

Введение в фармакогенетику. Фармакогенетика тардивной дискинезии

Светлана Александровна Иванова
зам. директора по НР ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН,
профессор,
руководитель лаборатории
молекулярной генетики и биохимии

19 мая 2014 г., Томск

Введение в фармакогенетику

- Почему ответ на лекарства различен?
- Что такое фармакогенетика?
- Методология фармакогенетических исследований.
- Требования к фармакогенетическим тестам.
- Фармакогенетика антипсихотиков.
- Фармакогенетика тардивной дискинезии.

Почему ответ на лекарства различен?

Возможные причины:

Этнические особенности

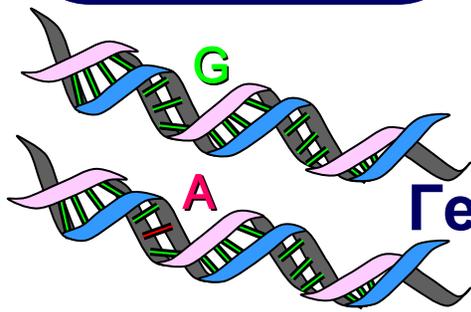
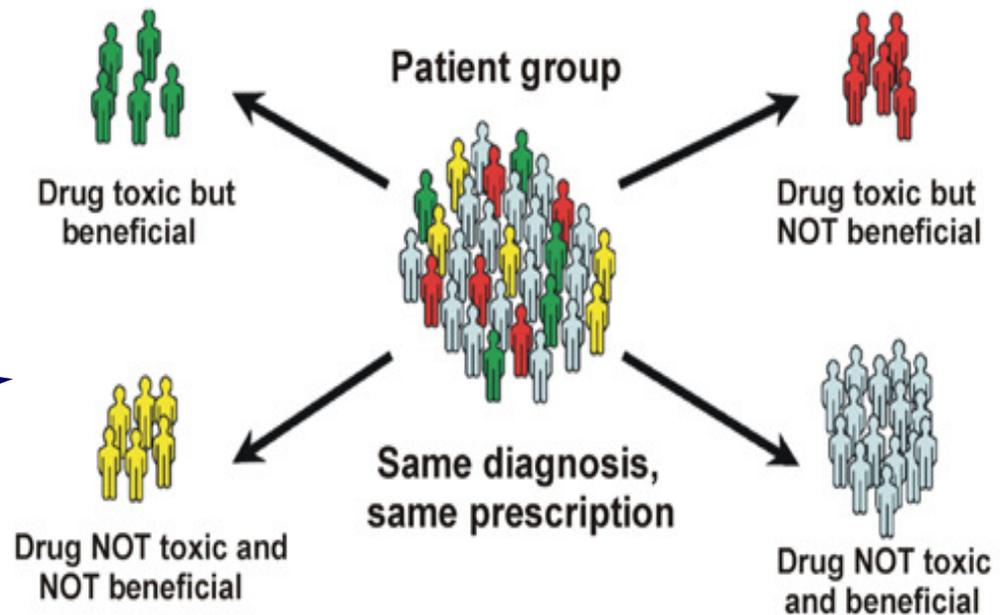
Возраст

Генетические факторы

Сопутствующие заболевания

Лекарственное взаимодействие

Индивидуальные вариации:



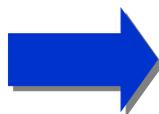
SNP

Генетические различия

Разделение внутри «одной» группы по терапевтическому ответу и безопасности

**Генетические
особенности
пациента**

50%



**«ОТВЕТ» НА
ЛЕКАРСТВЕННОЕ
СРЕДСТВО**

Пол

Возраст

**Тяжесть течения
основного заболевания**

**Сопутствующие
соматические
заболевания**

50%

**Совместно применяемые
ЛС и БАД**

Особенности питания

**Вредные привычки:
курение, алкоголь,
наркотики**

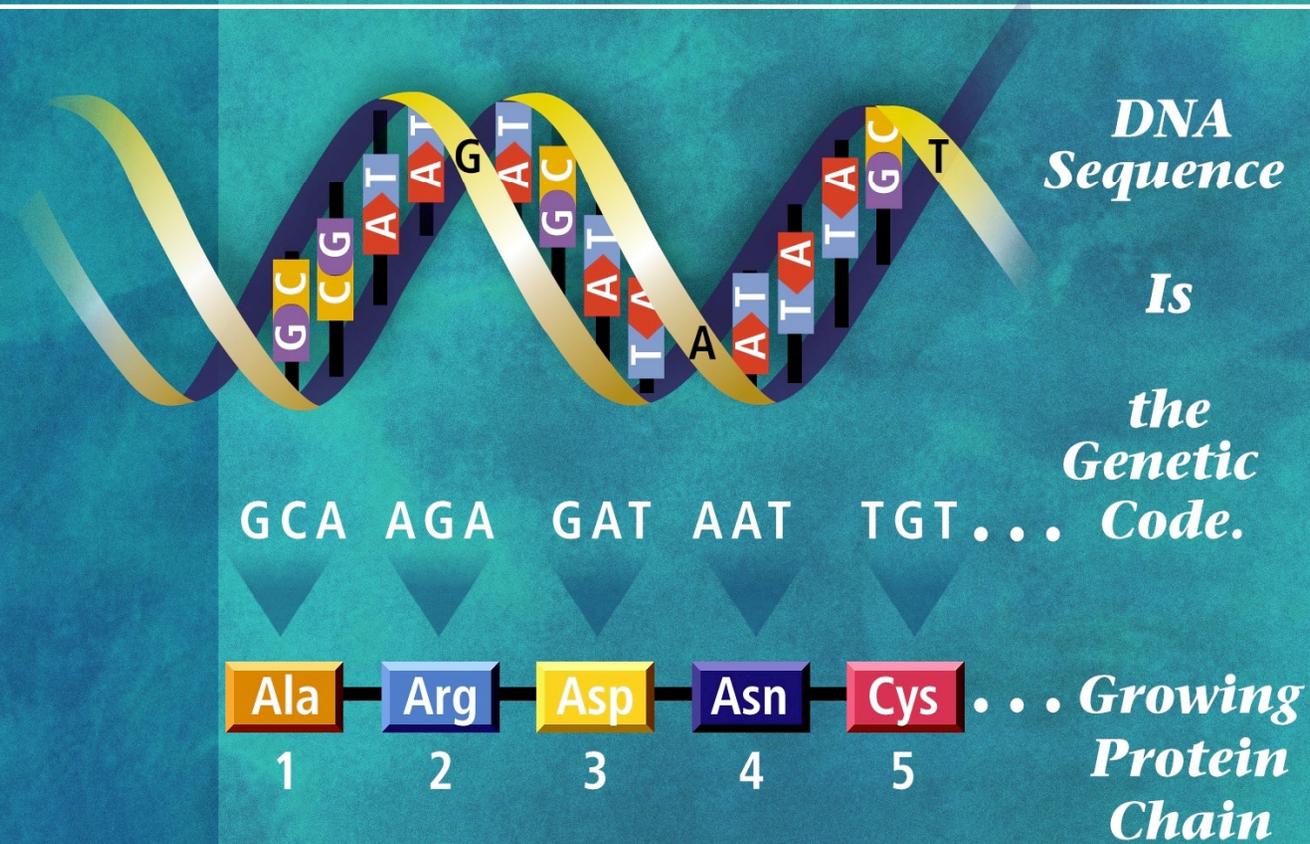
В 2006 году завершен проект «Геном человека»

- **человеческий геном состоит из 3164,7 млн. химических нуклеотидных соединений (А, С, Т, и G);**
- **средний ген – из 3 000 соединений, но его размер может достигать 2,4 млн. соединений;**
- **общее количество генов оценивается в 30 000 (намного меньше, чем по прежним подсчетам – до 140 000);**
- **порядок практически всех (99.9%) нуклеотидных соединений ДНК абсолютно одинаков у всех людей;**
- **не известны функции более 50% обнаруженных генов;**
- **менее 2% генома кодируют выработку белка;**
- **повторяющиеся соединения, не кодирующие выработку белка, составляют более 50% человеческого генома.**

**После завершения в 2006 г. проекта «Геном человека»
ученые стремительно продвигаются в изучении SNP.**

**Большинство ученых утверждает:
исследование SNP произведет революцию
в профилактической медицине, диагностике заболеваний и
персонализированной терапии.**

DNA Genetic Code Dictates Amino Acid Identity and Order



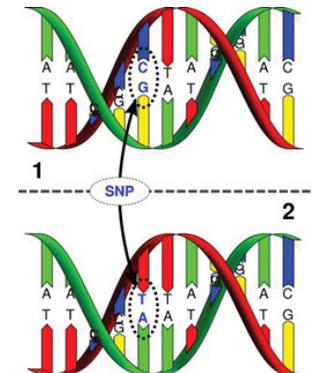
Практически последовательность ДНК абсолютно идентична у всех людей (99.9 %). Наши различия определяются генетическими полиморфизмами. Полиморфизм — варианты последовательностей ДНК, распространённые в общей популяции с частотой не менее 1%.

Генетические полиморфизмы могут быть следующими:

- i. Tandem Repeats (**VNTR**); e.g. TTA TTA → TTA TTA TTA
- ii. Insertions and Deletions (**Indels**); cggat → cg^vat
- iii. Single Nucleotide Polymorphism (**SNP**); e.g. CAT → GAT
- iv. Gene **duplications** (e.g. 3x or more copies of CYP2D6)

Полиморфизмы могут влиять

- структура или функция белка
- protein density (плотность или концентрация)
- mRNA стабильность или сплайсинг (вырезание интронов)
- не оказывать влияния, но быть связаны с другими полиморфизмами (LD)



Из-за индивидуальных различий...

- 70-80% лекарств-кандидатов терпят неудачу в клинических испытаниях.
- Многие из утвержденных препаратов удалены с рынка из-за неблагоприятных эффектов лекарственных средств.
- Использование информации о ДНК-последовательности для оценки и предикции ответа на лекарства.
- Персонализированные лекарства.
- Быстрота клинических испытаний.
- Меньше побочных эффектов лекарственных средств.



Фармакогенетика

Что такое фармакогенетика?

- наука, изучающая то, каким образом разные генотипы определяют разный клинический ответ на лекарственные средства;
- изучение того, в какой мере люди по разному реагируют на лекарственные средства в силу своих генетических особенностей;
- изучение корреляций наследственной генетической информации и лекарственного ответа.

