

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ SERT И TPH2 С ПОБОЧНЫМИ ЭФФЕКТАМИ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ТОПИРАМАТОМ С УЧЕТОМ ГЕНДЕРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Чуканова А.С.¹, Тушканов М.А.², Барский В.И.², Граждан И.К.⁴,
Крикова Е.В.³, Аксенова М.Г.², Бурд С.Г.¹, Гусев Е.И.¹

¹ Кафедра неврологии и нейрохирургии ГОУ ВПО РГМУ Росздрава им. Н.И. Пирогова

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

³ Научный центр психического здоровья РАМН, лаб. клинической генетики

⁴ ГОУ ВПО Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И.М. Сеченова

Резюме: проведена клиничко-генетическая оценка роли SNP полиморфизмов генов SERT и TPH2 в развитии побочных эффектов на фоне терапии топираматом и с учетом гендерных особенностей. Обнаружены достоверные различия в выраженности побочных эффектов топирамата со стороны нервной системы и психоэмоциональной сферы в группах пациентов с различными аллельными вариантами, а также определены гендерные различия в отношении развития депрессии и эмоциональной лабильности.

Ключевые слова: фармакогенетика эпилепсии, побочных эффектов топирамата, ген SERT, ген TPH2

Наряду с прогрессом в области клинической медицины XX век ознаменовался развитием фармакогенетики – нового направления науки, объединившего генетику и фармакологию, и параллельным становлением персонализированной медицины во многих областях клинической практики. Так, генетическая диагностика позволяет с определенной долей вероятности предсказать развитие нежелательных явлений на фоне терапии конкретным препаратом, подобрать наиболее эффективное лекарственное средство и скорректировать его дозу. Таким образом, активные исследования в области фармакогенетики, а также поиск новых генов, участвующих в терапевтическом ответе, представляется актуальной задачей современной медицины.

Несмотря на то, что топирамат уже достаточно давно используется во всем мире (в Великобритании для лечения эпилепсии применяется с 1995 г., в США – с 1996 г., в Германии – с 1998 г.), многие его побоч-

ные эффекты остаются спорными, а биохимические механизмы их развития не до конца изученными. Кроме того, накапливаются свидетельства того, что структура нежелательных явлений на фоне приема топирамата может различаться у мужчин и женщин, однако доказательная база для подобных утверждений еще недостаточна. Нами была поставлена задача установить гены-кандидаты и полиморфизмы, ответственные за развитие побочных эффектов на фоне терапии топираматом с учетом гендерных особенностей.

Материалы и методы

В соответствии с целями и задачами исследования было обследовано 113 (51 мужчина и 62 женщины) пациентов с различными клиническими формами эпилепсии, принимающих топирамат в режиме монотерапии более 1 года.

Всем больным для верификации диагноза проводилось клиническое неврологическое обследование, электроэнцефалографическое обследование, КТ или МРТ. Средний возраст пациентов составил 44,45 лет, средняя длительность заболевания – 7,8 года. Симптоматическая фокальная эпилепсия (СФЭ) была диагностирована у 39 пациентов (34,5%) и являлась последствием структурной патологии головного мозга, идиопатическая генерализованная эпилепсия (ИГЭ) – у 16 (14,2%), криптогенная фокальная эпилепсия – парциальная эпилепсия при отсутствии структурной патологии головного мозга (КФЭ) – у 58 больных (51,3%).

В исследование включались только пациенты, принимающие противосудорожный препарат топирамат в режиме монотерапии с разбросом доз от 50 до 500 мг в сутки при эффективном терапевтиче-

Локус	Последовательность 5'→3'	T отжига [C]	Длина ПЦР продукта
SERT, 5'-HTTLPR	GAGGGACTGAGCTGGACAACCAC GGCGTTGCCGCTCTGAATGC	68	528 п.о. – длинный (L-long) аллель 485 п.о. – короткий (S-short) аллель
TPH2	GCATAGAGGCATCACAGGA AAGCTTTTCTGACTTGACAAAT	58	Аллель 703 Т-113п.о. Аллель 703G-режется на фрагменты 91 и 22 п.о. AclI(ApoI) Сибэнзим

Таблица 1. Последовательности праймеров и параметры ПЦР полиморфного маркера гена SERT.

ском ответе на принимаемую терапию, т.е. урежением приступов не меньше, чем на 50%. Еще одним критерием включения в исследование было отсутствие выраженной соматической патологии – онкологической патологии и метаболических нарушений, декомпенсации или субкомпенсации соматических заболеваний.

Клинические методы исследования

Больным проводилось клиничко-неврологическое, психоневрологическое обследование, а также лабораторные, нейрофизиологические и генетические методы исследования с фиксацией данных в формализованной истории болезни (протокол ведения больных), где также отражались все данные клинических, генетических, инструментальных и лабораторных методов исследования.

Клиничко-неврологический метод исследования включал подробный сбор анамнеза, тщательное выяснение характера и частоты эпилептических приступов, особенностей постиктального и интериктального периодов, динамики развития заболевания, длительности и эффективности консервативной терапии, детальный анализ соматического и неврологического статуса. Проведен тщательный опрос пациентов для выявления побочных эффектов на фоне приема топирамата с идентификацией степени их выраженности по 4-х балльной шкале. Больным проводилось анкетирование для выявления побочных эффектов (несистемное головокружение, нарушения координации, нарушения зрения и речи, двоение в глазах, эмоциональная лабильность, агрессивность, нервозность, двигательное возбуждение, появление чувства усталости, парестезий, двигательной заторможенности, нарушения концентрации внимания, сонливость, нечеткость мышления, возникновение депрессии, суицидальных мыслей, галлюцинаций). При анкетировании учитывались лишь те жалобы, которые возникли непосредственно на фоне назначения топирамата, либо после достижения определенной дозировки препарата, т.е. исключительно, как побочные эффекты топирамата.

Диагноз «депрессия» устанавливался согласно критериям DSM-IV-TR. Больным проводилось тестирование психозомоционального статуса с использованием Шкалы депрессии Гамильтона (Hamilton Depression Rating Scale – HDRS) (Белова А.Н., Щепетова О.Н. 2002).

Группой сравнения для анализа побочных эффек-

тов были взяты больные с диагностированной эпилепсией. Группа сравнения состояла из 71 человека на эффективной монотерапии вальпроатами (Депакин-хроно) при приеме суточной дозировки от 600 до 1750 мг/сутки (средняя дозировка составила 1100 мг/сутки). Тяжесть и длительность заболевания, распределение типов и количества приступов были сопоставимы с группой пациентов получавших топирамат.

