

# Lithium pharmacogenetics. Two decades of studies

*Farmakogenetyka litu. Dwie dekady badań*

Maciej D. Sobczak<sup>1</sup>, Joanna M. Pawlak<sup>2</sup>



Received 15.04.2020

Accepted 16.05.2020

## AFFILIATION / AFILIACJA

1. Department of Adult Psychiatry, Poznan Teaching Hospital No 5, Poznan University of Medical Sciences, Poland
2. Department of Psychiatric Genetics, Department of Psychiatry, Poznan University of Medical Sciences, Poland

## KEYWORDS

- pharmacogenetics
- lithium
- genome-wide association study
- candidate genes
- copy number variants
- polygenic risk score

## SŁOWA KLUCZOWE

- farmakogenetyka
- lit
- badania asocjacyjne całego genomu
- geny kandydujące
- zmienność liczby kopii
- współczynnik ryzyka wielogenowego

## CORRESPONDENCE ADDRESS / ADRES DO KORESPONDENCJI

Maciej D. Sobczak  
Klinika Psychiatrii Dorosłych  
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu  
ul. Szpitalna 27/33, 60-572, Poznań, Poland  
email: [mdsobczak@gmail.com](mailto:mdsobczak@gmail.com)

## ABSTRACT

Pharmacogenetic research aims to elucidate associations of genetic variants and individual effects of pharmacotherapy. Personalised expected response to medications might be useful in prognosis for polygenetically determined disorders. In bipolar disorder (BP), that is partly hereditary polygenic disorder, a subgroup of patients excellently responding to lithium prophylaxis was described. During the last 20 years molecular technology allowed to investigate genome of patients treated with lithium and candidate association studies characterised them more precisely than clinical features. The role of several neurotransmitters' pathways, second messengers, neuroprotection involved genes and clock genes associations were discovered. Further laboratory technics development enables us to perform genome-wide association studies (GWAS) and polygenic risk score (PRS) analyses. We aimed to review research on genes involved in lithium treatment efficacy and safety. PubMed for English papers, articles published in Polish and reference lists from full-text available papers were searched. Pharmacogenetic findings for lithium treatment effects might help develop new personalised strategies and consequently better symptom reduction. So far, chronicity and recurrent course of bipolar disorder impair the functioning of numerous patients and strongly increase the risk of suicide.

## STRESZCZENIE

Badania farmakogenetyczne analizują związek uwarunkowań genetycznych z indywidualną reakcją na leki. Osobnicza odpowiedź na farmakoterapię może mieć szczególne znaczenie prognostyczne w przypadku chorób, w których patogenezie zidentyfikowano istotny udział czynników genetycznych. W odniesieniu do choroby afektywnej dwubiegunowej (*bipolar disorder*, BD), która jest schorzeniem o częściowo dziedzicznym, wielogenowym podłożu, wyodrębniona została specyficzna grupa pacjentów szczególnie dobrze odpowiadająca na leczenie litem. W ostatnim dwudziestoleciu techniki biologii molekularnej umożliwiły badanie chorych leczonych litem na poziomie genomu, a analizy asocjacyjne tzw. genów kandydujących rozwinęły dotychczasowe profilowanie tych pacjentów na podstawie specyficznych cech klinicznych. Pozytywne wyniki uzyskano, między innymi badając geny związane z układami neuroprzekaźników, wtórnych przekaźników, genów zaangażowanych w neuroprotekcję oraz w regulację

rytmów okołodobowych. Dalszy rozwój technik biologii molekularnej przyczynił się do zainicjowania badań *genome-wide association studies* (GWAS), w oparciu o które tworzone są analizy *polygenic risk score* (PRS). Niniejszy artykuł ma na celu przedstawienie przeglądu piśmiennictwa dotyczącego analiz polimorfizmów genów związanych z farmakologicznym mechanizmem działania litu. Autorzy opierali się głównie na publikacjach anglojęzycznych dostępnych w bazie PubMed, publikacjach polskojęzycznych oraz analizie referencji opracowań dostępnych jako pełne teksty. Wydaje się, że badania genetyczne podatności na leczenie litem pacjentów z diagnozą choroby afektywnej dwubiegunowej mogą skutkować wprowadzeniem nowych personalizowanych strategii terapeutycznych. Daje to nadzieję na skuteczniejszą redukcję objawów choroby, która – z uwagi na swój przewlekły i nawrotowy charakter – przyczynia się do znacznej inwalidyzacji chorych w codziennym funkcjonowaniu i obciążona jest wysokim ryzykiem samobójstwa.

## Introduction

### Pharmacogenetics as a field of research

Pharmacogenetics is a field of science which the main objective is to explain the relationship between genetic variability and the various responses to drugs. Such knowledge would enable to make therapeutic decisions that are more tailored to the individual needs and biological conditions of each patient (Budde *et al.*, 2017). The term was first used in 1950s (Vogel, 1959). Dynamic development of pharmacogenetics in the second half of the 20th century (Pirmohamed, 2001) has made significant progress in the so-called personalised medicine – the idea that variants of the same disease in different patients may require different diagnostic and therapeutic strategies. This is not a new concept in medicine, as its elements, such as commonly used family history, that are already in use are aimed at assessing the risk of developing a given disease. In order to facilitate making personalised diagnostic and therapeutic decisions, genomic databases are created that summarise information obtained by techniques of molecular genetics (Huser *et al.*, 2014). The individualisation of therapy based on genomic analyses is used in psychiatry, and specific biomarkers of drug responses are studied, among others, in patients with schizophrenia, depressive disorder, autism spectrum disorders or bipolar affective disorder (BP). The test results are particularly promising in the case of the latter (Stern *et al.*, 2018).

