому, как было описано выше, (составление базы данных с последующим статистическим анализом) были обнаружены отрицательные связи между исходной активностью ЦО и числом баллов PANSS ($R = -0,30$, $p < 0,03$), а также числом баллов, набранных после лечения по «подшкале» PANSS общепсихопатологических симптомов ($R = -0,35$, $p < 0,01$) и BPRS ($R = -0,31$, $p < 0,02$). Т.о., чем выше была активность ЦО до лечения, тем меньше выраженность соответствующего типа расстройств после лечения.

Анализ базы данных проводили также при произвольном делении обследованной группы больных на подгруппы – в соответствии с уточненными в процессе наблюдения диагнозами: шизофрения и шизоаффективный психоз. Эти

подгруппы достоверно не различались по возрасту и по дозам назначенных препаратов.

Значения исходных (до лечения) активности ЦО и количества ГСПБ в подгруппах ШИЗ, ШАП, а также в контрольной группе сравнили с помощью критерия Краскел-Уоллиса. Были обнаружены достоверные различия в начальной активности ЦО и уровнях ГСПБ между всеми тремя группами: $H(2, N=79) = 32,53$, $p = 0,00001$ и $H(2, N=79) = 8,04$, $p = 0,018$, соответственно. В подгруппе ШИЗ исходная активность ЦО оказалась достоверно ниже, чем в подгруппе ШАП ($p = 0,038$, по критерию Манна-Уитни), а по количеству ГСПБ подгруппы ШИЗ и ШАП до начала лечения достоверно не различались. В обеих подгруппах (ШИЗ и ШАП), как и в общей группе больных, активность ЦО достоверно повысилась после лечения (метод парных сравнений Вилкоксона, $p < 0,05$) только у тех больных, у которых она была изначально относительно низкая (ниже медианы в соответствующей подгруппе).

Рассматривая подгруппы ШИЗ и ШАП, можно отметить, что подгруппа ШАП более однородна по двум изученным биохимическим показателям, чем ШИЗ, и занимает «промежуточное положение» между подгруппой ШИЗ и контрольной группой.

Отметим также, что была обнаружена связь между уровнями тромбоцитарных ферментов и дозами антипсихотических препаратов, назначенных больным, а именно, выявлена положительная коррелятивная связь исходного уровня ГСПБ и отрицательная – исходного уровня ЦО с дозами антипсихотиков, т.е. чем выше был уровень ГСПБ, тем выше назначалась доза антипсихотиков, и чем выше исходная активность ЦО, тем ниже доза антипсихотиков.

Итак, исходные значения биохимических параметров – активность ЦО и количество ГСПБ – могут представлять практическую ценность для прогноза эффективности антипсихотической фармакотерапии у пациентов как с параноидной формой шизофрении в стадии обострения, так и с манифестным приступом эндогенного психоза. Эти тромбоцитарные ферменты могут быть кандидатами на роль маркеров эффективности антипсихотической терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

[1]. Бокша И.С. Особенности метаболизма глутамата при шизофрении. Биохимические механизмы шизофрении: исследование мозга и крови



человека. LAP Lambert Ac. Publishing (2012-04-03) ISBN-13: 978-3-8473-4281-6.

[2]. Прохорова Т.А., Воробьева Е.А., Стародубцева Л.И., Терешкина Е.Б., Савушкина О.К., Востриков В.М., Бокша И.С., Бурбаева Г.Ш., Уранова Н.А. Связь биохимических особенностей с ультраструктурными аномалиями олигодендроглии у больных шизофренией. Сб. трудов Всероссийской Интернет-конференции «Молекулярные механизмы шизофрении» 21-25 марта 2011. Изд-во Казанского Ун-та, Казань-Москва. С. 43-49.

[3]. Бурбаева Г.Ш., Бокша И.С., Каледа В.Г., Бархатова А.Н., Турищева М.С., Омельченко М.А., Терешкина Е.Б., Савушкина О.К., Стародубцева Л.И., Прохорова Т.А., Воробьева Е.А. Белок, подобный глутаминсинтетазе, глутаматдегидрогеназа и цитохром с-оксидаза в тромбоцитах больных при первом психотическом приступе в связи с лечением. Ж. неврол. психиатрии им. С.С. Корсакова, 2011.-N 9.-С.61-66.

[4]. Бурбаева Г.Ш., Бокша И.С., Терешкина Е.Б., Савушкина О.К., Судаков С.А., Воробьева Е.А., Турищева М.С., Мясоєдов С.Н., Стародубцева Л.И. Комплексная нейрoхимическая оценка мозговых

белков в норме и при шизофрении. Ж. неврол. психиатрии им. С.С. Корсакова, 2008.-N 2.-С.44-50.

[5]. Boksha I.S., Savushkina O.K., Burbaeva G.Sh. Comparative studies of brain creatine kinase levels in various brain cortex areas in schizophrenia by ECL-immunoblotting with the use of monoclonal antibody. NATO Adv. Res. Workshop «Creatine Kinase and Brain Energy Metabolism: Function and Disease 2003 Tbilisi, Georgia, June 14-18, 2001 (<http://spl.bwh.harvard.edu:8000/conferences/ARWo1/index.html>).

[6]. Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Tereshkina E.B., Savushkina O.K., Turishcheva M.S., Starodubtseva L.I., Brusov O.S., Morozova M.A. Effect of olanzapine treatment on platelet glutamine synthetase-like protein and glutamate dehydrogenase immunoreactivity in schizophrenia. World J. Biol. Psychiatry. 2006; 7(2): 75-81.

[7]. Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Turishcheva M.S., Savushkina O.K., Beniashvili A.G., Rupchev G.E., Morozova M.A. Platelet cytochrome c-oxidase activity in patients with acute schizophrenia in the course of their treatment with risperidone. 2011; 3 (1): 13-19.