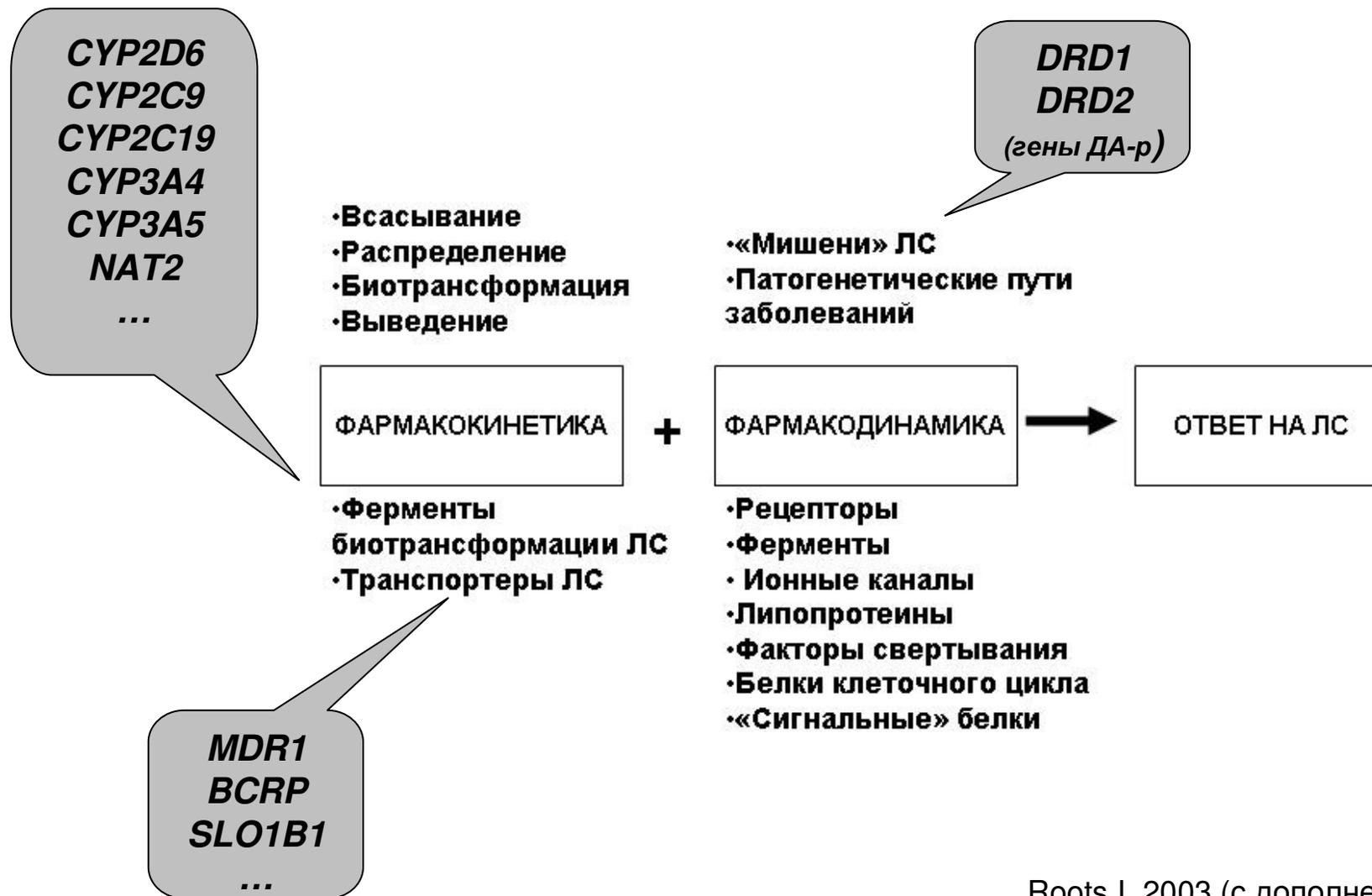
Как исторический пример, во время Корейской Войны Korean War (1950-1953), чтобы снизить вероятность заболевания малярией, для профилактики назначал противомаларийный препарат primaquine. Вскоре после этого, более 10% афро-американских военнослужащих поступили с диагнозом острой анемии и тяжелой гемолитической анемии. Все пострадавшие военнослужащие имели мутации в гене, который кодирует фермент глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа (G6PD).

Функционально Г6ФД играет важную роль в поддержании надлежащего баланса определенных молекул в клетках. Как правило, мутация, которая снижает нормальные функции фермента может быть компенсировано за счет других клеточных процессов. Однако, люди с мутацией гена Г6ФД испытывают трудности, когда их клетки подвергаются дополнительной нагрузке например, когда вводят примахин. Система становится перегруженной, и в результате окислительного повреждения клеток красной крови приводит к анемии. Как только лечение было прекращено, военнослужащие выздоровели.

Примеры:

Protein	Drugs and Treatment/Action	Drug Responses	Polymorphism Rules and Year of Report
<u>Cytochrome P450 1A2</u>	Antipsychotic agents for schizophrenia patients	<u>Tardive dyskinesia</u>	Bsp120I (C → A) polymorphism in CYP1A2 gene, 2000 [Basile <i>et al.</i> , 2000]
Cytochrome P450 2C9	Anticoagulant agents for the initial phase of <u>phenprocoumon</u> treatment	Severe over-anticoagulation	CYP2C9*2 genotype, 2004 [Schalekamp <i>et al.</i> , 2004]
			CYP2C9*3 genotype, 2004 [Schalekamp <i>et al.</i> , 2004]
Cytochrome P450 2D6	<u>Neuroleptic</u> agents for chronic schizophrenic patients	Tardive dyskinesia	CYP2D6*4 genotype, 1998 [Kapitany <i>et al.</i> , 1998]
Cytochrome P450 2D6	Psychochopic drugs for psychiatric illness	Extrapyramidal drug side effects	CYP2D6 PM phenotypes, 1999 [Vandel <i>et al.</i> , 1999]
Cytochrome P450 2D6	CYP2D6-dependent antidepressants	Drug non-response	CYP2D6 EM phenotypes, 2004 [Rau <i>et al.</i> , 2004]
UDP-glucuronosyltransferase	<u>Capecitabine/irinotecan</u> for the treatment of <u>metastatic colorectal cancer</u>	Greater <u>antitumor</u> response with low toxicity	UGT1A7*2/*2 genotype, 2005 [Carlini <i>et al.</i> , 2005]
			UGT1A7*3/*3 genotype, 2005 [Carlini <i>et al.</i> , 2005]
UDP-glucuronosyltransferase I	<u>Tranilast</u> for the prevention of <u>restenosis</u> following coronary revascularization	Hyperbilirubinemia	Homozygosity for a (TA) ₇ -repeat element within the <u>promotor</u> region of UGT1A1 gene, 2004 [Hosford <i>et al.</i> , 2004]
<u>N-acetyltransferase 2</u>	<u>Trimethoprim-sulfamethoxazole</u> for the treatment of infections in infants	Idiosyncratic reactions such as fever, skin rash and <u>multiorgan</u> toxicity	NAT2*5A allele, 1997 [Zielinska <i>et al.</i> , 1998]
			NAT2*5C allele, 1997 [Zielinska <i>et al.</i> , 1998]
			NAT2*7B, 1997 [Zielinska <i>et al.</i> , 1998]
<u>N-acetyltransferase 2</u>	Aromatic amine carcinogens in tobacco smoke	Hepatitis B related <u>hepatocellular carcinoma</u>	NAT2*4 allele, 2000 [Yu <i>et al.</i> , 2000]
<u>N-acetyltransferase 2</u>	<u>Isoniazid</u> for the prophylaxis and treatment of tuberculosis	<u>ADRs</u> such as peripheral neuritis, fever and hepatic toxicity	SA type (NAT2*6/*6, NAT2*6/*7, and NAT2*7/*7), 2002 [Hiratsuka <i>et al.</i> , 2002]

Некоторые гены-кандидаты, полиморфизмы которых влияют на фармакологический ответ психотропных препаратов



1 ФАЗА

2 ФАЗА

КСЕНОБИОТИК



ПРОМЕЖУТОЧНЫЙ
ПРОДУКТ

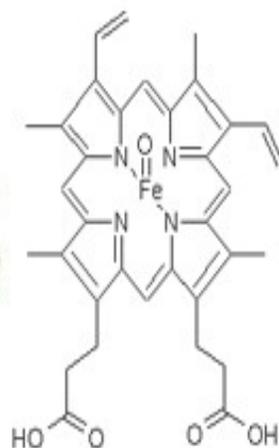
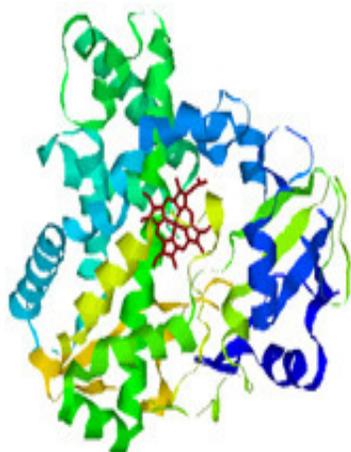