### Lithium in the prevention of recurrence in bipolar affective disorder

Bipolar affective disorder is a relatively common mental illness that occurs in 1–4.5% of the general population when considering both its classical form as well as type II and the so-called bipolar spectrum (Rybakowski 2018). Its chronic and recurrent nature significantly hampers the daily functioning of people affected by it, and the risk of suicide reaches 20% (Dome *et al.*, 2019). In the therapeutic management patients diagnosed with BP, the basic group of pharmaceuticals are first-generation mood stabilisers (lithium, valproates, carbamazepine) and second-generation mood stabilisers (lamotrigine, atypical antipsychotics) (Rybakowski, 2007; Rybakowski, 2015). Treatment with lithium seems to be particularly interesting in the context of individualised therapy. In 1999, Canadian psychiatrist, Paul Grof, identified a group of BP patients, which he named excellent lithium respondents. During the whole period of use of lithium as the only mood-stabilising drug (for 10 years and more), these patients did not experience any recurrence. This group constituted about 1/3 of all patients treated with lithium (Grof, 1999). Clinical profile of excellent lithium respondents, according to Grof, is characterised by an episodic course of the disease, i.e. episodes of mania and depression are separated by periods of total remission, during which patients return to full professional or family functioning. Other factors predicting effective prophylaxis with lithium are no co-existing mental disorder and positive family history for affective disorders (Grof, 2010).

Resistance to lithium was observed in BP patients with coexisting anxiety disorders (Trevor Young *et al.*, 1993) and alcohol or drug dependence (O'Connell *et al.*, 1991).

In their meta-analysis, Kleindienst *et al.* analysed 42 clinical features that could potentially have predictive value in relation to the response to lithium. The pattern of the disease: mania-depression-euthymia and old age of developing BP were the factors associated with a lower risk of relapse; in turn, a large number of hospitalisations before pharmacotherapy, the persistence of symptoms and the sequence of the disease: depression-mania-euthymia was associated with a poor response to prophylaxis. The authors have also identified 6 less powerful factors that are clearly related to the efficacy of lithium: isolated episodes, the occurrence of at least one psychotic episode of the disease not related to mood, high incidence of affective episodes, long interval between the first and second episode, axial symptoms of depression and coexisting personality disorders (Kleindienst *et al.*, 2005).

In the Polish population, the significance of clinical factors for efficacy of lithium was confirmed in 111 patients (76 women, 35 men) diagnosed with BP. Prophylactic efficacy was better in people with later onset of the disease, without the genetic burden of affective disease, having persons treated with lithium in the family, in women with co-existing anxiety disorders and in men who do not abuse alcohol (Kliwicki *et al.*, 2014).

The research also indicates a family transmission of predisposition to a favourable response to lithium treatment (Grof *et al.*, 2009; Grof *et al.*, 2002a). This drug is considered to have an anti-suicidal effect (Cipriani *et al.*, 2013) and many reports link also suicidal behaviour to polygenic background.

In 2008, on the initiative of, among others, the Poznań centre, an international group called the Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen) was established, one of the aims of which is to carry out research such as genome-wide association studies (GWAS) on a large group of patients treated with lithium for BP relapse prevention (Schulze *et al.*, 2010). The ConLiGen analyses so far have distinguished three subpopulations of patients taking lithium, introducing a group in which the therapeutic response is only partial, which would generate significant changes in the current dichotomous concept of efficacy this drug (Manchia *et al.*, 2013).

A retrospective assessment of the prophylactic efficacy of lithium is possible thanks to the so-called Alda scale introduced by Canadian researchers. Its criterion A measures on a scale from 0 to 10 the degree of clinical response (severity of disease symptoms at the appropriate dose of the drug). Criteria B1-B5 assess on a scale from 0 to 2 the causal connection between symptom remission and treatment, taking into account the number of episodes before treatment (B1), frequency of episodes before treatment (B2), duration of treatment (B3), adhering to the treatment during the period of remission (B4) and

taking additional drugs during the stabilisation period (B5). The final result is obtained by subtracting the points of criterion B from A. It is in the range from 0 to 10 (Grof *et al.*, 2002b).

### Aim and methodology of the paper

The aim of this paper is to review issues related to lithium pharmacogenetics, with particular emphasis on candidate gene studies and results using modern approaches: GWAS (genome-wide association studies) and PRS (polygenic risk score).

The authors relied mainly on English-language publications available in the PubMed database, Polish publications and the analysis of references of studies with full text available. The following phrases were used to search for the literature: lithium, lithium response, pharmacogenetics, lithium AND CNV, lithium AND candidate genes, lithium AND GWAS and lithium AND PRS. For candidate gene research, where the size of the test group was small, their results should be assessed carefully due to the low power of statistical analysis. The results obtained on small populations have little replicability.

### Candidate gene research. Single-nucleotide polymorphisms

One of the strategies of molecular research used in psychiatric genetics is the association analysis of the so-called candidate genes. These are the genes which, according to the hypotheses about the aetiology of the disease, could be involved in its aetiopathogenesis. The method consists in comparing the frequency of occurrence of specific gene alleles in a group of healthy people and patients. An allele may be associated with a disease if the frequency of its occurrence is higher in patients and the protein it encodes has an altered structure or expression and consequently does not perform its biological function properly (Hauser *et al.*, 2005). Individual differences in metabolism and drug elimination may also result from genetic variations. They affect the variability in the efficacy of treatment with a given substance and susceptibility to adverse reactions, which is the subject of pharmacogenetic studies. In human DNA, there are places that differ in individuals by a single nucleotide – such variability is referred to as the single nucleotide polymorphism (SNP). The SNP density is estimated at 1 per 100–300 base pairs, giving a total of 30 million SNP in the entire human genome (Hauser, Leszczyńska-Rodziejewicz, 2004).

Numerous pharmacogenetic studies were devoted to candidate genes associated with the lithium response and their variants.