Метод выделения ДНК

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенолхлороформной экстракции с использованием протеиназы К.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

В настоящей работе ПЦР проводили на ПЦР-Амплификаторе «Терцик-2» (ДНК-Технология, РФ) по программе:

- 1) предварительная денатурация при 94°C – 4 мин.,
- 2) 35 циклов, состоящих из:
 - а) денатурация при 94°C – 20 сек.,
 - б) отжиг праймеров при $T_{отж}$ – 20 сек.,
 - в) синтез продукта при 72°C – 10 сек.
- 3) заключительный синтез при 72°C – 30 сек.

Разделение продуктов амплификации и продуктов рестрикции ампликонов проводили в горизонтальном 3% агарозном геле.

Статистические методы обработки материала

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc, США), использовали TTEST и FTEST с поправкой по Бонферони.

Результаты и обсуждение

Анализ выявленных побочных эффектов при эффективной терапии топираматом выявил наиболее часто встречающиеся жалобы, к которым относились жалобы на возникновение несистемного головокружения, головной боли, нарушений координации движений, нарушения зрения (трудность фиксации, двоение перед глазами), парестезий, а также появление эмоциональной лабильности, агрессии, двигательного возбуждения либо двигательной заторможенности, «нервозности», усталости, сонливости, нарушений концентрации внимания, «нечеткости мыслей», депрессии, суицидальных мыслей и галлюцинаций (см. рисунок 1).

На рисунке 1 видно, что степень выраженности отмеченных побочных эффектов была весьма разноо-

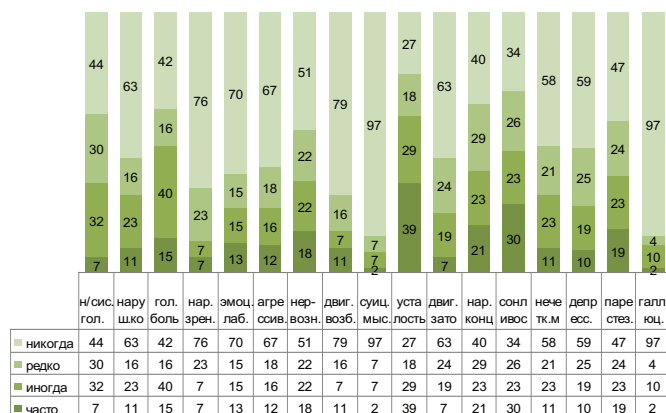


Рисунок 1. Структура возникших побочных эффектов со стороны нервной системы и психо-эмоциональной сферы на фоне терапии топамикусом в абсолютных величинах.

бразной с преобладанием легкой и средней степени выраженности. Наиболее тяжелые по степени выраженности проявления были зафиксированы по таким побочным эффектам, как появление чувства усталости – у 39 пациентов (34,5%), сонливости – 30 больных (26,5%), нарушений концентрации внимания – 21 (18,6%), возникновение головных болей – у 15 (13,3%), эмоциональной лабильности (нервозности) – 13-15 (11,5-13,3%), возникновение парестезий – у 19 пациентов (16,8%).

При сравнении средних величин выраженности побочных эффектов у мужчин и женщин, статистически достоверная разница ($p < 0,005$) была выявлена по показателям депрессии, преобладавшей у женщин, тогда как эмоциональная лабильность и сонливость достоверно чаще наблюдалась у мужчин (см. рисунок 2).

Структура клинических побочных эффектов у 62 женщин, вошедших в данное исследование представлена на рисунке 3.

Структура клинических побочных эффектов у 52 мужчин, участвующих в настоящем исследовании, показана на рисунке 4.

При проведении статистического сравнительного

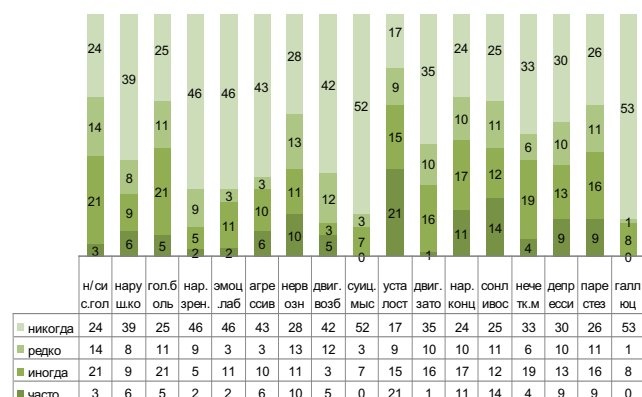


Рисунок 3. Структура жалоб у женщин на фоне терапии топираматом.

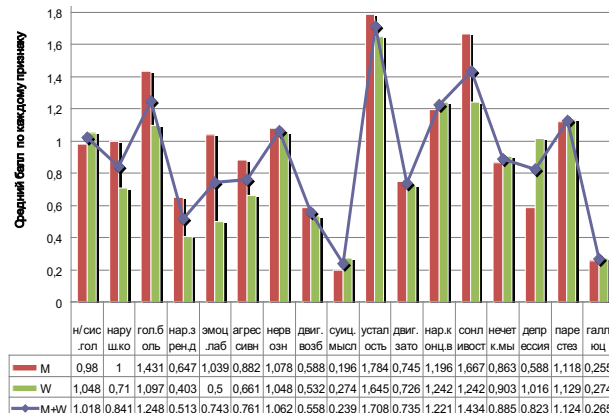


Рисунок 2. Сравнение средних показателей распространенности побочных эффектов в группе мужчин и женщин.

анализа побочных эффектов у мужчин и женщин с помощью Z-теста, T-теста и статистическим методом по Фишеру, были выявлены статистически значимые различия у женщин по отношению к общей когорте по таким клиническим побочным эффектам топирамата как: нарушение координации (T-тест=0,0026), головная боль (T-тест=0,001), эмоциональная лабильность (T-тест=0,004), агрессивность (T-тест=0,003), «внутреннего ощущения постоянной нервозности» (T-тест=0,0009), двигательная заторможенность (T-тест=0,0006), двигательное возбуждение (T-тест=0,006), усталость (T-тест=0,0006), сонливость (T-тест=0,0005), нарушение концентрации внимания (T-тест=0,0005), депрессии (T-тест=0,00014, Z-тест=0,038) и парестезии (T-тест=0,0006).

Подтвердилась статистически достоверная разница при сравнении групп мужчин и женщин по возникновению эмоциональной лабильности (T-тест=0,0046, по методу Фишера=0,03) и депрессии (T-тест=0,0065, по методу Фишера=0,0099).

При сравнении мужчин и общей группы исследуемых были выявлены статистически значимые различия только по депрессии (по Фишеру=0,04, Z-тест=0,025).