КОНЬЮГАТ

ОКИСЛЕНИЕ
ВОССТАНОВЛЕНИЕ
ГИДРОЛИЗ

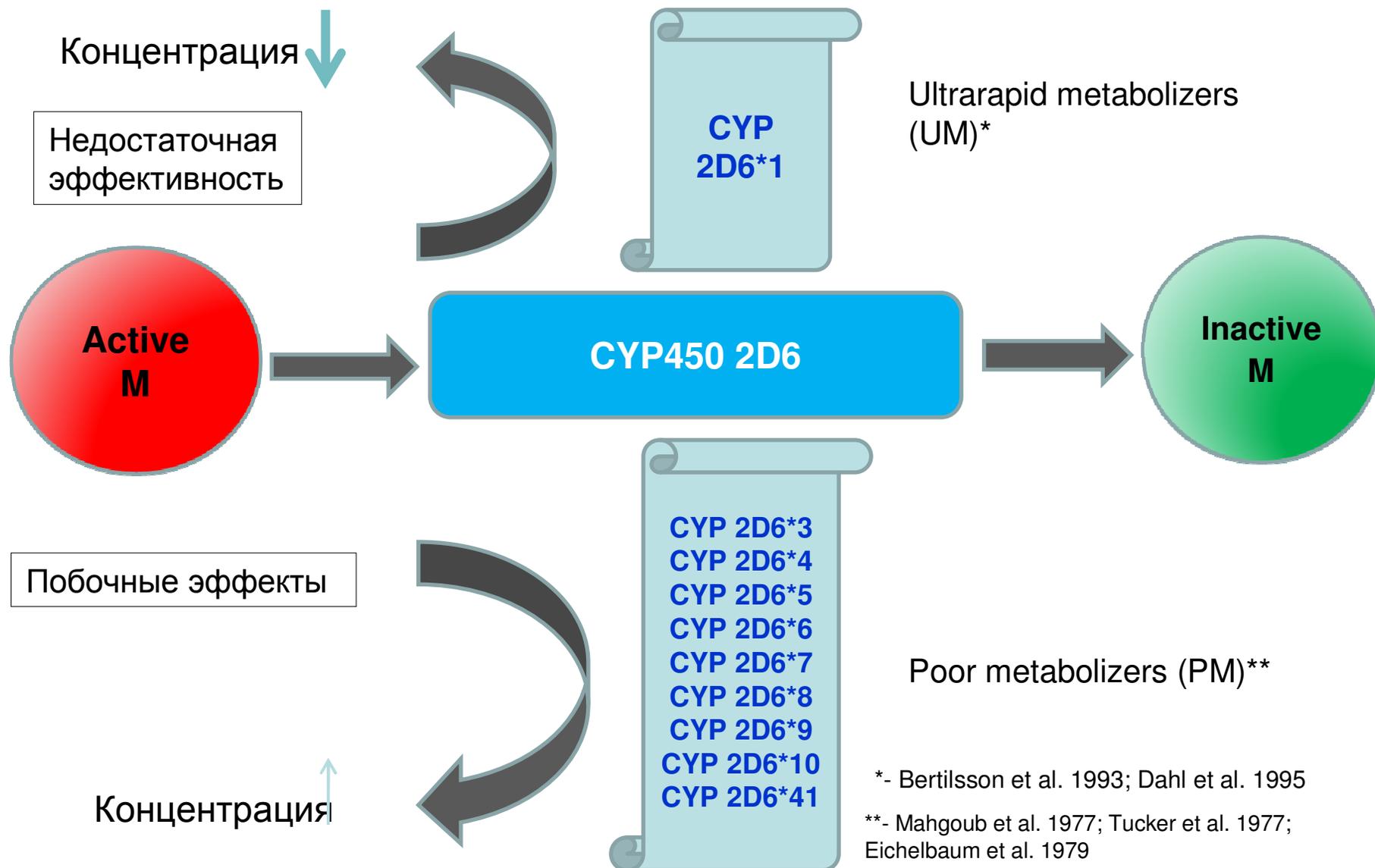
ГЛЮКУРОНИДАЦИЯ
СУЛФАТАЦИЯ
МЕТИЛИРОВАНИЕ
СЯЗЫВАНИЕ С ГЛЮТАТИОНОМ

Фазы метаболизма чужеродных соединений

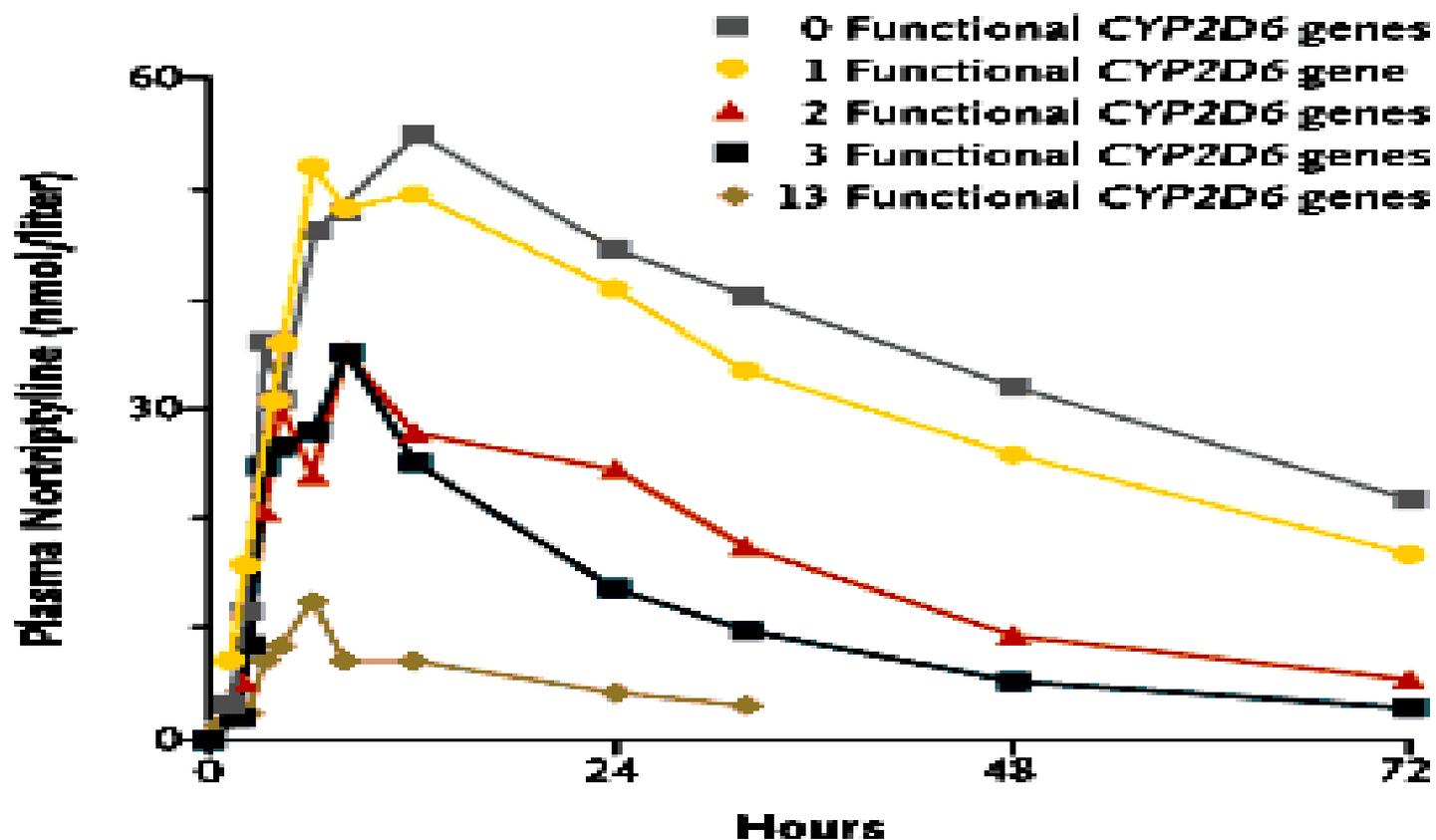


Пространственная Конформация
Цитохрома Р450

Схема биотрансформации антипсихотиков и варианты терапевтического ответа в зависимости от полиморфного варианта



Связь концентрации препарата в крови с количеством функциональных вариантов генов CYP2D6



Weinshilboum, NEJM, 2003, 348:529

Фармакогенетическое тестирование особенно необходимо в следующих клинических ситуациях

- **При применении ЛС с большим спектром и выраженностью нежелательных лекарственных реакций**
- **При длительном применении ЛС (сердечно-сосудистые, психотропные ЛС, гормональные препараты и т.д.)**
- **При применении ЛС с узкой терапевтической широтой**
- **У пациентов из групп риска развития нежелательных лекарственных реакций**
- **При применении дорогостоящих ЛС**

Общие требования, предъявляемые к фармакогенетическому тесту для внедрения в клиническую практику

- **Наличие выраженной ассоциации между выявляемым аллелем того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом.**
- **Тест должен обладать высокой чувствительностью, специфичностью, предсказательной ценностью положительного и отрицательного результатов.**
- **Должен быть хорошо разработан алгоритм применения ЛС в зависимости от результатов фармакогенетического теста.**
- **Выявляемый аллель должен встречаться в популяции с частотой не менее 1%.**
- **Должны быть доказаны преимущества применения ЛС с использованием результатов фармакогенетического теста по сравнению с традиционным подходом (без тестирования).**
- **Тест должен быть оценен с позиции фармакоэкономики.**

Felix W. Frueh, 2006 (в модификации)

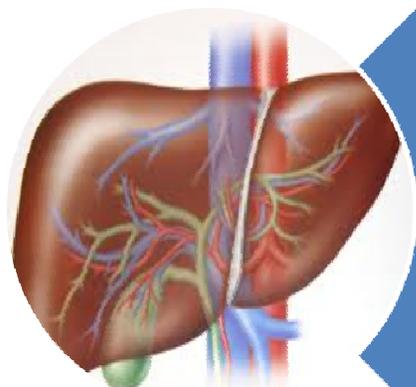
Фармакогенетические тесты, рекомендованные к применению в клинической практике в различных странах для снижения риска развития НЛР (FDA, ЕМЕА)

- Оральные антикоагулянты: варфарин, аценокумарол (определение полиморфизмов генов *CYP2C9* и *VKORC1*).
- **Антидепрессанты и нейролептики (определение полиморфизмов гена *CYP2D6*).**
- Изониазид, пиразинамид, рифампицин (определение полиморфизмов гена *NAT2*).
- Оральные контрацептивы (определение т.н. «мутации Лейдена» в гене V фактора свертывания).
- Атомoksetин (определение полиморфизмов гена *CYP2D6*).
- Вориконазол (определение полиморфизмов гена *CYP2C19*).
- **Карбамазепин (определение полиморфного маркера *HLA-B*1502*).**
- Абакавир (определение полиморфного маркера *HLA-B*5701*).
- Азатиоприн, 6-меркаптопурин (определение полиморфизмов гена *TPMT*).
- Иринотекан (определение полиморфизма гена *UGT1A1*).

Для чего стоит изучать фармакогенетику антипсихотиков?