In the serotonergic system, the relationship between polymorphism in the promoter region of the 5-HTTLPR (serotonin-transporter-linked polymorphic region)



(chromosome position 17q12) and the prophylactic effect of lithium has been demonstrated several times (Rybakowski *et al.*, 2005a; Serretti *et al.*, 2004; Serretti *et al.*, 2001). In the 2001 and 2005 studies, a worse response to lithium was found in patients with s/s genotype. On the other hand, the results published in 2004 showed a higher percentage of people with poor effect of lithium treatment among the group with l/l genotype. The link between the polymorphism of serotonin transporter and the prophylactic effect of lithium has not been confirmed in subsequent analyses (Manchia *et al.*, 2009; Michelon *et al.*, 2006).

In the dopaminergic system, the relationship to the lithium response for polymorphisms in the following genes was studied: *DRD1* (dopamine receptor D1), *DRD2* (dopamine receptor D2), *DRD3* (dopamine receptor D3) and *DAT1* (dopamine active transporter). No statistically significant association of genetic variations associated with dopaminergic transmission and efficacy of lithium prophylaxis has been demonstrated in the Sardinian population (Manchia *et al.*, 2009). The team from Poznań showed a relationship between *DRD1* polymorphism and the diagnosis of bipolar disorder (Dmitrzak-Weglarz *et al.*, 2006), and then obtained results suggesting a worse response to lithium in people with GG-genotype (Rybakowski *et al.*, 2009).

Polymorphisms, which previously showed a link with the diagnosis of bipolar disorder, were studied in mitochondrial DNA. In a small group of 54 patients the association of 10398 polymorphism with a response to lithium was found (Washizuka *et al.*, 2003).

Protein kinase Fyn indirectly influences glutamatergic neurotransmission by phosphorylation of NMDA receptor subunits (N-methyl-D-aspartate). There was a statistical trend towards a weaker response to lithium in individuals with TT genotype at position rs3730353 of the *FYN* gene. On the other hand, no significance has been demonstrated for the other two polymorphisms of this gene (Szczepankiewicz *et al.*, 2009).

Positive findings were obtained for *BCR* gene (breakpoint cluster region) (22q11) association with the efficacy of lithium, gene associated with the development of the nervous system and being expressed, among others, in the hippocampus (Masui *et al.*, 2008). The C allele of *XBPI* (X-box binding protein 1) was associated with a better response to lithium than in people with the G allele in the Japanese population (Masui *et al.*, 2006a). Twelve single-nucleotide polymorphisms in the stargazin gene (cacng2 channel gamma-2 subunit) (22q13) were also analysed. In two subgroups, five of these polymorphisms were found to be associated with the response to lithium (Silberberg *et al.*, 2008).

The Val66Met polymorphism of the *BDNF* gene (brain-derived neurotrophic factor), located on chromosome 11p13, has been extensively studied in relation to various aspects of affective disorders and schizophrenia.

In the group of 88 patients, a higher chance of effective lithium prophylaxis was found in patients with Val/Met genotype (Rybakowski *et al.*, 2005b). However, in studies conducted among other populations, the relationship between the *BDNF* variants and the lithium response has not been confirmed (Masui *et al.*, 2006b; Michelon *et al.*, 2006).

The Bremer team *et al.* conducted a study of 67 single-nucleotide polymorphisms located in eight genes: *BDNF*, *NTRK2* (Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase 2), *GRK3* (G Protein-Coupled Receptor Kinase 3), *GSK3 $\beta$*  (Glycogen Synthase Kinase 3 Beta), *IMPA1* (Inositol Monophosphatase 1), *IMPA2* (Inositol Monophosphatase 2), *INPPI* (Inositol Polyphosphate-1-Phosphatase) and *MARCKS* (Myristoylated Alanine Rich Protein Kinase C Substrate) in a group of 92 patients with excellent lithium response and 92 patients not responding to lithium prophylaxis. The association of polymorphisms rs1387923 and rs1565445 of *NTRK2* gene with lithium prophylaxis was found in patients with euphoric mania and without coexisting post-traumatic stress disorders and suicidal thoughts. The *NTRK2* gene encodes the Trkb receptor for BDNF. The *IPPL1* gene, encoding the enzyme involved in the phosphatidylinositol signalling pathway, has demonstrated a link to the efficacy of lithium in a group of patients with no history of suicidal thoughts (Bremer *et al.*, 2007).

The role of polymorphisms of the *NTRK2* gene was not confirmed in the study of the Polish population (Dmitrzak-Weglarz *et al.*, 2008). On the other hand, the analysis of *BDNF* gene variants in the same group gave positive association results for rs988748 and rs6265 polymorphisms (i.e. Val66Met mentioned above).

Studies conducted in the Chinese population of patients with BP type I diagnosis treated in monotherapy with valproate or lithium showed no association between the polymorphisms rs1387923 and rs1565445 of the *NTRK2* gene and the response to the treatment. However, the third of the polymorphisms studied, rs2769605, showed association with the effect of the treatment (Wang *et al.*, 2013).

The *NR1D1* gene (Nuclear Receptor Subfamily 1 Group D Member 1) encoding the Rev-Erba nuclear receptor is involved in the regulation of circadian rhythms. The relationship between its polymorphisms and the response to lithium has been demonstrated (Campos-de-Sousa *et al.*, 2010; McCarthy *et al.*, 2011). However, other polymorphisms of *NR1D1*, *CRY1* (Cryptochrome Circadian Regulator 1) and *GSK3 $\beta$*  genes, analysed by McCarthy's team, did not prove to be significant.

Genes of the so-called molecular clock were also the subject of interest of the Poznań centre, where analyses were performed in a group of 115 patients with bipolar disorders. Nine single-nucleotide polymorphisms of the *CLOCK* gene (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput), 18 SNPs of the *ARNTL* gene (Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator Like), 6 SNPs of the *TIMELESS* gene

(Timeless Homolog Gene) and 9 SNPs of the *PER3* gene (Period Circadian Clock 3) were genotyped. The association with lithium response was demonstrated for 6 SNPs and 3 haplotypes of the *ARNTL* gene and 2 SNPs and 1 haplotype of the *TIMELESS* gene (Rybakowski *et al.*, 2014).