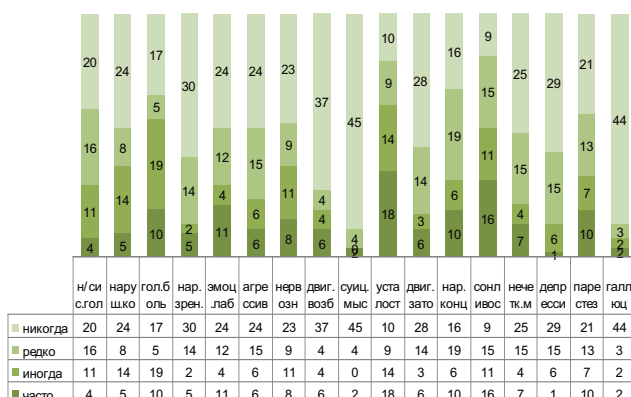


Рисунок 4. Структура жалоб у мужчин на фоне приема топирамата.

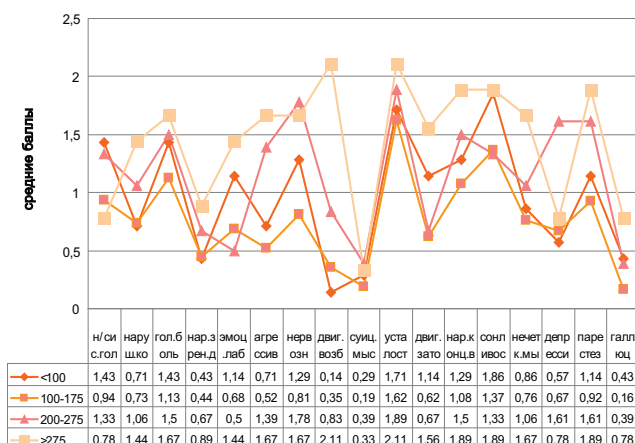


Рисунок 5. Среднее значение побочных эффектов в зависимости от дозы топирамата.

При разделении пациентов по диагнозам статистически значимых различий по клиническим побочным эффектам топирамата не выявлено.

Для оценки корреляции ПЭ и дозы принимаемого препарата диапазон доз топамакса был разделен на 4 интервала (меньше 100, 100-175, 200-275, больше 275 мг в сутки). Каждая отдельная группа сравнивалась с оставшейся выборкой с помощью Т-теста и F-теста (Рисунок 5). Достоверно значимые различия были выявлены по следующим побочным эффектам: нарушение зрения в группах 100-175 (F-тест=0,01), 200-275 (F-тест=0,04) и больше 275 мг/сутки (F-тест=0,0438); агрессивность на дозировках 100-175 (Т-тест=0, F-тест=0), 200-275 мг/сутки (Т-тест=0,03, F-тест=0,04), больше 275 (Т-тест=0,04); нервность 100-175 мг/сутки (Т-тест=0), 200-275 мг/сутки (Т-тест=0,01); двигательное возбуждение в группе < 100 мг/сутки (Т-тест=0,02, F-тест=0,02), 100-175 мг/сутки (Т-тест=0,01, F-тест=0), больше 275 мг/сутки (Т-тест=0, F-тест=0,049); суицидальные мысли при дозировках 100-175 мг/сутки (F-тест=0), 200-275 мг/сутки (F-тест=0,01), больше 275 мг/сутки (F-тест=0,02); двигательная заторможенность на дозировках 100-175 мг/сутки (F-тест=0,02), больше 275 мг/сутки (F-тест=0,023); депрессия в группах 100-175 мг/сутки (Т-тест=0,02), 200-275 мг/сутки (Т-тест=0); возникновение парестезий при дозировках 100-175 мг/сутки (Т-тест=0,01), 200-275 мг/сутки (Т-тест=0,04), галлюцинации — на дозировках 100-175 мг/сутки (F-тест=0), 200-275 мг/сутки (F-тест=0,04).

Группой сравнения для анализа побочных эффектов на фоне лечения топираматом были взяты больные с диагностированной эпилепсией. Группа состояла из 71 человек на эффективной монотерапии вальпроатами (Депакин-хроно) при приеме суточной дозировки от 600 до 1750 мг/сутки (средняя доза составила 1100 мг/сутки). Тяжесть и длительность заболевания, распределение типов и количества приступов были сопоставимы с группой пациентов полу-

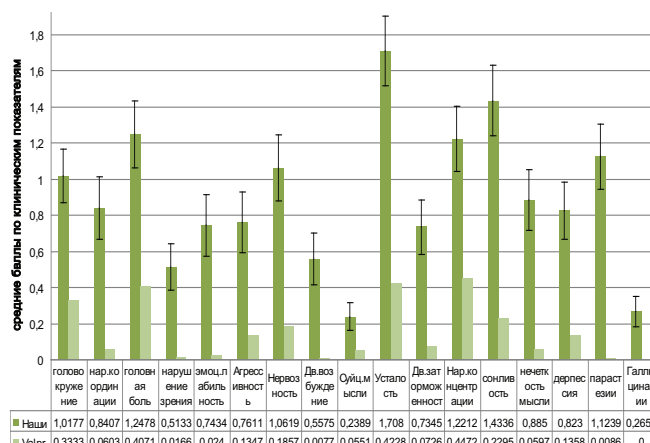


Рисунок 6. Сравнение средних показателей ПЭ между вальпроатами и топираматом.

чавших топирамат. На диаграмме 6 представлено сравнение средних значений клинических побочных эффектов двух групп: пациентов, принимающих топирамат и пациентов, принимающих препарат вальпрооевой кислоты.

Как видно из рисунка 6, статистически достоверные различия были выявлены по всем исследуемым параметрам. Наиболее выраженные отличия отмечались по частоте возникновения нарушений координации — средний балл на топирамате составил 0,84, на приеме препаратов вальпрооевой кислоты — 0,06 ($p=0,05$), возникновение несистемного головокружения — 1,02 и 0,33 ($p=0,05$), соответственно, среднее значение возникновений нарушений зрения (трудности фиксации взгляда, двоение перед глазами) на топирамате 0,5 и на вальпрооевой кислоте 0,01 ($p=0,05$), парестезий — 1,12 и 0,01 ($p=0,05$), соответственно.

Со стороны психо-эмоционального статуса ПЭ распределились следующим образом: возникновение эмоциональной лабильности — 0,74 и 0,02 ($p=0,05$), развитие головной боли составила соответственно 1,25 и 0,41 ($p=0,05$), жалобы на постоянно беспокоящую пациентов «нервность» 1,0 и 0,18 ($p=0,05$), чувство усталости и сонливости 1,7/1,43 и 0,4/ 0,2 соответственно ($p=0,05$), нарушение концентрации внимания 1,22 и 0,45 ($p=0,05$), «нечеткость мышления» 0,88 и 0,13 ($p=0,05$), жалобы на появление агрессивности — 0,76 и 0,13 ($p=0,05$), соответственно, двигательное возбуждение 0,56 и 0,0077 ($p=0,05$), двигательная заторможенность 0,73 и 0,072 ($p=0,05$), суицидальные мысли 0,24 и 0,05 ($p=0,05$), депрессия 0,82 и 0,13 ($p=0,05$), соответственно. Возникновения галлюцинаций на фоне приема вальпрооевой кислоты зафиксировано не было, при приеме топирамата — 0,27 ($p=0,05$). Таким образом, можно говорить о том, что все исследуемые НЯ на фоне терапии топираматом специфичны конкретно для данного препарата.

