

ДК 616.89.8:613.83

^{1,2} Застрожин М.С., ¹ Скрябин В.Ю., ² Гришина Е.А., ² Рыжикова К.А., ² Буре И.В.,
² Застрожина А.К., ¹ Иванов А.В., ¹ Копоров С.Г., ^{1,2} Брюн Е.А., ² Сычёв Д.А.

**МИКРО-РНК HSA-MIR-370-3P - НОВЫЙ БИОМАРКЕР ОЦЕНКИ УРОВНЯ
 ЭКСПРЕССИИ ГЕНА CYP2D6, КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
 И БЕЗОПАСНОСТИ МИРТАЗАПИНА У ПАЦИЕНТОВ С ДЕПРЕССИВНЫМИ
 РАССТРОЙСТВАМИ, КОМОРБИДНЫМИ С АЛКОГОЛИЗМОМ**

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения города Москвы», 109390, Москва, ул. Люблинская, д. 37/1, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России», 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, Россия

Цель исследования. Изучение влияния полиморфизма гена CYP2D6 на эффективность и безопасность терапии мirtазапином у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 106 мужчин с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом (средний возраст - 40,1±14,7 лет). Терапия включала мirtазапин в средней суточной дозе 36,5±13,6 мг/сут. Клиническую эффективность терапии оценивали с помощью валидизированных психометрических шкал. Оценка безопасности терапии производилась при помощи международной шкалы UKU Side-Effect Rating Scale. Генотипирование и оценка уровня плазменной концентрации микро-РНК проводились методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-time ПЦР).

Результаты и обсуждение. По результатам исследования не были получены статистически значимые результаты в показателях оценки эффективности (баллы по шкале HAMD в конце курса терапии: (GG) 2,0 [2,0; 4,0] и (GA) 2,0 [1,0; 4,0], $p = 0,671$; при этом в показателе безопасности статистическая значимость была получена: количество баллов по шкале UKU составило: (GG) 2,5 [2,0; 3,0] и (GA) 4,0 [3,0; 4,0], $p < 0,001$). Анализ результатов данных фармакотранскриптомной части исследования показал наличие статистически значимой разницы в показателе уровня концентрации hsa-miR-370-3p в плазме крови у пациентов с разными генотипами: (GG) 21,6 [17,2; 28,5], (GA) 12,8 [9,5; 21,7], $p < 0,001$.

Заключение. В исследовании на группе из 106 пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, было продемонстрировано влияние полиморфизма 1846G>A гена CYP2D6 (rs3892097) на показатели профиля безопасности мirtазапина, но не его эффективности. При этом, hsa-miR-370-3p остается перспективным биомаркером оценки уровня экспрессии CYP2D6, так как уровень его плазменной концентрации отличался у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру 1846G>A, хотя и не обнаружилась связь с клинической эффективностью и безопасностью.

Ключевые слова: мirtазапин, CYP2D6, фармакогенетика, биотрансформация, персонализированная медицина, расстройства депрессивного спектра, алкогольная зависимость

^{1,2} Zastrozhin M.S., ¹ Skryabin V.Yu., ² Grishina E.A., ² Ryzhikova K.A., ² Bure I.V.,
² Zastrozhina A.K., ¹ Ivanov A.V., ¹ Koporov S.G., ^{1,2} Bryun E.A., ² Sychev D.A.

**MICRO-RNA HSA-MIR-370-3P - A NEW BIOMARKER FOR ASSESSING THE EXPRESSION
 LEVEL OF THE CYP2D6 GENE, CLINICAL EFFICIENCY AND SAFETY OF MIRTAZAPINE
 IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE SOMERS**

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation (2/1 Barrikadnaya street, Moscow, Russian Federation, 123995)

² Moscow Research and Practical Centre on Addictions of the Moscow Department of Healthcare (37/1 Lyublinskaya street, Moscow, Russia, 109390)

Aim of the study. To investigate the effect of CYP2D6 genetic polymorphism on the efficacy and safety of mirtazapine in patients with depressive disorders comorbid with alcoholism.

Materials and methods. The study involved 106 men with depressive disorders, comorbid with alcoholism (average age - 40.1 ± 14.7 years). The therapy included mirtazapine in an average daily dose of 36.5 ± 13.6 mg / day. The clinical effectiveness of the therapy was evaluated using validated psychometric scales. The safety assessment of therapy was carried out using the international scale UKU Side-Effect Rating Scale. Genotyping and assessment of the level of plasma concentration of micro-RNA were carried out by polymerase chain reaction in real time (Real-time PCR).