Geoffroy *et al.* conducted pharmacogenetic analyses of 22 genes involved in circadian rhythms (including melatonin receptors 1a and 1b) in two independent cohorts of Caucasian BP patients (165 and 58 patients). A nominal association with the lithium response has been demonstrated for the SNP of the *PPARGC1A* (*PGC1*) (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha) gene in both groups and for the *RORA* (RAR-Related Orphan Receptor A) gene in the first group (Geoffroy *et al.*, 2016).

In several previously mentioned studies *GSK3 $\beta$*  polymorphisms were genotyped, but no significant associations were found. An association to the prophylactic treatment of lithium was demonstrated in a study by Benedetti *et al.* for SNP -50 T/C in the *GSK3 $\beta$*  gene promoter region (Benedetti *et al.*, 2005), but two subsequent studies, covering a larger and similar group (respectively), did not confirm this link (Michelon *et al.*, 2006; Szczepankiewicz *et al.*, 2006). However, there is indirect evidence linking the mechanism of lithium effect to the enzymatic activity of *GSK3 $\beta$* .

Another signalling pathway involved in the therapeutic effect of lithium is the cyclic adenosine-3',5'-monophosphate system (cAMP). The Mamdani *et al.* study performed on a group of 258 BPAD patients revealed the association of two SNPs of the *CREB* gene (cAMP Responsive Element-Binding Proteins) with the lithium response (Mamdani *et al.*, 2008).

### Search for CNV mutations

Polymorphism of copy number variations (CNV) is a term for DNA segments ranging from 1 kbp to several Mbp in which a variable number of copies were observed in the compared chromosome regions of different genomes. The CNVs may be deletions, insertions or more complex rearrangements (Scherer *et al.*, 2007). In the field of mental illnesses, the study of such variants mainly concerned autism spectrum disorders, schizophrenia and bipolar disorder. The rare CNVs (frequency <1%) of large sizes (> 100 kbp), which are younger in evolutionary terms, seem to be of particular pathogenic importance (Malhotra, Sebat, 2012) – they have been subject to selection and removal to a lesser extent, and thus are richer in harmful alleles (Tennesen *et al.*, 2012).

A study conducted in the Japanese population revealed the presence of amplification of genomic regions in exon IV of the *BDNF* gene in 5 out of 50 BP patients that were absent in the control group. In connection with the hypothesis of the influence of lithium on increasing *BDNF*

levels in the brain, the therapeutic response to lithium in patient groups with and without indicated CNV was compared using the Alda scale, however, no significant differences in therapeutic effect were detected (Suga *et al.*, 2019).

### Results of Genome-Wide Association Studies

The rapid technological progress of genetic research has opened up new opportunities for association research without presuming in advance which etiopathogenetic hypothesis of the disease we are referring to. Frequent polymorphisms of single nucleotides, distributed throughout the genome, are identified in the material taken for analysis. Approximately 0.5–1 million polymorphisms can be tested individually (Bush, Moore, 2012), and then statistical analysis allows to detect the relationship between the individual variants and the trait of interest. Such testing results build up a specific map of signals indicating the loci that contain the genes associated with the trait, including those that have not even been previously expected for linkage with the disease. Sometimes genomic regions with unknown function are indicated, or those whose previously described role was not associated with the subject currently studied. However, GWAS research presents serious challenges. According to the hypothesis “common disease-common variant”, many genetic variants contribute to genetic risk for most mental disorders (Bush, Moore, 2012). With regard to depression or schizophrenia, it is believed that hundreds or thousands of alleles and genes are involved (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium *et al.*, 2014; The International Schizophrenia Consortium, 2009). The effect of a single variant affects the risk of disease to a small extent, usually increasing it to 1.2–2 times the population risk ratio (Hindorff *et al.*, 2009). It is estimated that groups of 100,000 patients should be included in the study to obtain highly reliable results for depression (Hyman, 2014). With regard to pharmacogenetic characteristics, it is assumed that common alleles have individually greater effect (Malhotra, 2012). This allows, according to some authors, to lower the required threshold to 2500 probands (Hou *et al.*, 2016). Statistically significant are the results for which  $p < 5 \times 10^{-8}$  (Dudbridge, Gusnanto, 2008; Ioannidis *et al.*, 2009; Willour *et al.*, 2012).

The study published in 2011 included only 204 patients with a diagnosis of bipolar affective disorder treated with lithium (Squassina *et al.*, 2011). None of the SNPs examined by GWAS method reached a statistical significance for association with the treatment effect. The highest significance was demonstrated for the association of the variant located in the intron of the *ACCN1* gene (Amiloride-Sensitive Cation Channel 1, Neuronal). This gene encodes a sodium channel protein that is also permeable for lithium.

The participants in the STEP-BP study, conducted between 2001 and 2006, were included in the GWAS analysis on the lithium response published by Perlis *et al.* (Perlis *et al.*, 2009). The study group included 1177 patients. 1.4 million SNPs were genotyped, but none of them showed an association with the treatment result at the level of statistical significance for GWAS. Polymorphisms with the highest association values were found in chromosomes 10, 21, 12 and 6 ( $p < 5 \times 10^{-5}$ ). The significance level  $p < 5 \times 10^{-4}$  was reached by 140 SNPs, some of which was confirmed in the replication group. They were located in the genes: (1) the GluR2/GLURB glutamate ionotropic receptor subunit; (2) the Syndecan-2 membrane proteoglycan (involved in the formation of dendritic spines in the hippocampus); and (3) the Drosophila *ODZ4* homologue gene (involved in brain development).