- 1. Только 60-70% пациентов отвечают на терапию антипсихотиками.**
- 2. Позднее выявление проблемы недостаточного терапевтического ответа (спустя 4-12 недели с начала терапии).**
- 3. Терапия психотропными препаратами может приводить к нежелательным эффектам (ЭПС, нейроэндокринные побочные эффекты и т.п.).**
- 4. Механизм действия антипсихотиков до конца не ясен.**

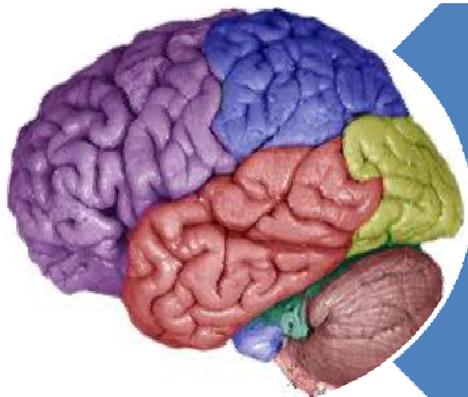
Фармакогенетические методы: основные цели



Фармакокинетика:

Полиморфизм генов
CYP450, транспортеры ЛС

Одобрено FDA (*De Leon et al 2006*)



Фармакодинамика:

Полиморфизм генов рецепторов
дофамина и серотонина,
переносчиков нейромедиаторов

Гены, полиморфизм которых наиболее значим для безопасности психотропной терапии

HTR2C (ген серотонинового рецептора 5HT2C)

Регуляция аппетита/ веса / Сах. диабет 2

- (Xq24) 759 c/t (rs 381929)
- T-аллель ассоциирована с отсутствием прибавки веса ($p < 0,0001$)
- Связь с возрастом, полом, характером течения первого эпизода не установлена (De Luca et al 2007)

DRD3 (ген рецептора дофамина D3)

Регуляция моторной активности/заторможенности

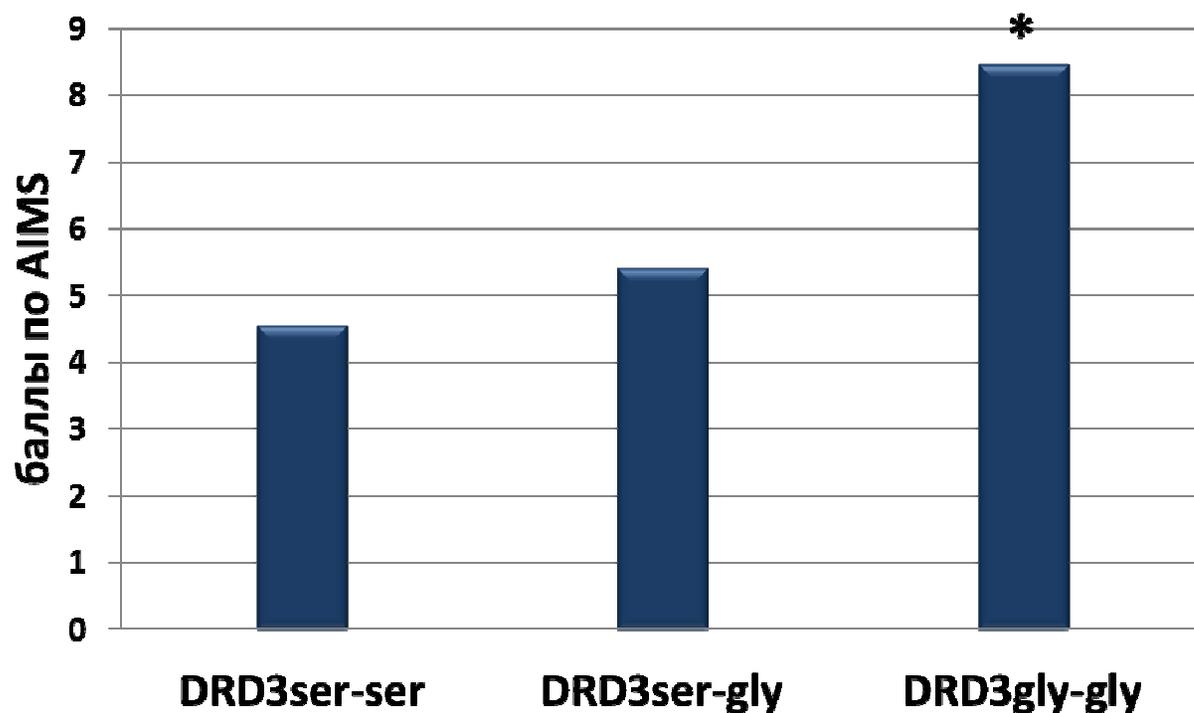
- (3q13.3)
- Ser9Gly (rs 6280)

Nasrallah 2008; Reynolds et al 2005; Lerer et al 2002

Результаты мета-анализа связи генотипа DRD3 и оценок по AIMS

Фармакогеномика ТД: комбинированный анализ данных 780 случаев

6 центров; 8 популяционных групп; регрессионный анализ (генотип, возраст, пол)



Носительство Gly9Gly генотипа достоверно ассоциировано с поздней дискинезией ($p < 0,001$)

Lerer et al, 2002

Клинические симптомы связывания психотропных средств с разными типами рецепторов

Воздействие на рецепторы	Клинические проявления
D ₂ антагонизм	Эффективность в отношении позитивных симптомов, повышение уровня пролактина, экстрапирамидные симптомы (ЭПС)
5-HT _{2A} антагонизм	Эффективность в отношении негативных симптомов, снижение риска ЭПС
5-HT _{2C} антагонизм	Антидепрессивная активность
5-HT _{1A} агонизм	Антидепрессивная и анксиолитическая активность, улучшение когнитивных функций, ослабление ЭПС
α ₁ антагонизм	Гиперседация, ортостатическая гипотония
H ₁ антагонизм	Гиперседация, увеличение веса
M ₁ антагонизм	Анксиолитический эффект, холинолитические побочные эффекты

Российско-Голландский проект Фармакогенетика тардивной дискинезии

Тардивная дискинезия (TD) – это обусловленные применением нейролептической терапией двигательные расстройства с частотой встречаемости 20-30% у психически больных длительно получающих антипсихотики.

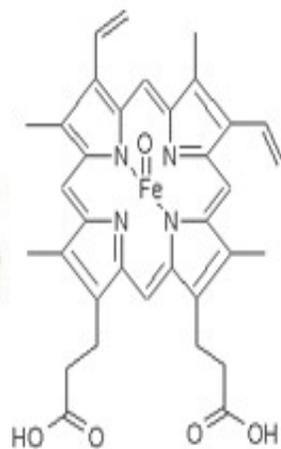
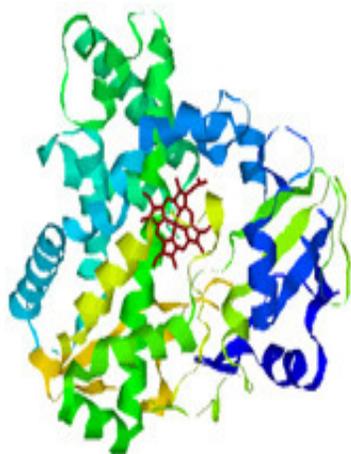
Цель: изучить взаимосвязи между полиморфизмами генов и чувствительностью к развитию двигательных расстройств (тардивной дискинезии)

Факторами риска, предрасполагающими к развитию ТД являются поздний возраст, женский пол и т.д.

Наследственная предрасположенность играет важную роль.

- **Чувствительность к развитию лекарственноиндуцированных двигательных расстройств зависит от метаболизма лекарств:**
- **уровня в крови используемых психотропных препаратов.**
- **Генотипы лекарства-метаболизирующих ферментов CYP2D6 и CYP1A2 играют определенную роль в метаболизме лекарств**

Configuration of CYP

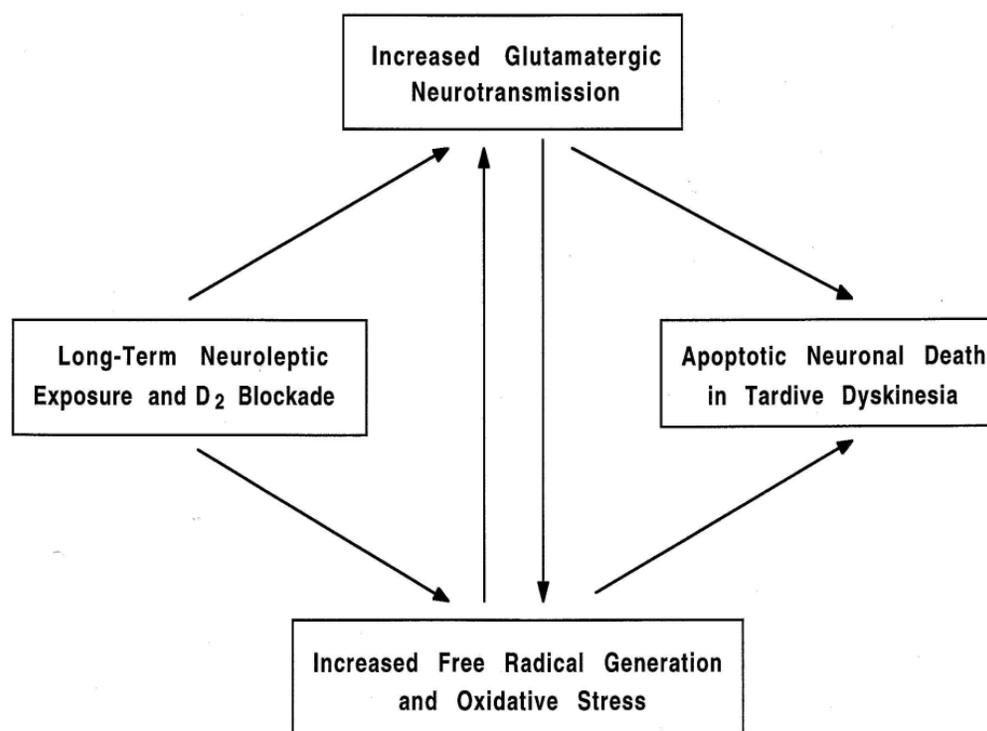


Цитохромы

- **Некоторые полиморфизмы рецепторов нейромедиаторов вовлечены в лекарственно-индуцированные двигательные расстройства.**
- **Дофамин D3, серотонин 2A и 2C рецепторы (DRD3, HTR2A, and HTR2C гены, соответственно) вовлечены в терапевтические и побочные эффекты антипсихотиков.**
- **Генетические вариации в этих рецепторах могут определять индивидуальную чувствительность к ТД.**

Нейрональная дегенерация через активацию окислительного стресса выдвигается как один из механизмов патогенеза тардивной дискинезии.

Генотипы Mn Супероксиддисмутазы (Ala9Val) Глутатионтрансферазы P1, глутатионпероксидазы и NO синтазы (C267T) дискутируются в этом отношении.





Критерии включения:

- Диагнозы шизофрения (ICD-10: F20) или шизотипическое расстройство (ICD-10: F21),
- Европеоидная раса,
- Клиническое отсутствие органических или неврологических расстройств и синдромов зависимости,

Тардивная дискинезия оценивалась по шкале:

- Abnormal Involuntary Movement Scale (AIMS) (American Psychiatric Association. Task force on tardive dyskinesia 1992; Gardos et al., 1977).
Оценивалась orofaciolingual dyskinesia (TDof) – шкалы 1- 4 и limb-truncal dyskinesia (TDIt) – шкалы 5-7.