Results. According to the results of the study, statistically significant results were not obtained in terms of evaluating effectiveness (points on the HAMD scale at the end of the course of therapy: (GG) 2.0 [2.0; 4.0] and (GA) 2.0 [1.0; 4.0], $p = 0.671$; in this case, statistical significance was obtained in the safety indicator - UKU scores: (GG) 2.5 [2.0; 3.0] and (GA) 4.0 [3.0 ; 4.0], $p < 0.001$). An analysis of the results of the pharmacotranscriptome part of the study showed the presence of a statistically significant difference in the level of concentration of hsa-miR-370-3p in blood plasma in patients with different genotypes: (GG) 21.6 [17.2; 28.5], (GA) 12.8 [9.5; 21.7], $p < 0.001$.

Conclusion. In a study of a group of 106 patients with depressive disorders, comorbid with alcohol dependence, the effect of 1846G> A polymorphism of the CYP2D6 gene (rs3892097) on the mirtazapine safety profile, but not effectiveness, was demonstrated. At the same time, hsa-miR-370-3p remains a promising biomarker for assessing the level of CYP2D6 expression, since the level of its plasma concentration differed in carriers of different genotypes by the polymorphic marker 1846G> A, although there was no association with clinical efficacy and safety.

Key words: mirtazapine, CYP2D6, pharmacogenetics, biotransformation, personalized medicine, depressive disorder, alcohol use disorder

Расстройства депрессивного спектра являются одними из наиболее часто встречающихся коморбидных психических расстройств у пациентов с алкогольной зависимостью [2]. Антидепрессанты используются для лечения пациентов с расстройствами депрессивного спектра. [10] Представителем данной лекарственной группы является миртазапин [10]. При этом, несмотря на то что тетрациклические антидепрессанты входят в клинические рекомендации по лечению депрессивных расстройств, число фармакорезистентных пациентов и пациентов с нежелательными лекарственными реакциями типа А (НЛР типа А) продолжает оставаться высоким [11].

CYP2D6 принимает участие в метаболизме многих лекарств, применяемых в терапии пациентов с расстройствами депрессивного спектра [4]. При этом ген, кодирующий CYP2D6, является высокополиморфным, что может оказывать приводить к изменению активности CYP2D6, повышая или понижая ее [9]. Изменение активности может оказывать влияние на скорость метаболизма ксенобиотиков, в том числе, лекарственных средств-субстратов, что, в свою очередь, может сказываться на показателях профиля их эффективности и безопасности [15]. По скорости метаболизма выделяют 4 группы метаболизаторов: «распространенные» (extensive metabolizers) – имеют нормальную скорость метаболизма; «медленные» (poor metabolizers) – имеют мутации в гене CYP2D6, которые могут приводить к снижению активности кодируемого белка, а также замедлению биотрансформации лекарственных средств субстратов, что может приводить к возрастанию риска возникновения нежелательных лекарственных реакций типа А (НЛР типа А); «промежуточные» - имеют мутацию только в одной из гомологичной хромосоме, что снижает активность CYP2D6, но не настолько выражено, как у медленных метаболизаторов; «ультрабыстрые» (ultra-rapid metabolizers) - имеют врожденную повышенную активность CYP2D6, что приводит к ускорению биотрансформации ЛС-субстратов и снижению эффективности лечения [1].

Целью данного исследования было оценить влияние полиморфизма 1846G>A гена CYP2D6 на профиль эффективности и безопасности миртазапина с использованием, в том числе, данных уровня экспрессии CYP2D6, полученных путем измерения уровня микро-РНК hsa-miR-370-3p в плазме крови у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом.

Материалы и методы исследования. В исследовании принимали участие 106 пациентов мужского пола (средний возраст — $40,13 \pm 14,69$ лет). Критерии включения в исследование: «F32.x Депрессивный эпизод», а также наличие коморбидного заболевания «Психиче-

ские и поведенческие расстройства, вызванные употреблением алкоголя». Синдром зависимости средней стадии неосложненный. Воздержание в условиях, ограничивающих потребление алкоголя (F.10.212)»; наличие подписанного информированного согласия; терапия, включающая миртазапин, длительностью 16 дней, монотерапия. Критерии исключения: наличие других психических расстройств; наличие выраженных соматических расстройств (за исключением алкогольного гепатита и токсической энцефалопатии); применение в терапии иных психотропных препаратов; клиренс креатинина <50 мл/мин, концентрация креатинина в плазме крови >1,5 мг/дл (133 мкмоль/л); масса тела менее 60 кг или превышающая 100 кг; возраст 75 лет и более; наличие противопоказаний к назначению миртазапина.