In 2014, “The New England Journal of Medicine” published the results of a Taiwanese study on the response to lithium in bipolar affective disorder type I (Chen *et al.*, 2014). The study group consisted of 1761 patients, of whom 294 persons receiving lithium for a minimum of 2 years were first selected. In DNA samples 1814186 polymorphisms were genotyped. The effects of treatment were assessed by the Alda scale (Grof *et al.*, 2002a) and taken as the main cut-off point of 0–6 as the lack of good response to lithium and 7 and more points as a good response to treatment. The results were analysed twice in replication groups, including the results of a prospective observational study. Finally, the association of chromosome 3 region indicated by 2 polymorphisms (rs17026688 and rs17026651) with response to lithium treatment was found. These are polymorphisms located in the introns of the gene encoding protein 1 similar to glutamate decarboxylase (*GADLI*). The authors also detected a deletion in this region at IVS8+48delG position. These genetic variants showed strong linkage. The statistical significance of the results of Taiwan researchers is very convincing. Odds ratio for a positive response to lithium for the T allele rs17026688 was calculated at 111.87. The results indicate the significance of the genetic variant of an enzymatic protein similar to glutamate decarboxylase, although its role requires further research. This would confirm the conclusions of a study based on the STEP-BP cohort on the role of the glutaminergic pathway in response to lithium treatment. Unfortunately, the polymorphisms identified in the Taiwanese GWAS analysis are very rare in populations of European and African origin, which makes extrapolation of the results difficult.

In a cell culture-based study the role of *GADLI* was confirmed. The mechanism of interaction between lithium, *GADLI* gene and *KCTD12* gene (Potassium Channel Tetramerization Domain Containing 12) was revealed. Lithium, by inhibiting GSK-3, induced *KCTD12* expression in cells. In turn, overexpression of *GADLI* indirectly inhibited this process. In people who do not carry the T allele in rs17026688 of the *GADLI* gene, the expression

of this gene was higher and *KCTD12* was lower than in carriers of this allele, which may have contributed to the observed ineffectiveness of lithium treatment (Wu *et al.*, 2019).

The team of Hou *et al.* published a GWAS study on the response to lithium treatment, in which 2563 patients were included (Hou *et al.*, 2016). The effect of lithium used in the study group as the only mood stabiliser was assessed with the use of the Alda scale. Considering the results of treatment as a quantitative trait, a significant association was found with chromosome 21 region containing four SNPs (rs79663003, rs78015114, rs74795342 and rs75222709). All indicated SNPs are in linkage disequilibrium. Two long, non-coding RNA genes are located in this region. Their supposed role is to regulate gene expression in the central nervous system. The authors confirmed these results in a prospective observational study.

In a smaller subgroup of the same study, a link was found between the response to lithium and variant rs7833426. It is located in the intron of the *GFRA2* gene encoding the GDNF (Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Receptor) (Hou *et al.*, 2016), which may suggest a link with the postulated neuroprotective action of lithium.

#### Polygenic risk score (PRS)

A further step in the research strategy is the polygenic risk score analysis. On the basis of the GWAS results of the homogenous groups, data on thousands of patients is obtained for hundreds of thousands of single-nucleotide polymorphisms. The range of data allows selecting, by statistical analysis, the sets of polymorphisms (individually with small effect) which are characteristic of a given trait and to estimate their relative contribution to its shaping. Typically, many p-thresholds and numerous sets of polymorphisms are tested, including a variant covering all of them, to avoid omitting a polymorphism with a low effect but essential for the trait (Fabbri, Serretti, 2018). This method raises hopes for obtaining protocols for genetic testing (lists of genetic variants with known effect on the trait) for potential predictive use.

In 2016 the results of the GWAS study on a group of over 3000 patients and over eight thousand control subjects were published. The association between the response to lithium in bipolar disorder and the *SEC14* and *SESTD1* gene polymorphisms was demonstrated (Song *et al.*, 2016).

The Abé *et al.* team (Abé *et al.*, 2019) studied changes in the thickness of the cortex in several areas of the brain during bipolar affective disorder. The authors used the results from 2018 (eQTLGen Consortium *et al.*, 2019) to generate PRS-BD scores for the subjects. There was a link between changes in cortex thickness and PRS-BD in the medial occipital cortex and in the central sulcus. The patients who took lithium in this cohort did not differ



in terms of PRS-BD from those not treated with lithium. On the other hand, in patients treated with lithium a significant increase in the thickness of the medial occipital cortex and in the central sulcus was observed.

Bipolar affective disorder and schizophrenia are characterised by similar heritability values. The GWAS studies in these two diseases show that genetic predisposing factors partially overlap (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium *et al.*, 2014). It was analysed whether the PRS score obtained in a group of 36 989 patients with schizophrenia has a predictive value in relation to the effects of lithium treatment. The study included 2586 patients with bipolar disorders. It was found that the lower burden of variants predisposing to schizophrenia was associated with a better response to lithium in the course of BD (International Consortium on Lithium Genetics (ConLi+Gen) *et al.*, 2018).

The study of Coutts *et al.* was aimed at detecting the mechanism associated with maintaining the length of telomeres and the mechanism in which lithium shows anti-ageing effects. The relationship of 13 genes with the length of telomeres was demonstrated, and chronic use of lithium (over 4.5 years) was associated with their smaller shortening. The obtained PRS-telomere length ratio better reflected the variability of telomere length in the population treated chronically with lithium (Coutts *et al.*, 2019).

An interesting, but in a sense casuistic study was carried out using WES (whole-exome sequencing) method in a family of monozygotic twins with bipolar disorder, significantly different in terms of course and reaction to lithium. The relatives differed in terms of genetic variants of 6 genes (Neurofibromin 1; GGA3 protein; Neurokinin-1 receptor 2; *DISC-1*; *HIP1R* and *BOD1* genes). Most of these genes are involved in GABA- and glutaminergic neurotransmission (Jacobs *et al.* 2020).