Анализ ассоциации полиморфизма гена SERT с развитием побочных эффектов со стороны нервной системы и психоэмоциональной сферы

При выборе генов кандидатов мы руководствовались принципом, согласно которому та или иная психо-социальная реакция индивида в значительной степени определяется балансом нейромедиаторных систем головного мозга. Кроме того, мы также постарались сгруппировать отмеченные ПЭ для определения возможных общих механизмов их развития. Согласно нашему исследованию одной из наиболее часто встречающихся жалоб на фоне приема топирамата (особенно это характерно для женщин) является депрессия, тогда как у мужчин – психоэмоциональная лабильность. Кроме того, в первой пятерке НЯ также фигурируют агрессивность, сонливость, суицидальные мысли, галлюцинации и головная боль. Исходя из существующих данных о серотонинергической природе большинства из перечисленных выше эффектов, нами было выдвинуто предположение, что ген SERT, в частности, полиморфизм 5HTTLPR гена SERT может быть ассоциирован с развитием данных ПЭ.

Общая исследуемая группа по генотипам разделилась следующим образом: LL генотип был выявлен у 36 пациентов, SL – у 64, и SS – у 11 исследуемых. По средним суточным дозам наблюдалось следующее распределение: LL генотип – 147 мг/сутки, SL генотип – 148 мг/сутки, у SS генотипа – 118 мг/сутки. Средний возраст в группе с LL генотипом составил 45,2; с SL – 38,9; с SS – 33,6 лет.

Распределение ПЭ в зависимости от аллельного варианта гена SERT представлено на рисунке 7. У пациентов с LL генотипом в большинстве случаев с максимальными показателями были следующие нежелательные эффекты: нарушения координации (1,08), головная боль (1,61), сонливость (1,78), эмоциональная лабильность (0,83), чувство постоянной «нервности» (1,19). Особенно значимыми были различия по показателю агрессивность (1,14), двигательное возбуждение (0,81), усталость (1,92), двигательное возбуждение (0,81), усталость (1,92), двига-

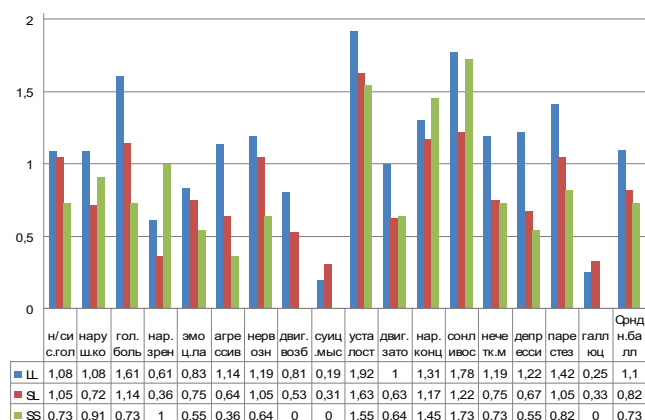


Рисунок 7. Распределение ПЭ в зависимости от аллельного варианта гена SERT.

тельная заторможенность (1), «нечеткости мышления» (1,19) и депрессия (1,22).

Из них статистически достоверные положительные корреляции с остальной выборкой выявлены по жалобам на возникновение головной боли (Т-тест=0,01, F-тест=0,01), агрессивности (Т-тест=0,01), сонливости (Т-тест=0,04) и депрессии (Т-тест=0,01).

У SS генотипа при сравнении с другими генотипами (среднее значение составило 1) максимальное количество жалоб было связано с нарушением зрения. Однако достоверные отличия относительно других генотипов были показаны только по таким параметрам, как двигательное возбуждение (Т-тест=1,5x10⁻⁸), суицидальные мысли (Т-тест=0,0001) и галлюцинации (Т-тест=0,00008). Данные побочные эффекты в этой подгруппе не отмечались.

У SL генотипа наиболее выражены отличия средних значений по двум показателям: по возникновению суицидальных мыслей (0,31) и по появлению галлюцинаций на фоне приема топирамата (0,33). При статистической обработке с помощью Т-теста и F-теста достоверные различия были выявлены по таким побочным эффектам как, головная боль (Т-тест=0,03), сонливость (Т-тест=0,02), которые были достоверно ниже, а число и выраженность возникновения суицидальных мыслей (F-тест=1,2x10⁻⁷) и галлюцинаций на фоне приема топирамата (F-тест=0,03) были достоверно выше, чем в остальных группах.

Анализ ассоциации полиморфизма гена SERT с развитием побочных эффектов у мужчин

Среди мужской выборки LL генотип был выявлен у 19 пациентов, SL – у 25, SS – у 6 человек. Средний возраст в этих группах отличался незначительно и составил: LL – 49,5 лет, SL – 42,2 года, SS – 40,7 лет. Средние дозы топирамата составили в случае генотипа LL – 142, SL – 137, SS – 125 мг/сутки.

У носителей LL генотипа наиболее частыми жалобами были нарушения координации (1,4), головная боль (1,7) двигательное возбуждение (0,7), усталость (1,9), двигательная заторможенность (1,1) и парестезии (1,3) (рисунок 8). Статистически значимые разли-

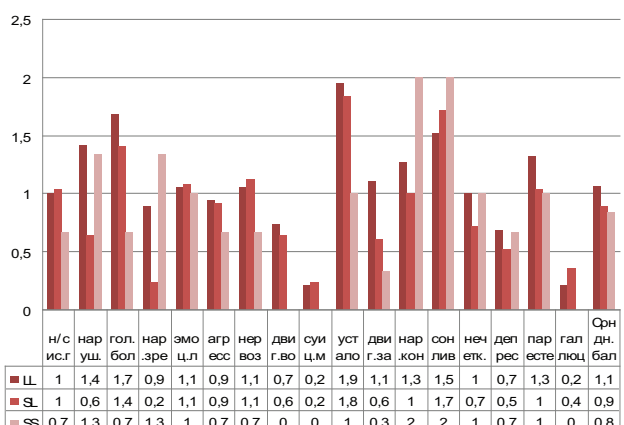


Рисунок 8. Различия средних показателей ПЭ топирамата у мужчин в зависимости от аллельного вариантами гена SERT.

чия от остальной группы по величине среднего значения было выявлено только по нарушению координации (Т-тест=0,04), которое было достоверно выше и по возникновению суицидальных мыслей (F-тест=0,01).

У носителей SS генотипа значимо реже регистрировались жалобы на двигательное возбуждение (Т-тест=0,0002), возникновение суицидальных мыслей (Т-тест=0,03) и галлюцинации (Т-тест=0,01). Однако небольшое число наблюдений (6 пациентов) делает затруднительным считать эти выводы доказанными.