Для оценки эффективности миртазапина применяли международные психометрические шкалы: Пенсильванская шкала патологического влечения (Pennsylvanian Alcohol Craving Scale - PACS) [5], Визуально-аналоговая шкала оценки влечения к алкоголю (ВАШ), Шкала общего клинического впечатления (Clinical Global Impression – CGI) [3], Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) [16], Шкала депрессии Гамильтона (HAMD) [6]. Профиль безопасности исследовали с помощью шкал оценки выраженности побочного действия (UKU Side-Effect Rating Scale — UKU) [8]. Исследование пациентов проводили на 1-й, 9-й и 16-й день терапии, включавшей миртазапин.

Для проведения генотипирования использовали венозную кровь, собранную на 16-е сутки после начала применения миртазапина в вакуумные пробирки VACUETTE® (Greiner Bio-One, Австрия). Для определения однонуклеотидных генетических полиморфизмов (SNP's) 1846G>A гена *CYP2D6* (*rs3892097*) использовался метод ПЦР в реальном времени на ДНК - амплификаторах «Dtlite» компании «ДНК-Технология» (Россия) и CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager компании BioRad (США) и наборы «SNP-Скрин» ЗАО «Синтол» (Россия). В каждом наборе «SNP-Скрин» использовались два аллель-специфичных зонда, которые позволили отдельно определять сразу два аллеля исследуемого полиморфизма на двух каналах флуоресценции.

Кровь для исследования отбирали в стерильные пробирки, содержащие ЭДТА. Закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивали для перемешивания с антикоагулянтом. Для получения плазмы пробирку центрифугировали в течение 10 мин. при ускорении 2000g, после чего супернатант переносили в стерильные пробирки объемом 2 или 1,5 мл и хранили до использования при температуре -80 °С. Выделение суммарной РНК, включая микро-РНК, проводилось с помощью реагента Trizol (Life Technologies, Карлсбад, США) и набора miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Хильден, Германия) в соответствии с протоколом производителей с небольшими модификациями. Реагент Trizol добавляли к 500 мкл плазмы в объемном соотношении 2:1. После внесения в пробирку хлороформа и последующего центрифугирования для разделения фаз, водную фазу переносили в новую пробирку и добавляли к ней 1,5 объема 100% этанола. Раствор, содержащий РНК, загружали в колонку miRNeasy и подвергали дальнейшей отмывке в соответствии с инструкциями производителя. Окончательный объем элюции составлял 15 мкл. Концентрация и чистота полученной РНК оценивалась на спектрофотометре для микрообъемов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Нью-Йорк, США). Процесс выделения повторяли для каждого образца до получения достаточного количества РНК для следующих этапов. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MiScript II RT Kit (Qiagen) в соответствии с рекомендованным протоколом. Для получения кДНК использовалось 300 ng суммарной РНК, выделенной из каждого образца, которая вносилась в реакционную смесь (4 мкл 5x miScript HiFlex Buffer, 2 мкл 10X miScript Nucleic Mix, 1 мкл miScript Reverse Transcriptase Mix и свободная от РНК вода до 20 мкл) и инкубировалась 60 минут при 37 °С, с последующим увеличением температуры до 95 °С на 5 минут для инактивации транскриптазы. ПЦР в реальном времени выполнялась в трех повторностях для каждой анализируемой микро-РНК, а также эндогенного контроля RNU6B, с использованием набора MiScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen) и пресинтезированных праймеров miScript Primer Assay (Qiagen) в объеме реакционной смеси 12 мкл (2 мкл полученной кДНК, 5 мкл 2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix, 1 мкл 10x miScript Universal Primer,

1 мкл 10x miScript Primer Assay к исследуемым микро-РНК и свободная от РНКаз вода до 12 мкл). ПЦР в реальном времени ставилась на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Геркулес, США) по рекомендованной производителем программе (15 минут при 95 °С для активации HotStarTaq DNA Polymerase и 40 трехступенчатых циклов (94 °С - 15 сек., 55 °С - 30 сек., 70 °С - 30 сек.)).