Сумма баллов определяла степень выраженности тардивной дискинезии

ABNORMAL INVOLUNTARY MOVEMENT SCALE (AIMS)

(Sadimod Adaptation)

Patient:		Date:	
Instructions: Complete examination procedure before making ratings. When rating movements, rate highest severity observed. For the definity AIMS score rate movements that occur upon activation one less than those observed spontaneously			
Severity scores	0: (none) The described movements are not present.		
	1: (minimal) May be extreme normal		
	2: (mild) The described movements are intermittently present.		
	3: (moderate) The described movements are present during more then half of the time.		
	4: (severe) The described movements are continuously present		
	Active	Passive	AIMS
Facial and Oral Movements			
1. Face (mimic muscles)	0	0	0
Involuntary movements (myoclonias or tics or jerks, also athetotic movements) of the forehead (frowning), eyebrows (pulling up, frowning), eyelids (winking, blinking), cheeks (smile, grimace), corner of mouth or the platysma.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
2. Lips and around the mouth	0	0	0
Pointing the lips, biting the lips or murmur, smacking- or sucking movements.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
3. Jaw	0	0	0
Biting-, chewing-, grinding- and crunching movements, repetitive opening and closing of the mouth, lateral movements and other involuntary movements in the temporomandibular joint.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
4. Tongue	0	0	0
Licking movements, repetitive sticking out of the tongue ('flycatcher tongue'), worm-like irregular movements of the tongue, curling of the tongue, incapable of sticking out one's tongue and holding it in that position, bulging of the cheek and the lips with the tongue ('bonbon mouth'). Do not exclusively score movements during the tongue tasks.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
Extremity and Trunk Movements			
5. Upper extremities (arms, wrists, hands and fingers)	0	0	0
Repetitive bending, stretching, spreading and closing or rubbing of the fingers, as well as choreatic movements (mostly distal, quick and abrupt, irregular, spontaneous, jerking movements), sometimes ballistic (mostly proximal, fast and explosive, irregular, spontaneous, swaying movements), sometimes myoclonic (fast and abrupt, often repetitive, spontaneous muscle- or muscle group contractions) and also distal athetotic movements (continuous, slow and tonic, snakelike wave-movements, that merge into one another smoothly).	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4

6. Lower extremities (legs, knees, ankles and toes)	0	0	0
Repetitive bending, stretching, spreading and closing or rubbing of the toes, as well as choreatic movements, sometimes ballistic, sometimes myoclonic and also distal athetotic movements, for instance lateral movement of the knees, the canting, turning and stretching of the foot, making tapping movements on the ground with the front part of the foot or the heel. Can be indistinguishable from akathisia or tremor.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
7. Torso (neck, shoulders, hips)	0	0	0
Disturbed posture and gait with swinging and/or jerking and/or twisting and/or swaying movements of the torso, pulling one's shoulders, rotating hip movements and canting the pelvis, contracting the nates/thighs. Also head and neck dyskinesias should be assessed at this place.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
Total score			
Global impression	0	0	0
On scoring this sub-item the assessor takes all the information he/she has available as well as all clinical experience into account and expresses the severity of the dyskinesia in a number. When the observed hyperkinetic movements are no true dyskinesias in the opinion of the assessor, he/she should score '1' or '0'.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4

The presence or absence of dyskinesia was measured with the abnormal involuntary movement scale (AIMS). We only considered patients who were not on clozapine treatment (clozapine suppresses TD).

The AIMS scores were transformed into a binary form (presence or absence of dyskinesia) using Schooler and Kane's criteria. Orofacial (AIMS items 1-4), limb-truncal (AIMS items 5-7) and 'anywhere' dyskinesia (AIMS 1-7) were dealt with separately.

The sum of the first four items was used as a proxy for the severity of TDof, while the sum of items 5 thru 7 was used as a proxy for the severity of TDIt.

Демографическая и клиническая характеристика исследуемых пациентов

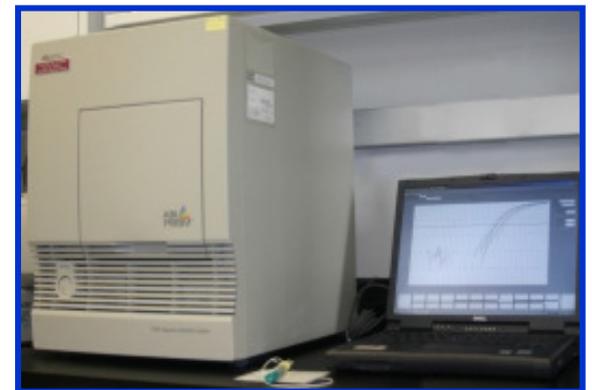
	All (146)	Male (91)	Female (55)
Age	46.8±17.6	45.4±16.8	49.2±18.9
Daily dose of antipsychotics	971.8±894.3	962.8±827.0	986.6±1003.6
Subjects using atypical antipsychotics, % (n)	34.9 (51)	37.4 (34)	30.9 (17)
Subjects using anticholinergics, % (n)*	72.6 (106)	78.0 (71)	63.6 (35)
Daily dose of anticholinergics among users*	5.6±3.9	5.5±4.0	5.8±3.6
Orofaciolingual AIMS-score (TDof)	2.3±2.3	2.5±2.3	2.1±2.1
Limb-truncal AIMS-score (TDIt)	1.2 ±1.9	1.3±2.0	1.0±1.7
Total AIMS-score	3.5±3.7	3.7±3.8	3.0±3.4
Subjects with ≥ 2 points on any of AIMS items 1-4, % (n)	23.3 (34)	28.6 (26)	14.5 (8)
Subjects with ≥ 2 points on any of AIMS items 5-7, % (n)	11.0 (16)	12.1 (11)	9.1 (5)
Subjects with ≥ 2 points on any of AIMS items 1-7, % (n)	29.5 (43)	35.2 (32)	20.0 (11)

Генотипирование

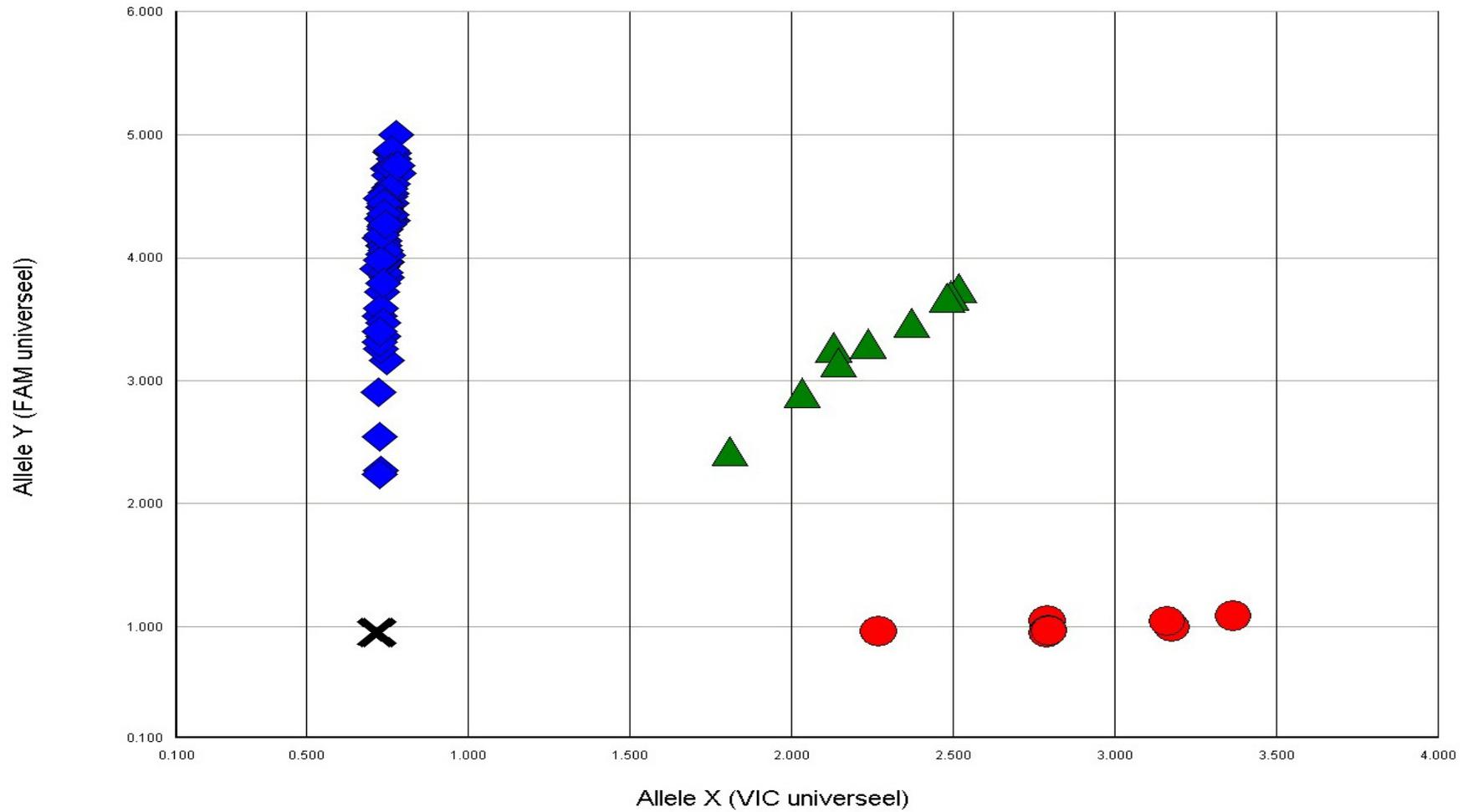
- DNA extraction and fluorogenic 5'-exonuclease TaqMan genotyping assays (PCR-RealTime System, Applied Biosystem) were conducted according to standard protocols and blind to the clinical status of the subjects.

Polymorphisms:

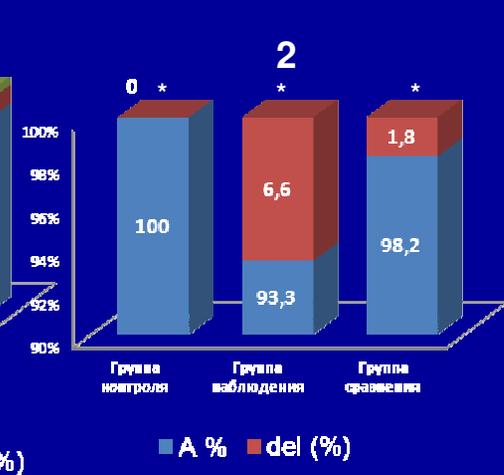
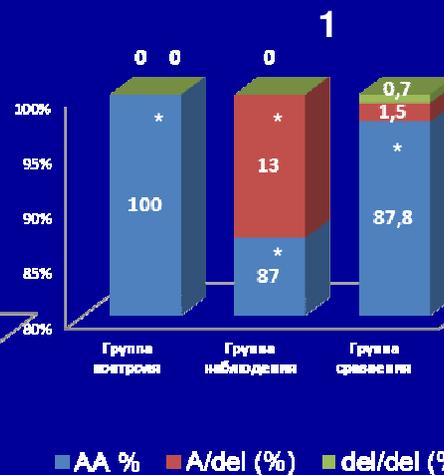
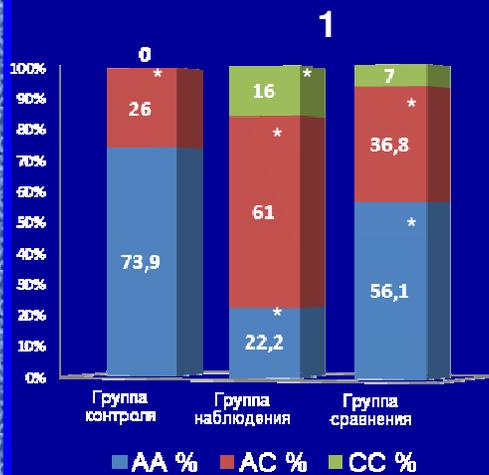
- DRD3 (Ser9Gly), HTR2A (-1438G>A) , HTR2C (Cys23Ser)
- GSTP1 (Ile105Val), SOD2 (Ala9Val), and GPX1 (Pro197Leu) ,
- P450 CYP 1A2*F (A163C), CYP 2D6 *3, CYP 2D6*4, CYP 2D6*6
- Departure from the Hardy-Weinberg Equilibrium was calculated for all polymorphisms except for the X-chromosomal Cys23Ser SNP.
- To reduce the number of classes studied, we chose to underestimate the effects of the polymorphisms by classifying the subjects as carriers or non-carriers of the minor allele.