В группе пациентов с SL генотипом на фоне приема топирамата достоверно низкой была частота встречаемости нарушения координации (Т-тест=0,01), нарушения зрения – диплопии, (Т-тест=0,01, F-тест=0,001) появление ощущения «нечеткости мышления» (F-тест = 0,04).

Анализ ассоциации полиморфизма гена SERT с развитием побочных эффектов у женщин

Группа женщин по полиморфизму гена SERT распределилась следующим образом: LL генотип был определен у 17 женщин, SL – у 39, SS – у 5 женщин. Средние дозировки составили: у пациентов с LL генотипом – 153 мг/сутки, с SL генотипом – 155 мг/сутки, в SS группе – 110 мг/сутки. Средний возраст в группе LL составил 40,3 года, в группе SL – 36,7 года, в SS группе – 25,2 лет. Таким образом, в каждой группе средний возраст не достигал 51 года – т.е. среднего возраста менопаузы, что существенно, так как известна корреляция уровня серотонина и эстрогена, при этом количество гормона изменяется с возрастом женщины и может влиять на интерпретацию результатов в исследовании.

Статистически достоверные отличия пациентов с генотипом LL были выше, чем в остальной группе пациентов, по возникновению головной боли на фоне приема топирамата (Т-тест=0,01, F-тест=0,01), агрессивности (Т-тест=0,01), сонливости (Т-тест=0,002), «нечеткости мышления» (Т-тест=0,03) и депрессии (Т-тест=0,0004) (рисунок 9). Достоверно ниже оказалось возникновение суицидальных мыслей (F-тест=0,01) в сравнении с пациентками с SL генотипом, тогда как у SS генотипа их зафиксировано не было.

У пациенток с SL генотипом достоверно чаще развивались суицидальные мысли (F-тест=0,0002) и ниже сонливость (Т-тест=0,002). Так же достоверно отличались от остальной группы такие показатели, как депрессия (Т-тест=0,02) и головная боль (F-тест=0,03).

У женщин с SS генотипом по сравнению с остальными группами не было зафиксировано эмоциональной лабильности (Т-тест=0,0003), агрессивности (Т-тест=0,01), двигательного возбуждения (Т-тест=0,003), суицидальных мыслей (Т-тест=0,01) и развития галлюцинаций на фоне приема топирамата (Т-тест=0,01).

Таким образом, при анализе полиморфизма гена SERT выявлено, что при терапии топамаксом возник-

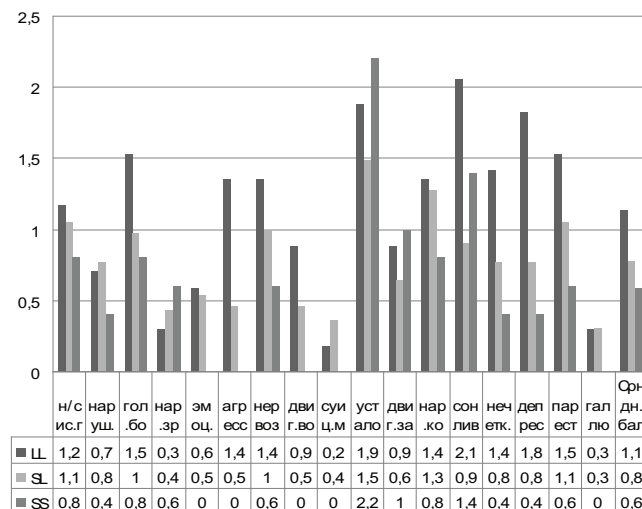


Рисунок 9. Различия средних показателей ПЭ топирамата у женщин в зависимости от аллельного вариантами гена SERT.

новение агрессии (Т-тест=0,01) и депрессии (Т-тест=0,01), а также появление жалоб на сонливость (Т-тест=0,04) и головную боль (Т-тест=0,01 и F-тест=0,01) ассоциировано с наличием генотипа LL.

Имеющийся у пациентов генотип SL гена SERT положительно коррелировал с возникновением у пациентов галлюцинаций (F-тест=0,03), суицидальных мыслей (Т-тест=1,2x10⁻⁷) и отрицательно – с возникновением сонливости и головной боли (Т-тест=0,02 и 0,03 соответственно).

В проведенном анализе статистически достоверно показано наличие отрицательной корреляции между возникновением у пациентов суицидальных мыслей (Т-тест=2x10⁻⁷), галлюцинаций (Т-тест=0,00008) и генотипом SS гена SERT, но малочисленность данной подгруппы не дает возможности делать однозначные выводы.

Дисфункция серотониновой системы приводит к агрессивному и антисоциальному поведению, как у людей, так и у животных (Virkkunen M. et al., 1994; Traskman-Bendz L. et al., 1986). Снижение количества рецепторов к серотонину или выработки серотонина в ЦНС приводит к депрессии и биполярным расстройствам (Оксфордский толковый словарь по психологии, 2002; Peroutka S., 1988). Район промотора гена SERT содержит полиморфизм, который определяют короткую (S) или длинную (L) последовательность промоторного участка. Короткий вариант содержит 14 повторов, тогда как длинный – 16. Короткий вариант приводит к снижению экспрессии и функциональной активности SERT до 2 раза по сравнению с L/L вариантом. Кроме того, 5-HTTLPR аллель ассоциирован с изменениями в структуре головного мозга. Согласно результатам Heinz A. C соавт. (2007) на добровольцах без депрессивной или тревожной симптоматики было показано, что размер амигдалы у носителей S/L и/или S/S генотипа на 25% меньше,

чем у людей с L/L вариантом, кроме того регистрировалось уменьшение серого вещества в перигенуальной передней поясной коре. В другом исследовании было показано, что у людей с S/S генотипом обнаруживается больше нейронов и больший объем в пульвинарном и лимбическом районе таламуса. Увеличение таламуса и снижение кортикального объема обеспечивает анатомические предпосылки к ответу на вопрос, почему люди, которые наследуют S/S генотип, более склонны к депрессии, посттравматическим стрессовым расстройствам и суициду (Young K, et al., 2007). Низкие концентрации метаболитов серотонина (5-гидроксииндоловая кислота) в спинномозговой жидкости были обнаружены у больных с психическими расстройствами во время приступов агрессии (Lidberg L. et al., 1985), у самоубийц (Lester D., 1995) и у людей, совершавших импульсивные убийства (Moore T. et al., 2002). Это послужило основанием для гипотезы, согласно которой торможение метаболического оборота серотонина в некоторых отделах мозга, в частности, в стволовых структурах и префронтальной коре, является одним из нейробиологических механизмов формирования суицидального поведения. На сегодняшний день серотониновая система наиболее изучена с этих позиций, и все авторы сходятся в том, что дефицит серотонинергической медиации является важным механизмом суицидального поведения.