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России (Протокол № 6 от 16.05.2017).

Статистический анализ результатов исследования проводили методами непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ «Statsoft Statistica v. 10.0» (Dell Statistica, Tulsa, OK, USA). При выборе метода брали во внимание нормальность распределения выборок, которую оценивали с помощью W-теста Шапиро–Уилка. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (при статистической мощности свыше 80%). Для сравнения двух выборок непрерывных независимых данных использовали U-тест Манна–Уитни, учитывающий ненормальный характер распределения данных, с дальнейшей коррекцией полученных p -value с помощью теста Бенджамин–Хохберга, ввиду проведения процедуры множественного сравнения. Анализ нескольких выборок данных непрерывного типа производили с помощью H-теста Крускала–Уоллиса. Корреляционный анализ проводился с помощью непараметрического теста Спирмена, учитывающего ненормальный характер распределения выборок. Данные в работе представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1; Q3]) либо, в случае нормального характера их распределения – среднего арифметического и стандартного отклонения (Mean±SD).

Результаты исследований и их обсуждение. По результатам генотипирования *CYP2D6* по полиморфному маркеру *1846G>A* (*rs3892097*) у 106 испытуемых, были получены следующие данные:

- количество пациентов, являющихся носителями генотипа *GG* составило 72 человека (67,9%);
- количество пациентов, являющихся носителями генотипа *GA* составило 34 человека (32,1%);
- пациентов с генотипом *AA* обнаружено не было.

Распределение генотипов соответствовало закону Харди–Вайнберга для европейской популяции (результат теста $\chi^2 = 3,87$, p -value = 0,06).

Результаты анализа данных психометрических шкал (PACS, ВАШ, CGI, HADS, HAMD) и шкалы оценки побочного действия ЛС (UKU) для пациентов, получавших миртазапин, на 1-й, 9-й, и 16-й дни исследования представлены соответственно в таблице 1.

Таблица 1

Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности НЛР у пациентов, получавших миртазапин, на 1-й, 9-й и 16-й дни исследования

Шкала	GG	GA	p -value
День 1			
PACS	11,0 [10,0; 12,0]	11,0 [10,0; 12,0]	0,628
ВАШ	50,0 [47,0; 53,0]	51,5 [46,2; 57,0]	0,342
CGI	5,0 [5,0; 5,0]	5,0 [5,0; 5,0]	0,606
HADS	36,0 [35,0; 39,0]	37,0 [35,0; 39,0]	0,483
HAMD	21,0 [18,0; 23,0]	24,0 [20,0; 24,8]	0,092
UKU	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [1,0; 1,0]	0,595
День 9			
PACS	7,0 [6,0; 8,0]	8,5 [7,2; 9,0]	< 0,001
ВАШ	29,0 [23,8; 34,2]	34,0 [33,0; 35,0]	< 0,001
CGI	3,0 [3,0; 4,0]	3,0 [3,0; 4,0]	0,997
HADS	23,0 [20,0; 27,0]	27,0 [25,0; 29,0]	0,002
HAMD	13,0 [12,0; 14,0]	16,5 [15,0; 17,8]	< 0,001
UKU	2,0 [1,0; 2,0]	2,5 [2,0; 3,0]	0,001

День 16			
PACS	2,0 [1,0; 3,0]	2,0 [1,0; 2,0]	0,806
BAШ	7,0 [4,8; 12,0]	8,5 [5,2; 15,8]	0,193
CGI	0,0 [0,0; 0,0]	1,0 [1,0; 1,0]	< 0,001
HADS	5,0 [3,0; 7,0]	7,0 [4,2; 9,0]	0,048
HAMD	2,0 [2,0; 4,0]	2,0 [1,0; 4,0]	0,671
UKU	2,5 [2,0; 3,0]	4,0 [3,0; 4,0]	< 0,001

Динамика изменения баллов по шкале HAMD у пациентов с разными генотипами представлена на рисунке 1.