Allelic Discrimination

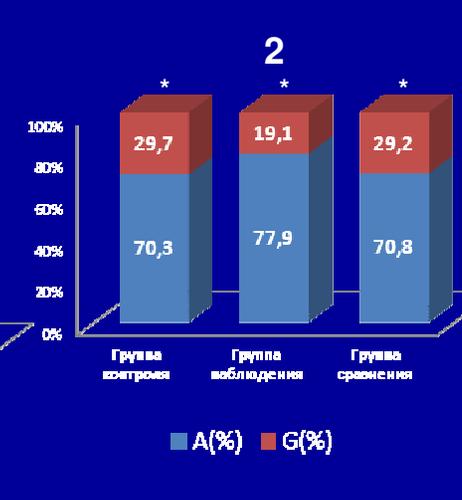
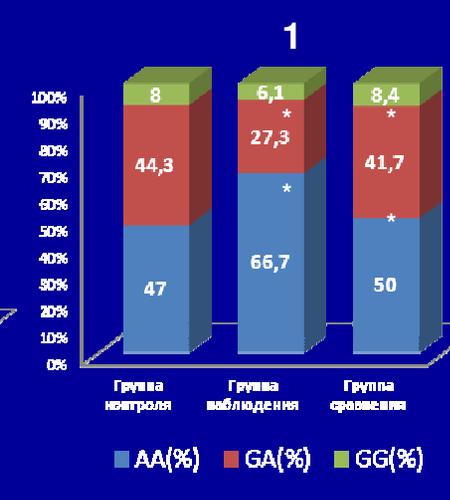
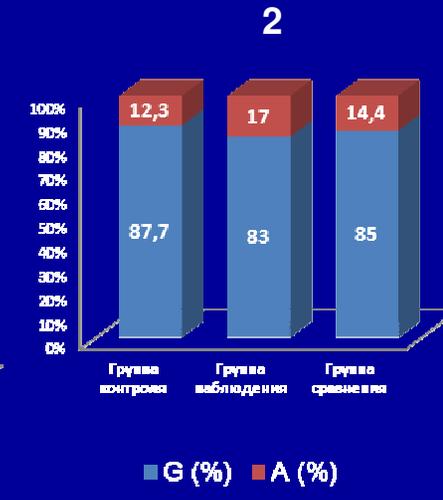
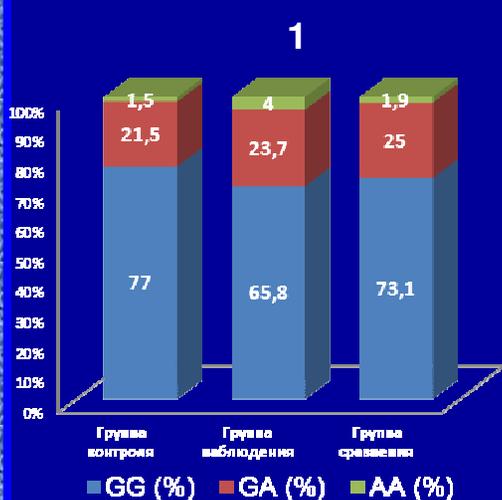


● Allele X ◆ Allele Y ▲ Both □ NTC ✕ Undetermined
Marker: FARMACOGENETICA Well(s): A1-H12
Document: Read_HTR2C_C23S_310108.sds (Allelic Discrimination)



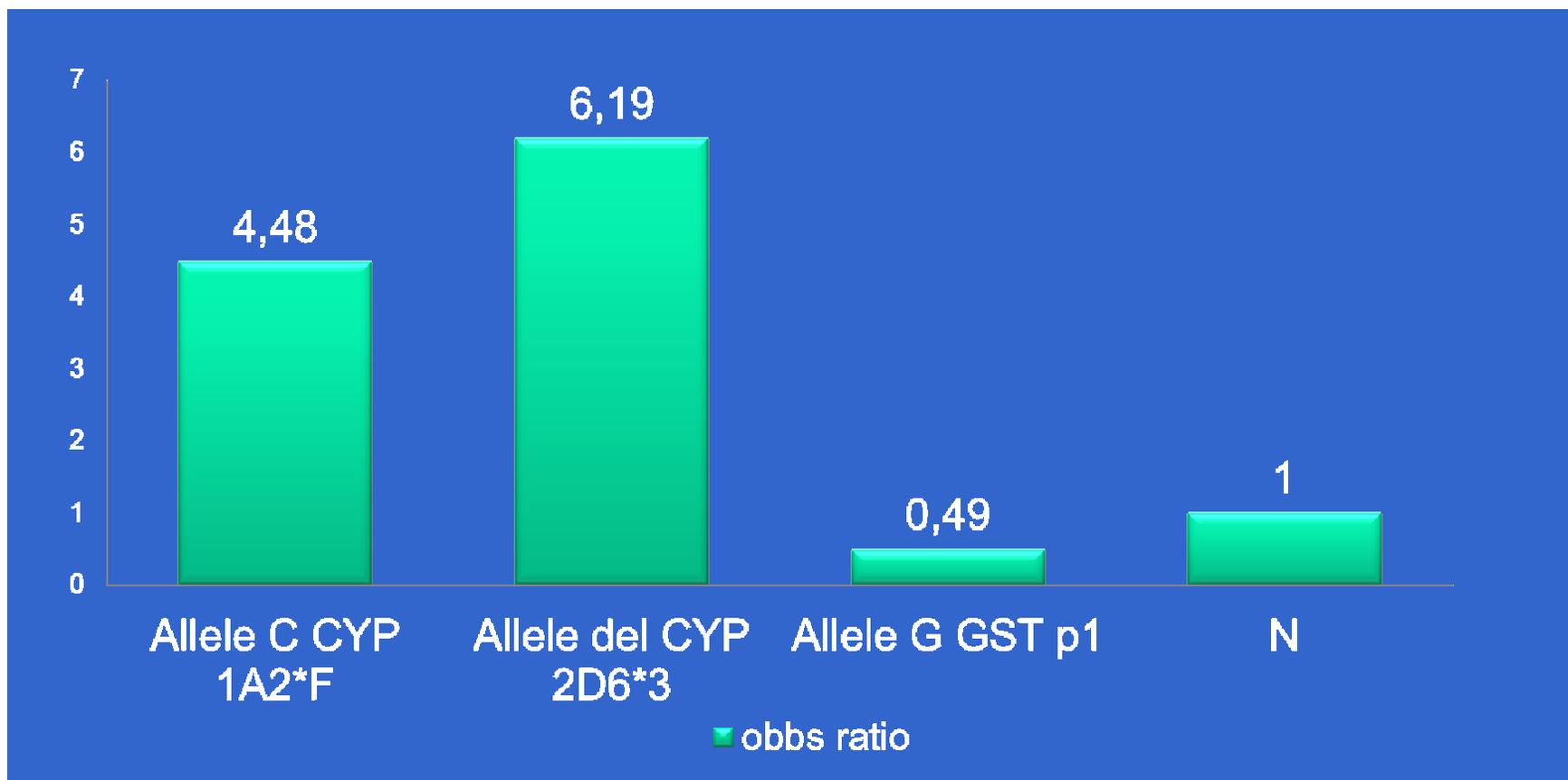
Распределение генотипов (1) и аллелей (2) CYP 1A2*F в группах (* - $p \leq 0,05$)

Распределение генотипов (1) и аллелей (2) CYP 2D6*3 в группах (* - $p \leq 0,05$)



Распределение генотипов (1) и аллелей (2) CYP 2D6*4 в группах

Распределение генотипов (1) и аллелей (2) GST P1 в группах (* - $p \leq 0,05$)



Влияние аллельных вариантов генов системы цитохромов и глутатионтрансферазы (фермента второй фазы метаболизма ксенобиотиков) на риск развития тардивной дискинезии у больных шизофренией (CI95%)

Выявлены ассоциации полиморфизмов генов дофаминового рецептора DRD3 и серотонинового рецептора HTR2C с риском развития лимботранкальной дискинезии.

В отличие от TDof, TDIt проявила ассоциацию с Ser9Gly и Cys23Ser полиморфизмами (9Gly-аллель является предрасполагающим и 23Ser-аллель – протективным в отношении высокой выраженности TDIt).

Модели	Генетические вариации	Двухсоставной модельный анализ (TPM)				LOG-нормальная регрессия (LNR)		Логистическая регрессия (LR)	
		Часть 1		Часть 2		β	P	OR	P
		OR	P	B	P				
орофациолингвальная дискинезия (AIMS 1-4)									
I	9Gly-allele	2.08	0.084	-	-	1.18	0.143	-	-
	-1438A-allele	2.42	0.037*	-	-	1.24	0.065	-	-
II	9Gly-allele	1.27	0.635	1.10	0.499	-	-	1.85	0.161
	23Ser-allele	0.19	0.034*	1.36	0.366	-	-	-	-
III	-1438A-allele	1.82	0.156	-	-	1.21	0.103	-	-
	23Ser-allele	-	-	-	-	-	-	-	-
лимботранкальная дискинезия (AIMS 5-7)									
I	9Gly-allele	2.58	0.007*	1.38	0.019*	1.41	0.001*	-	-
	-1438A-allele	-	-	-	-	-	-	-	-
II	9Gly-allele	3.55	0.001*	1.33	0.035*	1.40	0.001*	-	-
	23Ser-allele	1.76	0.399	0.72	0.053*	0.75	0.031*	0.166	0.097
III	-1438A-allele	-	-	-	-	-	-	-	-
	23Ser-allele	-	-	0,69	0.0341*	0.77	0.061	0.166	0.097

105Val-allele of Ile105Val (GSTP1) может быть ассоциирована с низким риском и тяжестью TDof и TDIt

Выявлена ассоциация между Ala9Val полиморфизмом SOD2 и TDof, но не TDIt.