Caspi A. с соавт. (2003) обнаружили четкую корреляцию между наличием S/S генотипа гена SERT и развитием депрессии только у тех людей, которые находятся в состоянии стресса из-за нескольких длительно травмирующих ситуаций, например, когда после потери работы у человека произошел еще и развод. В случае же, когда действовал только один стрессовый фактор и недолго, достоверной связи генотипа S/S и развитием депрессии обнаружено не было. Таким образом, носители аллельного варианта S/S гена SERT были особенно уязвимы для стрессовых событий в жизни, и влияние генетического фактора на поведение зависело от силы внешнего воздействия. Согласно некоторым авторам, данная корреляция наблюдается только у женщин (Gestel S. et al., 2002). В нашем случае само заболевание является стрессовым фактором, а с учетом его длительности и снижения качества жизни пациентов можно было ожидать ассоциацию депрессии с аллельным вариантом S/S гена SERT. Однако мы получили неожиданные результаты, согласно которым депрессия достоверно чаще проявлялась у носителей L/L аллеля на фоне приема топирамата, причем такая корреляция наблюдалась только для женщин. Полученные данные можно трактовать с нескольких позиций. Во-первых, это может означать, что депрессия, которая развивается на фоне приема топирамата, не связана с полиморфным аллелем гена SERT и существуют иные механизмы, определяющие ее возникновение. Однако можно предположить и следующий сценарий

развития событий. Одним из механизмов противоэпилептического действия топирамата является ингибирование карбоангидразы 2 и 4 типа, которые также представлены в головном мозге. Данный эффект что приводит к накоплению CO₂ в тканях мозга и снижению pH. Согласно литературным источникам серотониновые рецепторы, расположенные по средней линии ядра шва, также участвуют в регуляции дыхания и чувствительны к концентрации CO₂ (Matthew J. Gdovin, et al., 2010). При этом наблюдается дифференцированная реакция различных типов серотониновых рецепторов, так как в зависимости от их типа они могут обладать возбуждающей или тормозящей функцией: 5-HT_{1A} рецептор – пресинаптический ауторецептор, ингибирующий серотонинергические нейроны, тогда как 5-HT₂, 5-HT₄, 5-HT₆ и 5-HT₇ рецепторы – возбуждающие. Роль 5-HT_{1A} рецептора неоднократно исследовалась в регуляции дыхания и, согласно принятой на сегодняшний день концепции, 5-HT_{1A} рецептор играет одну из ключевых ролей в контроле уровня CO₂ в тканях головного мозга. Соответственно, в результате ингибирования карбоангидразы и повышения уровня CO₂ в головном мозге происходит активация 5-HT_{1A} рецептора с последующим ингибированием выброса серотонина. При этом в случае пониженной экспрессии и активности SERT серотонин дольше остается в синаптической щели и физиологически уровень тревожности и носителей S/S генотипа понижен. Однако важно отметить, что в случае ингибирования выброса серотонина его концентрация в синаптической щели все равно уступает нормальной, что выражается в том, что депрессия в нашем исследовании регистрировалась во всех группах, вне зависимости от генотипа. При наличии L/L аллеля серотонин активно захватывается обратным транспортером и, таким образом, его количество в синаптической щели падает еще ниже, что клинически выражается в более тяжелой депрессивной симптоматике у пациентов с данным генотипом. Тот факт, что наибольшее количество жалоб на депрессию было получено от женщин, согласуется с данными литературы о большей корреляции генотипа SERT и физиологической реакции на стресс в женской популяции по сравнению с мужской группой. Также подтвердилась тенденция к развитию большей эмоциональной лабильности у мужчин, описанная многими авторами. При этом, если принять за гипотезу объяснение возникновения ПЭ со стороны ЦНС за счет непрямого эффекта карбоангидразы, то тем же механизмом можно объяснить и более высокую агрессивность, усталость, головную боль и нечеткость мышления (торможение мыслительной активности) в группе LL (рисунок 7). Интересно отметить, что исходя из анализа структуры и частоты развития ПЭ со стороны ЦНС (рисунок 1) усталость, отмеченная как одна из наиболее частых жалоб на фоне терапии топираматом (34,5%), и головная боль (13,3%, серотонинергическая теория развития мигрени) до-

статочко сильно коррелировали с наличием аллельного варианта гена SERT. В отношении нарушения концентрации внимания (18,6%) было показано незначительное увеличение жалоб в группах с LL генотипом vs SL, однако более высокий показатель в группе SS, а также комплексный вклад серотонинергической, ацетилхолинергической и ГАМКергических систем в процессы формирования памяти и обучения не позволяют сделать однозначного вывода о непосредственном вкладе полиморфизма SERT в данный побочный эффект.

В тоже время, гипотеза об активной роли карбоангидразы в развитии побочных эффектов со стороны ЦНС не объясняет более частые жалобы на сонливость в группе L/L, а не в группе S/L, двигательное возбуждение и торможение, а также повышение суицидальных мыслей в группе S/L. Однако общее количество жалоб на появление суицидальных мыслей у мужчин и женщин (рисунки 3 и 4) на фоне терапии топирамата явно недостаточно для однозначных выводов.

Регистрируемая на фоне приема топирамата диплопия обусловлена тем, что в результате угнетения карбоангидразы цилиарного тела уменьшается секреция водянистой влаги и снижается внутриглазное давление, что не характерно для вальпроатов (рисунок 6). Парестезии, диагностируемые у 16,8% пациентов, являются прямым следствием ингибирования карбоангидразы.

Анализ ассоциации полиморфизма гена TRN2 с развитием побочных эффектов со стороны нервной системы и психоэмоциональной сферы

В качестве гена-кандидата, полиморфизм которого, может обуславливать проявление ряда ПЭ со стороны нервной системы и психоэмоциональной сферы был выбран ген, кодирующий Триптофангидроксилазу (TRN). TRN2 представляет собой фермент, регулирующий (ингибирующий) синтез серотонина, полиморфизм которого (G703-T) ассоциирован с появлением суицидальных мыслей, а также агрессивного поведения. Общая исследуемая группа по генотипам

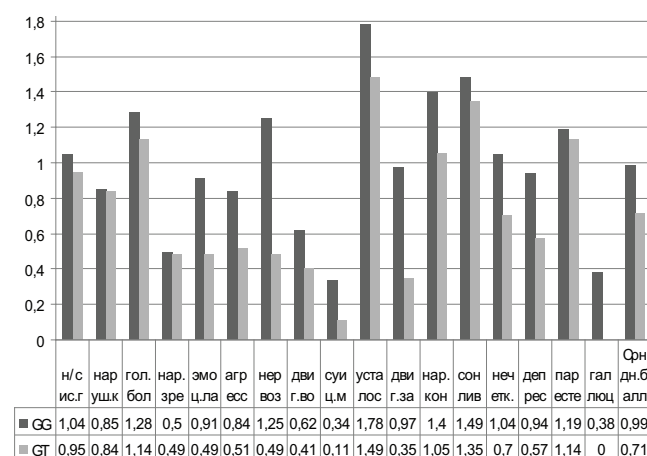


Рисунок 10. Различия средних показателей ПЭ топирамата в зависимости от аллельного варианта гена TRN2.