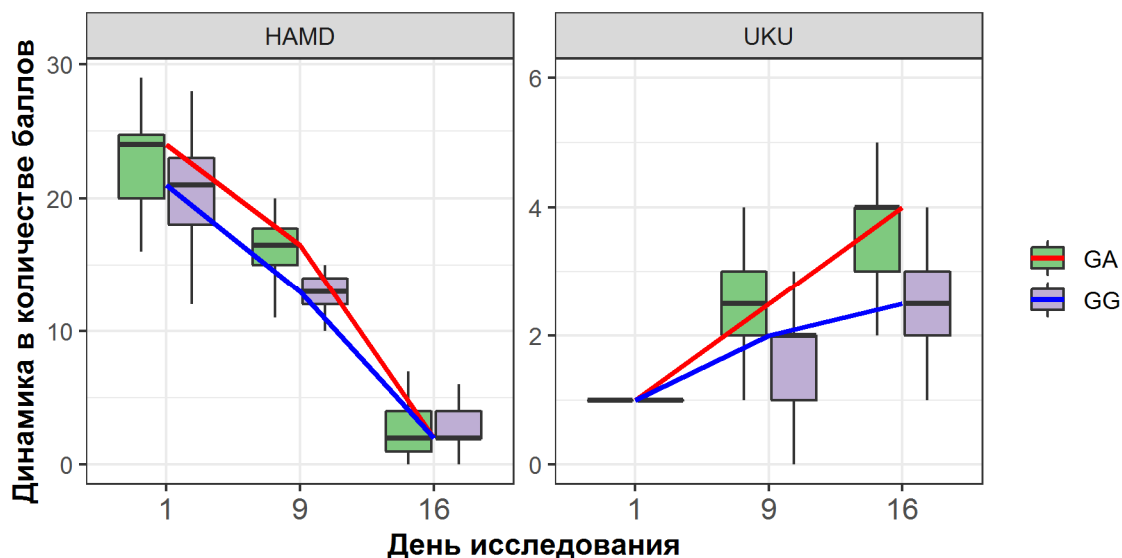


Рис. 1. Изменение баллов по шкалам HAMD и UKU у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру *1846G>A* гена *CYP2D6* (*rs3892097*).

Примечание: Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (цветные линии соединяют медианы в разные дни исследования)

К 1-му дню исследования изучаемые выборки не имели статистически значимых различий: (*GG*) 21,0 [18,0; 23,0], (*GA*) 24,0 [20,0; 24,8], $p = 0,092$. К 9-му дню исследования статистически значимые различия появились: (*GG*) 13,0 [12,0; 14,0], (*GA*) 16,5 [15,0; 17,8], $p < 0,001$. В последний, 16-ый день исследования, статистически значимые различия перестали наблюдаться: (*GG*) 2,0 [2,0; 4,0], (*GA*) 2,0 [1,0; 4,0], $p = 0,671$. По другим психометрическим шкалам была получена аналогичная динамика в изменении баллов, что по шкале HAMD.

Сравнение баллов по шкале выраженности НЛР (UKU) в разные дни исследования представлено на рисунке 1. В 1-й день исследования баллы статистически значимо не отличались у носителей разных генотипов: (*GG*) 1,0 [1,0; 1,0], (*GA*) 1,0 [1,0; 1,0], $p = 0,595$. К 9-му дню статистически значимая разница была получена: (*GG*) 2,0 [1,0; 2,0], (*GA*) 2,5 [2,0; 3,0], $p < 0,001$. Статистически значимая разница сохранялась и на 16-й день терапии: (*GG*) 2,5 [2,0; 3,0], (*GA*) 4,0 [3,0; 4,0], $p < 0,001$.

Анализ результатов данных фармакотранскриптомной части исследования показал наличие статистически значимой разницы в показателе уровня концентрации *hsa-miR-370-3p* в плазме крови у пациентов с разными генотипами: (*GG*) 21,6 [17,2; 28,5], (*GA*) 12,8 [9,5; 21,7], $p < 0,001$. При этом корреляционный анализ не выявил статистически значимую связь между показателем профиля эффективности миртазапина, оцененного по изменению количества баллов по шкале HAMD, и плазменной концентрацией *hsa-miR-370-3p*: $rs = -0,139$, $p = 0,156$. Связь концентрации микро-РНК с профилем безопасности также не была получена: $rs = -0,156$, $p = 0,111$.