A study from 2012 provided additional data on the anti-suicidal properties of lithium. The GWAS method was used to search for loci in the genome whose variability affects predisposition to suicidal behaviour. Analyses indicate to a region of chromosome 2p25 near to, among others, the *ACPI* gene (Acid Phosphatase 1). It is involved in the metabolism of beta-catenins and its overexpression has effects opposite to those of lithium, making this enzyme a functional candidate mediating the therapeutic effect of lithium (Willour *et al.*, 2012).

## Summary

The development of genetic, molecular and biochemical testing methods broadens the possibilities of precise determination of the endophenotype of BD and opens

the way to selecting “tailor-made” treatment for each patient individually. Lithium is one of the most important psychotropic drugs, and apart from its mood stabilising effects, researchers are interested in its anti-suicidal, immunomodulatory and neuroprotective effects. Its undeniable efficacy in the treatment of BD and still not fully understood mechanism of action inspires further research (Rybakowski, 2019).

Over the years of research on the genetically determined variability of the response to lithium, arguments have been gathered that its effectiveness is influenced by many gene variants. These are genes belonging to neurotransmitter systems: serotonergic (*5-HTTLPR* gene), dopaminergic (*DRD1* gene), glutaminergic (*FYN* gene); phosphatidylinositol second messenger system genes (*IPPL1* gene) and cAMP (*CREB* gene); genes involved in the regulation of circadian rhythms (*NR1D1*, *ARNTL*, *TIMELESS*, *PPARGC1A* (*PGC-1*), *RORA*), genes of proteins associated with neuroprotection (*BDNF*, *NTRK2*), nervous system development (*BCR*) and immunological processes (*XBPI*). The author of the 2013 review highlights the methodological limitations of testing candidate genes and indicates that the effect of single polymorphism on lithium response determines not more than 1–2% of the effect (Rybakowski, 2013). Hence the need for in-depth research on multigenic conditions. Such studies based on the GWAS method indicated the involvement of the following genes: *ACCN1* encoding a sodium channel protein, the GluR2/GLURB glutamate ionotropic receptor subunit, the Syndecan membrane proteoglycan, the *Drosophila ODZ4* homologue gene encoding protein 1 similar to *GADL1* glutamate decarboxylase and *GFRA2* encoding GDNF receptor. Therefore, pharmacogenetic determinants of lithium activity should be defined as multidirectional, interacting at different levels of neuronal activity and probably spread over time, just as the expression of involved genes is variable over time.

Consequently, the directions opening further research areas are analyses of gene expression change under the influence of lithium treatment, as in the research of Krebs *et al.* (Krebs *et al.*, 2019). Its important supplementation is the research enabling to track changes in different areas of the brain, which is achievable in animal models or neuroimaging studies.

The question of finding predictive biomarkers for the response to lithium (defined as theranostic biomarker) remains open (Weickert *et al.*, 2013).

It is to be hoped that the wider use of genetic methods in lithium therapy remains a matter of time and will translate into practical applications. Their use can contribute to reducing the size of the drug resistance problem in BD.

## Wstęp

### Farmakogenetyka jako dziedzina badań

Farmakogenetyka to dziedzina nauki, której głównym celem jest wyjaśnienie związku zmienności genetycznej z różnorodną odpowiedzią na leki. Wiedza ta umożliwiłaby podejmowanie decyzji terapeutycznych bardziej dopasowanych do indywidualnych potrzeb i biologicznych warunków poszczególnych pacjentów (Budde i wsp. 2017). Termin ten po raz pierwszy został użyty w latach 50. XX wieku (Vogel 1959). Dynamiczny rozwój farmakogenetyki w drugiej połowie XX wieku (Pirmohamed 2001) przyczynił się do osiągnięcia znacznych postępów w zakresie tzw. medycyny personalizowanej, czyli koncepcji zakładającej, że warianty tej samej choroby u różnych pacjentów mogą wymagać różnych strategii diagnostycznych i terapeutycznych. Nie jest to w medycynie nowa koncepcja, gdyż jej elementy już wcześniej wykorzystywane, jak np. powszechnie stosowany wywiad rodzinny, mają na celu ocenę ryzyka wystąpienia danej choroby. Aby ułatwić podejmowanie spersonalizowanych decyzji diagnostyczno-terapeutycznych, tworzone są genomowe bazy danych podsumowujące informacje uzyskane metodami genetyki molekularnej (Huser i wsp. 2014). Indywidualizacja terapii w oparciu o analizy genomowe znajduje zastosowanie w psychiatrii, a specyficzne biomarkery odpowiedzi na leki są badane m.in. u chorych na schizofrenię, zaburzenia depresyjne, zaburzenia ze spektrum autyzmu czy chorobę afektywną dwubiegunową (*bipolar disorder*, BD), i to właśnie w przypadku ostatniego z wymienionych schorzeń wyniki badań są szczególnie obiecujące (Stern i wsp. 2018).

### Lit w zapobieganiu nawrotom w chorobie afektywnej dwubiegunowej

Choroba afektywna dwubiegunowa jest względnie rozpowszechnionym schorzeniem psychicznym, które występuje u 1–4,5% ogólnej populacji, gdy weźmie się pod uwagę zarówno jej klasyczną formę, jak i typ II oraz tzw. spektrum choroby dwubiegunowej (Rybakowski 2018). Jej przewlekły i nawrotowy charakter w znacznym stopniu utrudnia codzienne funkcjonowanie osób nią dotkniętych, a ryzyko popełnienia samobójstwa sięga 20% przypadków (Dome i wsp. 2019). W postępowaniu terapeutycznym u chorych na BD podstawową grupą środków farmakologicznych są leki normotymiczne pierwszej generacji (lit, walproinian, karbamazepina) i drugiej generacji (lamotrygina, atypowe neuroleptyki) (Rybakowski 2007; Rybakowski 2015). Szczególnie interesujące w kontekście indywidualizacji terapii wydaje się leczenie litem. W 1999 roku kanadyjski psychiatra Paul Grof wyodrębnił wśród pacjentów z diagnozą BP grupę, którą nazwał *excellent lithium responders*. U tych pacjentów przez cały okres stosowania litu jako jedyne leku

normotymicznego (przez 10 lat i dłużej) nie występowały nawroty choroby. Stanowiła ona około 1/3 wszystkich chorych leczonych litem (Grof 1999). Profil kliniczny *excellent lithium responders*, według Grofa, charakteryzuje się epizodycznym przebiegiem choroby, tzn. epizody manii i depresji oddzielone są okresami całkowitej remisji, podczas której pacjenci powracają do pełnego funkcjonowania zawodowego czy rodzinnego. Innymi czynnikami prognozującymi skuteczną profilaktykę z zastosowaniem litu jest brak współistniejących chorób psychicznych oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku zaburzeń afektywnych (Grof 2010).