DETERMINANT	TPM PART 1	TPM PART 2	LNR	LR
<i>Orofaciolingual dyskinesia (AIMS 1-4)</i>				
Intercept	3.03	1.15	1.74**	0.04***
GSTP1 (105Ile / 105Val)	0.41*	—	0.78*	—
GSTP1 (105Val / 105Val)	0.21*	—	0.65†	—
MnSOD (9Ala / 9Val)	—	—	1.30†	4.38**
MnSOD (9Val / 9Val)	—	—	0.97	0.82
GPX1 (197Pro / 197Leu)	—	—	—	—
GPX1 (197Leu / 197Leu)	—	—	—	—
Age	0.97	—	—	1.04†
Gender	—	—	—	0.28**
Psychiatric clinic	12.29***	0.44***	1.28*	0.16**
Use of anticholinergics	2.04	1.70**	1.49**	4.04*
Daily exposure to antipsychotics	—	—	—	—
<i>Limb-truncal dyskinesia (AIMS 5-7)</i>				
Intercept	1.10	1.91*	2.31****	0.17
GSTP1 (105Ile / 105Val)	—	0.88	0.93	0.51
GSTP1 (105Val / 105Val)	—	0.46**	0.63*	—
MnSOD (9Ala / 9Val)	—	—	—	6.32
MnSOD (9Val / 9Val)	—	—	—	4.06
GPX1 (197Pro / 197Leu)	—	—	—	—
GPX1 (197Leu / 197Leu)	—	—	—	—
Age	—	1.01	—	0.95**
Gender	0.55†	—	0.81†	—
Psychiatric clinic	—	0.33****	0.74***	—
Use of anticholinergics	—	—	—	3.57†
Daily exposure to antipsychotics	—	1000.27x10 ^{-3**}	—	—

Note: significance codes have been assigned in the following manner; p-value ≤ 0.0001 "****", p-value ≤ 0.001 "****", p-value ≤ 0.01 "****", p-value ≤ 0.05 "****", p-value ≤ 0.09 "†".



Tardive dyskinesia and DRD3, HTR2A and HTR2C gene polymorphisms in Russian psychiatric inpatients from Siberia

A.F.Y. Al Hadithy^{a,b,c,d,h,*}, S.A. Ivanova^e, P. Pechlivanoglou^f, A. Semke^g, O. Fedorenko^g, E. Kornetova^e, L. Ryadovaya^c, J.R.B.J. Brouwers^{a,b}, B. Willfert^{a,b}, R. Bruggeman^{a,d}, A.J.M. Loonen^{a,h}

^a Pharmacotherapy and Pharmaceutical Care, University of Groningen, Groningen, The Netherlands
^b Clinical Pharmacy and Pharmacology, Ziekgroep Noorderbreedte and De Tjongerschans, Leeuwarden, The Netherlands
^c Department of Clinical Pharmacology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands
^d Department of Psychiatry, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands
^e Mental Health Research Institute, Tomsk, Russian Federation
^f Unit of Pharmacogenetics and Pharmacoeconomics (PE2), Department of Pharmacy, University of Groningen, The Netherlands
^g GGZ Westelijk Noord-Brabant, BERGE OP ZOOM, The Netherlands
^h Department of Hospital Pharmacy, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

ARTICLE INFO

Article history:
 Received 1 November 2008
 Received in revised form 31 December 2008
 Accepted 21 January 2009
 Available online 24 January 2009

Keywords:
 DRD3
 Extrapyramidal syndromes
 HTR2A
 HTR2C
 Pharmacogenetics
 Tardive dyskinesia

ABSTRACT

Background: Pharmacogenetics of tardive dyskinesia and dopamine D3 (DRD3), serotonin 2A (HTR2A), and 2C (HTR2C) receptors has been examined in various populations, but not in Russians.
Purpose: To investigate the association between orofacial (TDof) and limb-truncal dyskinesias (TDlt) and Ser9Gly (DRD3), -1438C>A (HTR2A), and Cys23Ser (HTR2C) polymorphisms in Russian psychiatric inpatients from Tomsk, Siberia.
Methods: In total, 146 subjects were included. Standard protocols were applied for genotyping. TDof and TDlt were assessed with AIMS items 1–4 and 5–7, respectively. Two-part model, logistic and log-normal regression analyses were applied to assess different variables (e.g., allele-carrier status, age, gender, and medication use).
Results: TDlt, but not TDof, exhibited an association with Ser9Gly and Cys23Ser (with 9Gly and 23Ser alleles exhibiting opposite effects). However, -1438C>A was not associated with TDof and Dlt.
Conclusions: This is the first pharmacogenetic report on tardive dyskinesia in Russians. Subject to further replication, our findings extend and support the available data.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Tardive dyskinesia (TD) is a potentially irreversible antipsychotic-induced movement disorder with a prevalence of about 20–30% in psychiatric patients chronically exposed to antipsychotics. Older age, female gender, race, and family history are several risk factors for the development of TD (Glazer, 2000; Kane et al., 1988; Müller et al., 2001; Rosengarten et al., 1994; Wonodi et al., 2004).

Abbreviations: AIMS, Abnormal Involuntary Movement Scale; CPZeq, chlorpromazine equivalents; DRD3, Dopamine D₃; HTR2A, Serotonin 2_A receptor; HTR2C, Serotonin 2_C receptor; HWE, Hardy-Weinberg Equilibrium; ICD-10, International Classification of Diseases-10 (ICD-10); LNR, log-normal regression; LR, logistic regression; n, number; p, probability; TD, tardive dyskinesia; TDof, orofacial dyskinesia; TDlt, limb-truncal dyskinesia; TDtrunc, orofacial and/or limb-truncal dyskinesia; TPM, two-part model.

* Corresponding author. University of Groningen (RuG), Pharmacotherapy and Pharmaceutical Care, Antonius Deusinglaan 1, 9713 AV Groningen, The Netherlands. Tel.: +31 50 363 32 61; fax: +31 61 545 23 45 (GSM); fax: +31 50 363 27 72. E-mail address: a.f.y.alhadithy@rug.nl (A.F.Y. Al Hadithy).

0278-5846/\$ – see front matter © 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.
 doi:10.1016/j.pnpbp.2009.01.010

Phenotypically, TD can be dissected into two distinct sub-syndromes; orofacial (TDof) and limb-truncal dyskinesias (TDlt). TDof involves movements of mouth and face muscles and may impair eating and swallowing, whereas TDlt involves purposeless choreiform movements of trunk and/or limbs and may cause gait disturbances and falls.

Accumulating evidence suggests that TDof and TDlt are two distinct clinical entities with different clinical features, different risk factors, different prognosis, and probably even different genetic liability (Gureje, 1983, 1989; Inada et al., 1990; Paulsen et al., 1996; Waddington et al., 1987; Willfert et al., in press).

Dopamine D₃, serotonin 2_A, and 2_C receptors (encoded by DRD3, HTR2A, and HTR2C genes, respectively) are involved, at least partially, in the therapeutic and adverse effects of antipsychotics and genetic variations in these receptors may affect the individual sensitivity to TD (Reynolds, 2004). Several studies suggest, for example, that Ser9Gly polymorphism of DRD3 gene may be associated with TD in humans (Bakker et al., 2005; Lerer et al., 2005; Willfert et al., in press) and even in non-human primates (Vérge et al., 2003). Furthermore, accumulating evidence suggests that HTR2A and HTR2C genes may be

HUMAN PSYCHOPHARMACOLOGY

Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp. 2010; 25: 84–91.
 Published online in Wiley InterScience
 (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/hup.1087

Missense polymorphisms in three oxidative-stress enzymes (GSTP1, SOD2, and GPX1) and dyskinesias in Russian psychiatric inpatients from Siberia

A. F. Y. Al Hadithy^{1,2,3*}, S. A. Ivanova⁴, P. Pechlivanoglou⁵, B. Willfert², A. Semke⁴, O. Fedorenko⁴, E. Kornetova⁴, L. Ryadovaya⁴, J. R. B. J. Brouwers² and A. J. M. Loonen^{2,6}

¹ Erasmus University Medical Center, Hospital Pharmacy, Rotterdam, the Netherlands
² Department of Pharmacotherapy and Pharmaceutical Care, University of Groningen, Groningen, the Netherlands
³ Department of Psychiatry, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands
⁴ Mental Health Research Institute, Tomsk, Russian Federation
⁵ Department of Pharmacogenetics and Pharmacoeconomics, University of Groningen, Groningen, the Netherlands
⁶ GGZ Westelijk Noord-Brabant, Bergen op Zoom, the Netherlands

Neuronal degeneration due to oxidative stress (OS) has been proposed as a mechanism for tardive dyskinesia (TD) pathogenesis. Cellular defense mechanisms against OS may involve detoxification enzymes (e.g., glutathione peroxidase-1, GPX1; superoxide dismutase-2, SOD2 [also commonly known as MnSOD]; and glutathione S-transferase P1, GSTP1). Several pharmacogenetic studies have examined TD and OS in different ethnic groups, but not in Russians. Here we report the association between orofacial (TDof) and limb-truncal dyskinesias (TDlt) and polymorphisms of GSTP1 (Ile105Val), MnSOD (Ala-9Val), and GPX1 (Pro197Leu) genes in 146 Russian inpatients from Siberia. We applied AIMS instrument to rate dyskinesias. Two-part model analyses, logistic and multivariate parametric regressions were applied to assess the effects of different variables (e.g., genotype, age, gender, and medication use). Our analyses do not suggest that Pro197Leu (GPX1) is associated with TD. However, our analyses suggest that the 105Val allele of Ile105Val (GSTP1) may be associated with a lower risk and a severity of TDof and TDlt and that Ile105Val pharmacogenetics may be different in Slavonic Caucasians than that in American Caucasians. Furthermore, we find evidence for an association between Ala-9Val (MnSOD) and TDof, but not TDlt. Subject to further replication, our findings extend the available knowledge on the pharmacogenetics of TD and oxidative stress. Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

KEY WORDS — tardive dyskinesia; pharmacogenetics; oxidative stress; GSTP1; SOD2; MnSOD; GPX1

INTRODUCTION

Free radicals are highly reactive oxidative species (ROS) in biological systems. When controlled, their production is important for cells, since it allows for the extraction of usable energy for metabolism and aids in dismantling macromolecules (e.g., proteins and lipids) into their more basic components (Lohr et al., 2003). However, when uncontrolled, their overproduction (oxidative stress) may cause cell damage and death through lipid peroxidation cascade; a chain reaction where errant ROS react with polyunsaturated fatty acids and compromise cell membrane structures.