Статистический анализ данных профиля клинической эффективности миртазапина у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру *1846G>A* гена *CYP2D6*

(rs3892097) показал отсутствие статистически значимых различий в показателях эффективности ($p = 0,671$). Анализ данных безопасности миртазапина, напротив, показал существование статистически значимой разницы ($p < 0,001$). У носителей минорного аллеля значение данных показателей статистически значимо выше, чем у носителей мажорного аллеля. Это может говорить о том, что носительство данного полиморфного маркера может приводить к повышению риска развития нежелательных лекарственных реакций миртазапина в сравнении с носителями не мутантных аллелей, что, вероятно, может быть обусловлено замедлением активности CYP2D6 у данных пациентов, субстратом которого является миртазапин, снижением скорости его биотрансформации и элиминации и накоплением его в плазме. Отсутствие статистически значимых результатов в показателе эффективности, вероятно, связано с недостаточно хорошо спланированным дизайном исследования, не позволяющим в достаточной степени оценить клиническую эффективность терапии антидепрессанта (только анксиолитический эффект, но не антидепрессивный). К сожалению, ликвидировать данный недостаток было невозможно, так как пациенты выписывались из стационара и имеющимися инструментами невозможно было оценить комплаенс и прием лекарства.

В финальной части исследования изучалась возможность использования нового биомаркера (*hsa-miR-370-3p*) для оценки влияния уровня экспрессии CYP2D6 на уровень равновесной концентрации, а также показатели эффективности и безопасности миртазапина. Статистический анализ результатов показал наличие разницы в уровне плазменной концентрации *hsa-miR-370-3p* у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 1846G>A гена CYP2D6 ($p < 0,001$) (Рисунок 2).

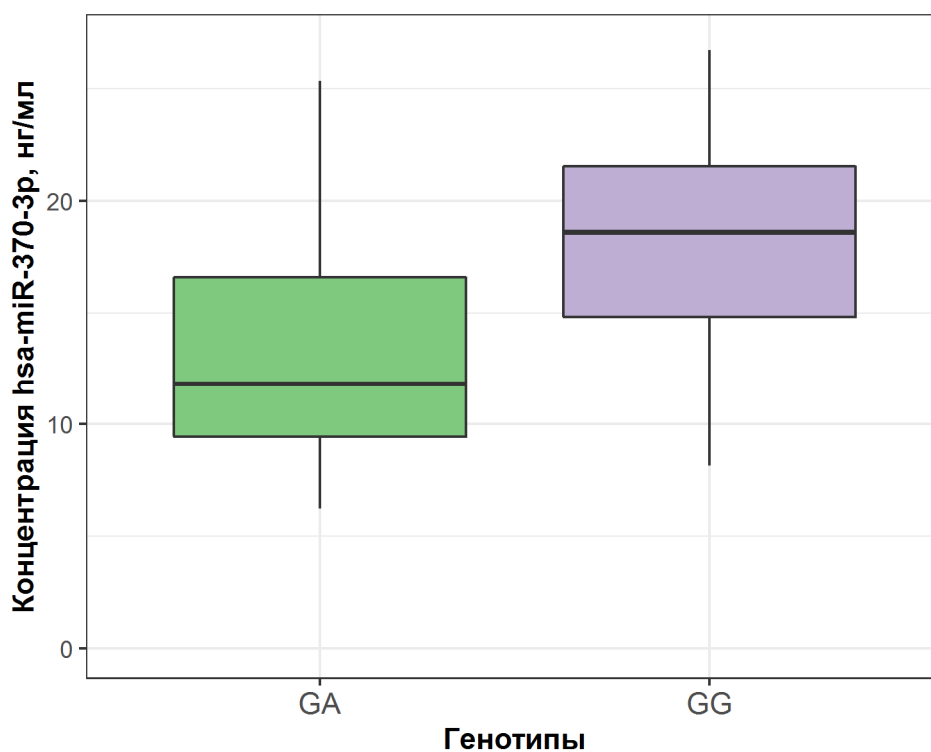


Рис. 2. Разница в плазменной концентрации микро-РНК *hsa-miR-370-3p* у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 1846G>A гена CYP2D6 (rs3892097)
Примечание: Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха

Корреляционный анализ между показателем уровня плазменной концентрации *hsa-miR-370-3p* и показателями профиля эффективности и безопасности терапии не продемонстрировал статистически значимые результаты ($rs = -0,139$, $p = 0,156$ и $rs = -0,156$, $p = 0,111$, соответственно). То есть в принципе, *hsa-miR-370-3p* можно рассматривать как потенциальный маркер для оценки уровня экспрессии CYP2D6, так как он чувствителен к полиморфизму гена и статистически значимо ниже даже у гетерозигот. При этом отсутствие статистиче-

ски значимой связи с клиническими показателями не дает однозначного ответа на вопрос о его валидности для использования для оптимизации терапии миртазапином у пациентов с депрессивными расстройствами. С другой стороны, отсутствие статистически значимой корреляции может быть обосновано несовершенным дизайном клинической части данного исследования, причины которой описаны выше.