разделилась следующим образом: GG генотип был выявлен у 68 пациентов, GT – у 37, а TT у 6 исследуемых. По средним суточным дозировкам общая группа распределилась следующим образом: GG генотип – 152 мг/сутки, GT генотип – 134 мг/сутки, у TT генотипа – 125 мг/сутки. Средний возраст пациентов в группе с GG генотипом составил 39,9, с GT – 39,3 и с TT – 53,3 лет. В связи с малой выборкой группы пациентов с генотипом TT мы не рассматривали ее в качестве группы сравнения при анализе распределения ПЭ по генотипам.

Анализ средних показателей побочных эффектов топирамата со стороны нервной системы и психоэмоциональной сферы в общей популяции в зависимости от полиморфизма гена TRN2, представлен на рисунке 10.

У пациентов с генотипом GG выраженность всех побочных эффектов на топирамате статистически достоверно превышала жалобы пациентов с генотипом GT.

По сравнению с группой GT, у пациентов с генотипом GG достоверно чаще были выражены жалобы на возникновение эмоциональной лабильности (Т-тест=0,04, F-тест=0,01), появление ощущения постоянной нервозности (Т-тест=0,02), суицидальных мыслей (Т-тест=0,03, F-тест=1,5×10⁻⁶), двигательной заторможенности (Т-тест=0,0009) и появления галлюцинаций (Т-тест=0,02, F-тест=0,00002).

Анализ ассоциации полиморфизма гена TRN2 с развитием побочных эффектов у мужчин

Группа мужчин по генотипам разделилась следующим образом: GG генотип – 26 пациентов, с генотипом GT – 20, с TT – 4 мужчины. Средний возраст в группе GG составил 45 лет, GT – 43 года, в группе с TT генотипом – 56 лет. Средняя суточная дозировка топирамата в группе пациентов с GG генотипом составила 148 мг/сутки, GT-134 мг/сутки, TT-88 мг/сутки.

Различия средних показателей побочных эффектов топирамата у мужчин с различными аллельными вариантами гена TRN2, представлены на рисунке 11.

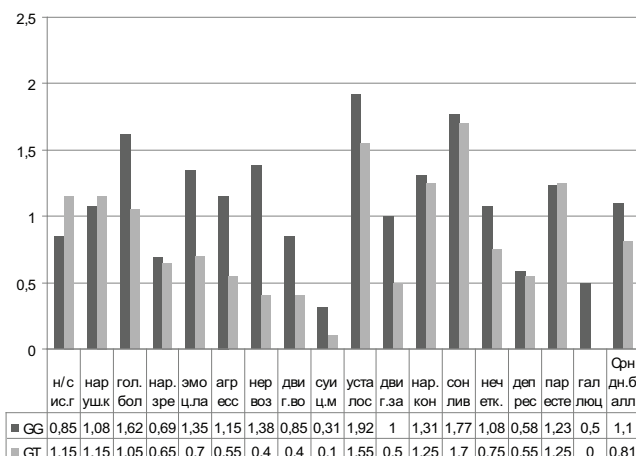


Рисунок 11. Различия средних показателей ПЭ топирамата у мужчин в зависимости от аллельного варианта гена TRN2.

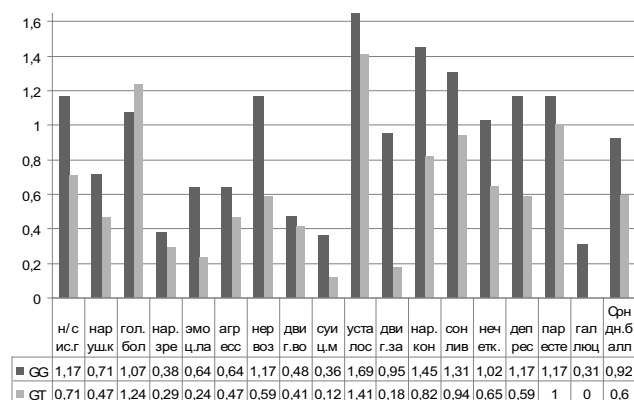


Рисунок 12. Различия средних показателей ПЭ топирамата у женщин в зависимости от аллельных вариантами гена TRH2.

У пациентов с генотипом GG статистически достоверно чаще регистрировались жалобы на появление ощущения «нервозности» (Т-тест=0,02), агрессивности (F-тест=0,04), двигательного возбуждения (F-тест=0,018), суицидальных мыслей (F-тест=1,6×10⁻⁶) и галлюцинаций (Т-тест=0,012).

У пациентов с генотипом GT достоверно значимые различия наблюдались по показателям агрессивность (Т-тест=0,04), ощущению постоянной «нервозности» (Т-тест=0,003), появлению суицидальных мыслей (F-тест=0,00008) и галлюцинаций (Т-тест=0,013), которые были достоверно ниже, чем у генотипа GG. Также отмечались различия между сравниваемыми группами по показателям сонливости (F-тест=0,02) и возникновению депрессии (F-тест=0,018).

Анализ ассоциации полиморфизма гена TRH2 с развитием побочных эффектов у женщин.

Группа женщин по полиморфизму гена TRH2 распределилась следующим образом: GG генотип был определен у 42 женщин, GT у 17, TT у 2 женщин. Средний возраст варьировал и составил в группе GG – 37 года, в группе GT – 35 года, в TT группе – 49 лет. Средние дозировки составили: у пациентов с GG генотипом – 155 мг/сутки, с GT генотипом – 135 мг/сутки, в TT группе – 200 мг/сутки. Как и в группе мужчин, в связи с малочисленностью группы пациентов с генотипом TT статистически достоверно проанализировать материал не представляется возможным, поэтому эта групп пациентов была исключена из анализа.

Распределение средних показателей побочных эффектов на фоне приема топирамата относительно полиморфизма гена TRH2 представлено на рисунке 12.

У пациенток с генотипом GG достоверно сильнее были выражены такие побочные эффекты топирамата, как эмоциональная лабильность (Т-тест=0,03, F-тест=0,005), двигательная заторможенность (Т-тест=0,0009, F-тест=0,016), нарушения концентрации внимания (Т-тест=0,04) и появление суицидаль-

ных мыслей (F-тест=0,04) по сравнению с другой подгруппой пациентов, имеющих генотип GT.