* Correspondence to: A. F. Y. Al Hadithy, Erasmus University Medical Center, Hospital Pharmacy, P.O. Box 2040, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands. Tel.: +31 10 703 32 02. Fax: +31 10 703 24 00. E-mail: a.alhadithy@erasmusmc.nl

Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

Oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of diverse psychiatric disorders, including schizophrenia (Ng et al., 2008). A recent literature review (Ng et al., 2008) suggests that the evidence behind oxidative stress mechanisms in schizophrenia can be grouped into three categories: first, those studies that illustrate disturbed oxidative homeostasis (e.g., evidence for glutathione depletion and lipid peroxidation); second, those demonstrating antioxidant mechanisms of antipsychotic drugs (e.g., a differential impact on oxidative stress status may exist between typical and atypical antipsychotic medications and higher levels of lipid peroxidation products have been reported in patients treated with typical than atypical drugs); third, those showing benefits from antioxidant therapies (e.g., supplementation studies with vitamins C and E, and N-acetylcysteine). Furthermore, evidence from genetic studies support the involvement of oxidative-stress disturbances in the schizophrenia

Received 22 October 2008
 Accepted 4 November 2009

Фармакогенотипы и лекарственно-индуцированные двигательные расстройства (часть II)

Проведено обследование 431 пациентов, страдающих шизофренией и получающих длительную антипсихотическую терапию и проходивших курс терапии в следующих центрах:

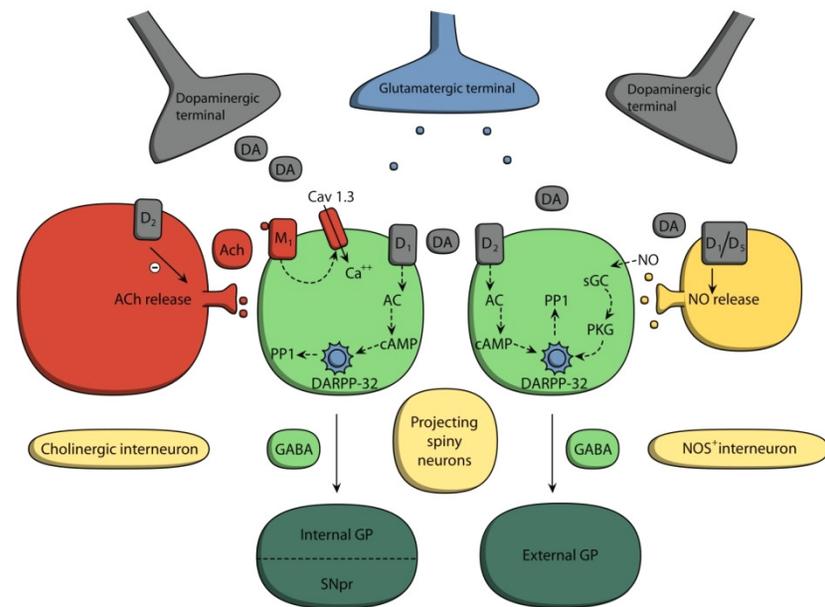
- НИИПЗ СО РАМН;
- Кемеровской клинической психиатрической больницы;
- Читинской государственной медицинской академии

и 143 пациента с экстрапирамидными двигательными расстройствами (из них 101 пациент с болезнью Паркинсона) – кафедра неврологии и нейрохирургии Сибирского государственного медицинского университета (Томск).

Теоретические предпосылки

Болезнь Гантингтона

- Huntingtin abnormality
- Damage of indirect pathway
- Neurotoxicity of MSN
- Variants of NMDA receptor correlate with age of onset
 - (GRIN2A → receptor protein)
- Может быть объяснено увеличением чувствительности к эксайтотоксичности



Методы

- Выделение ДНК и генотипирование по технологии Veracode (ILLUMINA) были проведены по стандартным протоколам.
- 48 tagging SNPs в 8 генах были изучены:
 - 15 *GRIN2A* и 9 *GRIN2B*
 - 10 *DRD3*, 8 *HTR2C*, *DRD4*, 3 *HSPG2*,
 - *MnSOD*, *NQO1*
- Данные были статистически проанализированы независимо двумя биостатистиками (Petros Pechlivanoglou and Maxim Freidin).

Результаты

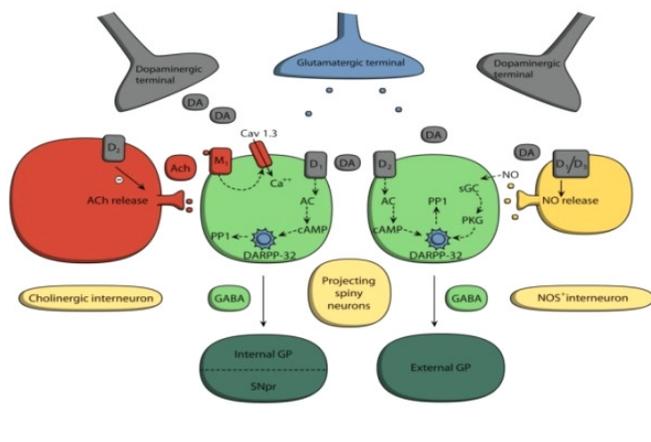
SNP	Model	Genotp	Number of patients (prevalence, %)		OR [95% CI]	P-value
			No TD	Yes TD		
LID <i>rs11646587</i> (<i>GRIN2A</i>) <i>rs7192557</i> (<i>GRIN2A</i>) <i>rs8057394</i> (<i>GRIN2A</i>)	Log-additive Dominant	-	-	-	0.48 [0.24-0.95]	0.02860
		G/G	26 (40.6)	22 (61.1)	0.40 [0.17-0.94]	0.03259
	Log-additive Dominant	A/G-A/A	38 (59.4)	14 (38.9)		
		-	-	-	2.54 [1.21-5.33]	0.011204
	Log-additive Dominant	G/G	43 (67.2)	14 (38.9)	3.21 [1.37-7.51]	0.006214
		A/G-A/A	21 (32.8)	22 (66.1)		
Log-additive Dominant	-	-	-	2.15 [1.18-3.92]	0.010573	
	C/C	37 (57.8)	10 (27.8)	3.59 [1.48-8.71]	0.003285	
C/G-G/G		27 (42.2)	26 (72.2)			
TD <i>rs2192970</i> (<i>GRIN2B</i>) <i>rs1345423</i> (<i>GRIN2A</i>)	Log-additive Overdominant	-	-	-	1.59 [1.05-2.41]	0.029951
		G/G-A/A	225 (75.3)	71 (59.7)	1.93 [1.22-3.06]	0.005411
	Log-additive Recessive	A/G	74 (24.7)	48 (40.3)		
		-	-	-	0.65 [0.46-0.90]	0.009077
	Log-additive Recessive	A/A-A/C	255 (84.2)	111 (91.7)	0.42 [0.20-0.89]	0.015210
		C/C	48 (15.8)	10 (8.3)		

Выявлены особенности механизмов возникновения дискинезий у больных с психическими и неврологическими расстройствами, которые связаны с нарушениями в функционировании экстрапирамидных путей и NMDA рецепторно-индуцированной эксайтотоксичности.

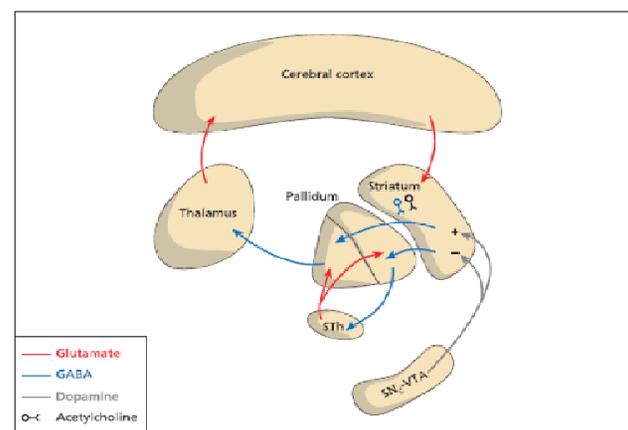
Показаны ассоциации генетических полиморфизмов субъединиц GRIN2A NMDA-рецепторов с леводопа-индуцированными дискинезиями при болезни Паркинсона и тардивной дискинезией у больных шизофренией на фоне антипсихотической терапии.

Результаты могут служить основой для разработки технологии прогнозирования риска развития дискинезий в рамках концепции персонализированной терапии.

Схема нейротрансмиссии по прямому пути (справа) и непрямоу пути (слева) medium spiny нейронов (MSN)



Схемы функционирования прямого и непрямого пути экстрапирамидного круга



Ivanova S.A., Loonen A.J. M., Pechlivanoglou P., Freidin M.B., Al Hadithy A.F.Y., Rudikov E.V., Zhukova I.A., Govorin N.V., Sorokina V.A., Fedorenko O.Y., Alifirova V.M., Semke A.V., Brouwers J.R.B.J. and Wilffert B. NMDA receptor genotypes associated with the vulnerability to develop dyskinesia // Translational Psychiatry. – 2012. – №2(e67). (www.nature.com/tp)

Anton J. M. Loonen, and Svetlana A. Ivanova New insights into the mechanism of drug-induced dyskinesia // CNS Spectrums – 2013 – Volume 18 – Issue 01 – pp 15-20

Участники исследования по тардивной дискинезии

Mental Health Research Institute (Tomsk):

S. Ivanova, A. Semke, O Fedorenko, E. Kornetova, L.Ryadovaya, E. Rudikov

Siberian State Medical University (Tomsk):

Irina A. Zhukova, Valentina M. Alifirova

Research Institute for Medical Genetics (Tomsk):

Maxim Freidin

Chita State Medical Academy, (Chita):

Nikolay Govorin

Kemerovo Regional Clinical Psychiatric Hospital (Kemerovo):

Veronika Sorokina,

The Netherlands :

AJM Loonen. AFY Al Hadithy,

P Pechlivanoglou,

JRBJ Brouwers,

B. Wilffert,

R Bruggeman,

- Pharmacotherapy and Pharmaceutical Care, GUIDE, University of Groningen, Groningen, the Netherlands (NL)

- Clinical Pharmacy and Pharmacology, Zorggroep Noorderbreedte and De Tjongerschans, Leeuwarden, NL

- Department of Clinical Pharmacology, University Medical Center Groningen, Groningen, NL

- Department of Psychiatry, University Medical Center Groningen, Groningen, NL

- Groningen Research Institute of Pharmacy (GRIP), University of Groningen, Groningen, NL;



Laboratorium voor de
Volksgezondheid in
Friesland



**Благодарю
за внимание!**