Таким образом, исходя из полученных результатов о том, что полиморфизм гена не оказывает влияния на эффективность и безопасность терапии миртазапином у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, возможно предположить, что перед назначением миртазапина пациентам данной категории учитывать результаты генотипирования по локусам данного гена не нужно. По результатам наших более ранних исследований было также показано, что при назначении миртазапина необходимо принимать во внимание полиморфизм гена *CYP2D6*, так как это может оказывать влияние на профиль эффективности и безопасности миртазапина у пациентов данной категории [13, 14].

Выводы.

1. В исследовании на группе из 106 пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, было продемонстрировано влияние полиморфизма *1846G>A* гена *CYP2D6* (*rs3892097*) на показатели профиля безопасности миртазапина.
2. Не было установлено влияния полиморфизма *1846G>A* гена *CYP2D6* (*rs3892097*) на показатели профиля эффективности миртазапина.
3. *Hsa-miR-370-3p* остается перспективным биомаркером оценки уровня экспрессии *CYP2D6*, так как уровень его плазменной концентрации отличался у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру *1846G>A*.

Список литературы:

1. Bertilsson L., Dahl M.L., Dalen P., Al-Shurbaji A. Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol*. 2002. 53(2). 111-122. doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01548.x
2. Boschloo L., Vogelzangs N., Smit J.H., van den Brink W., Veltman D.J., Beekman A.T., Penninx B.W. Comorbidity and risk indicators for alcohol use disorders among persons with anxiety and/or depressive disorders: findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *J Affect Disord*. 2011. 131(1-3). 233-42.
3. Busner J., Targum S.D. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont)*. 2007. 4(7). 28-37.
4. D Empaire I., Guico-Pabia C.J., Preskorn S.H. Antidepressant treatment and altered CYP2D6 activity: are pharmacokinetic variations clinically relevant? *J Psychiatr Pract*. 2011. 17(5). 330-9. doi: 10.1097/01.pra.0000405363.95881.01.
5. Flannery B.A., Volpicelli J.R., Pettinati H.M. Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale. *Alcohol Clin Exp Res*. 1999. 23(8). 1289-1295.
6. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960. 23. 56-62.
7. Jiang X.L., Shen H.W., Yu A.M. Pinoline may be used as a probe for CYP2D6 activity. *Drug Metab Dispos*. 2009. 37(3). 443-6. doi: 10.1124/dmd.108.025056. Epub 2008 Dec 18.
8. Lingjaerde O., Ahlfors U.G., Bech P., Dencker S.J., Elgen K. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 1987. 334. 1-100.
9. Neafsey P., Ginsberg G., Hattis D., Sonawane B. Genetic polymorphism in cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Population distribution of CYP2D6 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2009. 12(5-6). 334-61. doi: 10.1080/10937400903158342.
10. Shiv G., Akhilesh J., Manaswi G. Guidelines for the Pharmacological Management of Depression. *Indian J Psychiatry*. 2017. 59(1). 34-50. doi:10.4103/0019-5545.196973.
11. Spear B.B., Heath-Chiozzi M., Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med*. 2001. 7(5). 201-204. PMID:11325631.

12. Zastrozhin M.S., Antonenko A.P., Nesterenko E.V., Seyfullaeva L.I., Mustafina V.R., Esakova A.P., Grishina E.A., Sorokin A.S., Skryabin V.Y., Savchenko L.M., Bryun E.A., Sychev D.A. Effects of CYP2C19*17 polymorphisms on the efficacy and safety of bromodigyrochlorophenylbenzodiazepine in patients with anxiety disorder and comorbid alcohol use disorder. *Drug Metab Pers Ther.* 2018. 33(4). 187-194. doi: 10.1515/dmpt-2018-0019.
13. Zastrozhin M.S., Grishina E.A., Ryzhikova K.A., Smirnov V.V., Savchenko L.M., Bryun E.A., Sychev D.A. The influence of CYP3A5 polymorphisms on haloperidol treatment in patients with alcohol addiction. *Pharmgenomics Pers Med.* 2017. 11. 1-5. doi: 10.2147/PGPM.S144503. eCollection 2018.
14. Zastrozhin M.S., Sorokin A.S., Agibalova T.V., Grishina E.A., Antonenko A.P., Rozochkin I.N., Duzhev D.V., Skryabin V.Y., Galaktionova T.E., Barna I.V., Orlova A.V., Aguzarov A.D., Savchenko L.M., Bryun E.A., Sychev D.A. Using a personalized clinical decision support system for bromdihydrochlorphenylbenzodiazepine dosing in patients with anxiety disorders based on the pharmacogenomic markers. *Hum Psychopharmacol.* 2018. 33(6). e2677. doi: 10.1002/hup.2677. Epub 2018 Oct 25.
15. Zhou S.F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2009. 48(11). 689-723. doi: 10.2165/11318030-000000000-00000.
16. Zigmund A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand.* 1983. 67(6). 361-70.