В группе пациенток с генотипом GT достоверно ниже была выраженность эмоциональной лабильности (F-тест=0,016), ощущение постоянной «нервозности» (Т-тест=0,027), двигательная заторможенность (Т-тест=0,0001, F-тест=0,015) и появление галлюцинаций на фоне приема топирамата (Т-тест=0,002). Возникновений галлюцинаций у женщин с генотипом GT не было зафиксировано ни у одной пациентки.

Исходя из полученных результатов гипотеза о том, что при наличии менее функционального варианта TRH2 повышается синтез серотонина и, таким образом, частота ПЭ должна снижаться полностью, подтвердилась. Разница между двумя генотипами GG и GT тем более существенна, если исходить из теории о том, что длительный стресс, которым является само заболевание (эпилепсия), требует постоянного синтеза и выброса серотонина в синаптическую щель. При этом у пациентов с GG генотипом наличие активного фермента, который подавляет синтез серотонина, клинически проявляется более выраженными ПЭ по сравнению с носителями GT генотипа. В то же время, если наложить на эту схему приведенную выше гипотезу о вкладе карбоангидразы в регулирование функции серотонинергической системы, то получится логически связанная система, при которой активация HT1A рецепторов в ответ на повышение CO₂ в тканях головного мозга приводит к ингибированию выброса серотонина в синаптическую щель и, таким образом, выброс серотонина и его синтез ингибируется с разных сторон.

При сопоставлении полученных результатов для генов SERT и TRH2 мы получили практически одинаковое распределение частоты и выраженности таких ПЭ, как усталость, головная боль и нечеткость мышления в группе с генотипом LL гена SERT и группе GG гена TRH2, что говорит о суммарном вкладе обоих генов в развитие НЯ на фоне терапии топираматом. Стоит отметить, что как и в случае с геном SERT, сохраняется большая выраженность депрессии у женщин при одновременно более высокой эмоциональной лабильности у мужчин. Сонливость, отмеченная как один из наиболее частых ПЭ в обеих группах, по-видимому, обусловлена прямым следствием полиморфизма TRH2 и снижением синтеза серотонина совместно с ГАМК-эргическим механизмом действия топирамата.

Таким образом, нами впервые была проведена клинко-генетическая оценка роли SNP полиморфизмов генов SERT и TRH2 в развитии ПЭ на фоне терапии топираматом и с учетом гендерных особенностей. Показано, что наиболее выраженные нежелательные явления – головная боль, усталость, нечеткость мышления позитивно коррелировали с генотипом LL гена SERT и GG гена TRH2. Предложена гипо-

теза о значимом вкладе ингибирования карбоангидразы в развитие НЯ серотонинергической природы. Определены гендерные особенности в отношении выраженности развития депрессии и эмоциональной лабильности. В целом, данная работа представляет

собой первый шаг к созданию набора гаплотипов для изначального определения риска развития ПЭ на фоне терапии топираматом, что в скором времени позволит персонализированной медицине занять центральное место в клинической практике.

Литература:

- Белова А.Н., Шепетова О.Н. Шкалы, тесты и опросники в медицинской реабилитации: руководство для врачей и научных работников. М: Антидор 2002.
- Вайнруб М.Я. (1998) Медикаментозные осложнения у больных с эпилепсией. Современная психиатрия.-Т.1-5
- Воронкова К.В., Петрухин А.С., Пылаева О.А., Холин А.А. (2008). Рациональная антиэпилептическая фармакотерапия. Руководство для врачей. 191с.
- Гусев Е.И., Белоусова Ю.Б., Гехт А.Б. и соавт. (2000) Лечение эпилепсии: рациональное дозирование антиконвульсантов. –СПб:Речь-201 с.
- Зенков Л.Р.(2001) Лечение эпилепсии. – М.: Ремедиум– 228с.
- Малинин Д.И. (2000) Побочное действие психотропных средств. М.:Книга для ВУЗов. – 207с.
- Оксфордский толковый словарь по психологии. Под ред. А.Ребера // 2002 г.
- Петрухин А.С., Мухин К.Ю. Эпилептология детского возраста. М: "Медицина", 2000, 623с.
- Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, et al. (2003) Science. 2003;301:386–9.
- Gdovin MJ, Zamora DA, Ravindran CR, Leiter JC. (2010) Ethn Dis. 2010 Winter;20 (1 Suppl 1):S1-39-44.
- Gestel S., Forsgren T., Claes S., Del-Favero J., Van Duijn C., Sluijs S., Nilsson L., Adolfsson R., Van Broeckhoven C. Mol Psychiatry– 2002.–7(5). –P.448–450.
- Heinz A, Smolka MN, Braus DF, Wrase J, Beck A, Flor H, Mann K, Schumann G, B chel C, Hariri AR, Weinberger DR. (2007) Biol Psychiatry. 2007 Apr 15;61(8):1011-4.
- Lester D. (1995) Pharmacopsychiatry, 1995, 28:45–50.
- Lidberg L., Tuck J., Asberg M., Scalia–Tomba G., Bertilsson L. (1985) Acta Psychiatrica Scandinavica.– 1985.–71.–P. 230–236.
- Moore T., Scarpa A., Raine A. A Aggressive Behavior.– 2002.–28.–P. 299–316.
- Traskman–Bendz L., Asberg M., Schalling D. Ann NY Acad Sci 1986; 487:168–174
- Virkkunen M., Rawlings R., Tokola R., Poland R., Guidotti A., Nemeroff C., Bissette G., Kalogeras K., Karonen S., Linnoila M. (1994) Archives of General Psychiatry– 1994.–51.–P. 20–27.
- Young KA, Holcomb LA, Bonkale WL, Hicks PB, Yazdani U, German DC. (2007) Biol Psychiatry. 2007 Mar 15;61(6):813-8.

ANALYSIS OF THE SERT AND TPH2 GENES POLYMORPHISM RELATIONSHIP WITH SIDE EFFECTS DURING TOPIRAMATE THERAPY TAKING INTO ACCOUNT GENDER FEATURES

Chukanova A.S.¹, Tushkanov M.A.², Barsky V.I.², Grazhdan I.K.⁴, Cricova E.V.³
Aksenova M.G.², Burd S.G.¹, Gusev E.I.¹

¹ Department of Neurology and Neurosurgery, Russian State Medical University named after N.I. Pirogov

² FSO, «Research Institute of Human Ecology and Environmental Hygiene named after A.N. Sysina» of the Ministry of Health and Social Development

³ The Scientific Center of Mental Health, RAMS, Clinical Genetics laboratory.

⁴ First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov

Summary: We examined the clinical and genetic evaluation of SERT and TPH2 genes SNP polymorphisms role in the development of side effects during topiramate therapy taking into account gender features. Found significant differences in the severity of topiramate side effects in the nervous system and psycho-emotional sphere in patient groups with different variants of alleles, and identified gender features in elaboration of depression and emotional lability.

Key words: pharmacogenetics of epilepsy, topiramate side effects, SERT, TRN2