Lekooporność względem litu zaobserwowano natomiast u pacjentów z BD cierpiących dodatkowo na zaburzenia lękowe (Trevor Young i wsp. 1993) oraz uzależnionych od alkoholu lub narkotyków (O'Connell i wsp. 1991).

Kleindienst i współpracownicy w swojej metaanalizie rozpatrywali 42 cechy kliniczne, które potencjalnie mogłyby mieć wartość predykcyjną w odniesieniu do odpowiedzi na lit. Wzorzec przebiegu choroby: mania-depresja-eutymia oraz późny wiek zachorowania na BD stanowiły czynniki związane z mniejszym ryzykiem nawrotów choroby; z kolei duża liczba hospitalizacji przed farmakoterapią, stałe utrzymywanie się objawów oraz sekwencja przebiegu choroby: depresja-mania-eutymia wiązały się ze słabą odpowiedzią na profilaktykę. Autorzy wykazali dodatkowo 6 czynników o mniejszej sile, które wyraźnie wiążą się ze skutecznością litu: izolowane epizody, wystąpienie przynajmniej jednego niezwiązanego z nastrojem epizodu psychotycznego choroby, wysoka częstotliwość epizodów afektywnych, długa przerwa między pierwszym i drugim epizodem, osiowe objawy depresji oraz współwystępowanie zaburzeń osobowości (Kleindienst i wsp. 2005).

W polskiej populacji potwierdzono znaczenie czynników klinicznych dla efektywności litu w grupie 111 pacjentów (76 kobiet, 35 mężczyzn) z BD. Skuteczność profilaktyczna była lepsza u osób z późniejszym początkiem choroby, bez obciążenia genetycznego chorobą afektywną, posiadających w rodzinie osoby zażywające lit, u kobiet ze współwystępowaniem zaburzeń lękowych oraz u mężczyzn nienadużywających alkoholu (Kliwicki i wsp. 2014).

Badania wskazują także na rodzinną transmisję predyspozycji do korzystnej odpowiedzi na leczenie litem (Grof i wsp. 2009; Grof i wsp. 2002a). Lek ten uważany jest za lek o działaniu antyświadcującym (Cipriani i wsp. 2013), a wiele doniesień wiąże zachowania samobójcze z wielogenowym podłożem.

W 2008 roku, z inicjatywy między innymi poznańskiego ośrodka, powołano międzynarodową grupę The Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen), którego jednym z celów jest przeprowadzenie badań typu *genome-wide association studies* (GWAS) na dużej grupie pacjentów leczonych litem w profilaktyce BD (Schulze i wsp. 2010). Dotychczasowe analizy ConLiGen



wyodrębniają trzy subpopulacje chorych przyjmujących lit, wprowadzając grupę, w której odpowiedź terapeutyczna jest jedynie częściowa, co generowałoby istotne zmiany w dotychczasowej dychotomicznej koncepcji podatności na ten lek (Manchia i wsp. 2013).

Retrospektywną ocenę skuteczności profilaktycznego działania litu umożliwia wprowadzona przez kanadyjskich badaczy tzw. skala Aldy. Jej kryterium A mierzy w skali od 0 do 10 stopień odpowiedzi klinicznej (nasilenie objawów choroby przy odpowiedniej dawce leku). Kryteria B1–B5 w skali od 0 do 2 oceniają związek przyczynowy poprawy i leczenia, z uwzględnieniem liczby epizodów przed leczeniem (B1), częstotliwości epizodów przed leczeniem (B2), długości leczenia (B3), stosowania się do leczenia w okresie stabilizacji stanu psychicznego (B4) oraz przyjmowania dodatkowych leków w okresie stabilizacji (B5). Ostateczny wynik uzyskuje się przez odjęcie punktów kryterium B od A. Mieści się on w zakresie od 0 do 10 (Grof i wsp. 2002b).

### Cel i metodyka pracy

Celem niniejszej pracy jest przegląd zagadnień dotyczących farmakogenetyki litu, ze szczególnym uwzględnieniem badań genów kandydujących oraz wyników wykorzystujących nowoczesne podejścia: GWAS (*genome-wide association studies*) i PRS (*polygenic risk score*).

Autorzy opierali się głównie na publikacjach angielskich dostępnych w bazie PubMed, publikacjach polskojęzycznych oraz analizie referencji pełnotekstowo dostępnych opracowań. W wyszukiwaniu piśmiennictwa wykorzystano hasła: lithium, lithium response, pharmacogenetics, lithium AND CNV, lithium AND candidate genes, lithium AND GWAS oraz lithium AND PRS. W odniesieniu do badań genów kandydujących, w których liczebność badanej grupy była niewielka, należy ostrożnie oceniać ich wyniki ze względu na niską moc analiz statystycznych. Rezultaty uzyskane na populacjach mało licznych mają niewielką replikowalność.