References.

1. Bertilsson L., Dahl M.L., Dalen P., Al-Shurbaji A. Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2002. 53(2). 111-122. doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01548.x
2. Boschloo L., Vogelzangs N., Smit J.H., van den Brink W., Veltman D.J., Beekman A.T., Penninx B.W. Comorbidity and risk indicators for alcohol use disorders among persons with anxiety and/or depressive disorders: findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *J Affect Disord.* 2011. 131(1-3). 233-42.
3. Busner J., Targum S.D. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont).* 2007. 4(7). 28-37.
4. D Empaire I., Guico-Pabia C.J., Preskorn S.H. Antidepressant treatment and altered CYP2D6 activity: are pharmacokinetic variations clinically relevant? *J Psychiatr Pract.* 2011. 17(5). 330-9. doi: 10.1097/01.pra.0000405363.95881.01.
5. Flannery B.A., Volpicelli J.R., Pettinati H.M. Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999. 23(8). 1289-1295.
6. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960. 23. 56-62.
7. Jiang X.L., Shen H.W., Yu A.M. Pinoline may be used as a probe for CYP2D6 activity. *Drug Metab Dispos.* 2009. 37(3). 443-6. doi: 10.1124/dmd.108.025056. Epub 2008 Dec 18.
8. Lingjaerde O., Ahlfors U.G., Bech P., Dencker S.J., Elgen K. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1987. 334. 1-100.
9. Neafsey P., Ginsberg G., Hattis D., Sonawane B. Genetic polymorphism in cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Population distribution of CYP2D6 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009. 12(5-6). 334-61. doi: 10.1080/10937400903158342.
10. Shiv G., Akhilesh J., Manaswi G. Guidelines for the Pharmacological Management of Depression. *Indian J Psychiatry.* 2017. 59(1). 34-50. doi:10.4103/0019-5545.196973.
11. Spear B.B., Heath-Chiozzi M., Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med.* 2001. 7(5). 201-204. PMID:11325631.
12. Zastrozhin M.S., Antonenko A.P., Nesterenko E.V., Seyfullaeva L.I., Mustafina V.R., Esakova A.P., Grishina E.A., Sorokin A.S., Skryabin V.Y., Savchenko L.M., Bryun E.A., Sychev D.A. Effects of CYP2C19*17 polymorphisms on the efficacy and safety of bromodigyrochlorophe-

- nylbenzodiazepine in patients with anxiety disorder and comorbid alcohol use disorder. *Drug Metab Pers Ther.* 2018. 33(4). 187-194. doi: 10.1515/dmpt-2018-0019.
13. Zastrozhin M.S., Grishina E.A., Ryzhikova K.A., Smirnov V.V., Savchenko L.M., Bryun E.A., Sychev D.A. The influence of CYP3A5 polymorphisms on haloperidol treatment in patients with alcohol addiction. *Pharmgenomics Pers Med.* 2017. 11. 1-5. doi: 10.2147/PGPM.S144503. eCollection 2018.
 14. Zastrozhin M.S., Sorokin A.S., Agibalova T.V., Grishina E.A., Antonenko A.P., Rozochkin I.N., Duzhev D.V., Skryabin V.Y., Galaktionova T.E., Barna I.V., Orlova A.V., Aguzarov A.D., Savchenko L.M., Bryun E.A., Sychev D.A. Using a personalized clinical decision support system for bromdihydrochlorphenylbenzodiazepine dosing in patients with anxiety disorders based on the pharmacogenomic markers. *Hum Psychopharmacol.* 2018. 33(6). e2677. doi: 10.1002/hup.2677. Epub 2018 Oct 25.
 15. Zhou S.F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2009. 48(11). 689-723. doi: 10.2165/11318030-000000000-00000.
 16. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand.* 1983. 67(6). 361-70.