### Badania genów kandydujących. Polimorfizmy pojedynczego nukleotydu

Jedną ze strategii badań molekularnych stosowanych w genetyce psychiatrycznej jest analiza asocjacyjna tak zwanych genów kandydujących. Są to geny, które, zgodnie z hipotezami etiologii choroby, mogłyby być zaangażowane w jej etiopatogenezę. Metoda polega na porównaniu częstości występowania określonych alleli genu w grupach osób zdrowych i chorych. Dany allel może mieć związek z chorobą, jeśli częstość jego występowania jest większa u osób chorych, a kodowane przez niego białko ma zmienioną strukturę lub ekspresję i w konsekwencji nie spełnia prawidłowo swojej biologicznej funkcji (Hauser i wsp. 2005). Międzyosobnicze różnice w metabolizmie i eliminacji leków również mogą

wynikać z wariantów genetycznych. Wpływają one na zmienność w zakresie efektywności leczenia daną substancją oraz podatność na wystąpienie objawów niepożądanych, co jest przedmiotem badań farmakogenetycznych. W ludzkim DNA występują miejsca, które różnią się u poszczególnych osób pojedynczym nukleotydem – taką zmienność określa się jako polimorfizm pojedynczych nukleotydów (*single nucleotide polymorphism*, SNP). Gęstość występowania SNP szacuje się na 1 na 100–300 par zasad, co daje łącznie 30 mln SNP w całym ludzkim genomie (Hauser, Leszczyńska-Rodziejewicz 2004).

Liczne badania farmakogenetyczne poświęcone były genom kandydującym związanym z odpowiedzią na lit i ich wariantom.

W zakresie układu serotonergicznego wykazano kilkakrotnie związek polimorfizmu w regionie promotorowym genu transportera serotoniny 5-HTTLPR (*serotonin-transporter-linked polymorphic region*) (lokalizacja chromosomowa 17q12) z profilaktycznym efektem litu (Rybakowski i wsp. 2005a; Serretti i wsp. 2004; Serretti i wsp. 2001). W badaniach z 2001 i 2005 roku stwierdzono gorszą odpowiedź na lit u osób z genotypem s/s. Natomiast wyniki opublikowane w 2004 r. wykazały większy odsetek osób o słabym efekcie leczenia litem wśród grupy z genotypem l/l. Związku polimorfizmu transportera serotoniny z działaniem profilaktycznym litu nie potwierdzono w późniejszych analizach (Manchia i wsp. 2009; Michelon i wsp. 2006).

W układzie dopaminergicznym badano związek z odpowiedzią na lit dla polimorfizmów w następujących genach: *DRD1* (*dopamine receptor D1*, receptor dopaminowy typu 1), *DRD2* (*dopamine receptor D2*, receptor dopaminowy typu 2), *DRD3* (*dopamine receptor D3*, receptor dopaminowy typu 3) oraz *DAT1* (*dopamine active transporter*, transporter dopaminy). W populacji Sardynii nie wykazano żadnej istotnej statystycznie asocjacji wariantów genetycznych związanych z przeżywalnością dopaminergicznym i efektywnością profilaktyki litem (Manchia i wsp. 2009). Zespół poznański wykazał związek polimorfizmu *DRD1* z diagnozą zaburzeń dwubiegunowych (Dmitrzak-Węglarz i wsp. 2006), a następnie uzyskał wyniki sugerujące gorszą odpowiedź na lit u osób z genotypem GG (Rybakowski i wsp. 2009).

W DNA mitochondrialnym badano polimorfizmy, które wcześniej wykazały związek z diagnozą zaburzeń dwubiegunowych. W niewielkiej grupie 54 pacjentów stwierdzono asocjację polimorfizmu 10398 z odpowiedzią na lit (Washizuka i wsp. 2003).

Kinaza białkowa Fyn pośrednio wpływa na neurotransmisję glutaminergiczną na drodze fosforylacji podjednostek receptora NMDA (N-methyl-D-aspartate, N-metylo-D-asparaginian). Stwierdzono trend statystyczny w kierunku słabszej odpowiedzi na lit u osób z genotypem TT w pozycji rs3730353 genu *FYN*. Natomiast w odniesieniu do dwu innych badanych polimorfizmów tego genu nie wykazano istotności (Szczepankiewicz i wsp. 2009).

Pozytywne wyniki uzyskano, gdy zbadano asocjacje z efektywnością litu genu *BCR* (*breakpoint cluster region*) (22q11), związanego z rozwojem układu nerwowego i ulegającego ekspresji m.in. w hipokampie (Masui i wsp. 2008). Allel C genu *XBPI* (*X-box binding protein 1*) był związany z lepszą odpowiedzią na lit niż u osób z allelem G w populacji japońskiej (Masui i wsp. 2006a). Analizie poddano także 12 polimorfizmów typu SNP w genie stargazyny (cacng2 podjednostka kanału wapniowego gamma-2) (22q13). W dwóch podgrupach badanych wykazano związek pięciu z tych polimorfizmów z odpowiedzią na lit (Silberberg i wsp. 2008).

Szeroko badany był polimorfizm Val66Met genu *BDNF* (*brain-derived neurotrophic factor*, neurotrofowy czynnik pochodzenia mózgowego), zlokalizowanego na chromosomie 11p13, w odniesieniu do różnych aspektów zaburzeń afektywnych i schizofrenii. W grupie 88 chorych stwierdzono większe szanse na skuteczną profilaktykę litem u pacjentów z genotypem Val/Met (Rybakowski i wsp. 2005b). Jednak w badaniach przeprowadzonych wśród innych populacji związek wariantów *BDNF* z odpowiedzią na lit nie został potwierdzony (Masui i wsp. 2006b; Michelon i wsp. 2006).

Zespół Bremera i wsp. przeprowadził badanie 67 polimorfizmów SNP zlokalizowanych w ośmiu genach: *BDNF*, *NTRK2* (*neurotrophic tyrosine receptor kinase type 2*), *GRK3* (*G-protein-coupled receptor kinase 3*), *GSK3β* (*glycogen synthase kinase-3β*, kinaza syntazy glikogenu 3 beta), *IMP1* (*inositol monophosphatase 1*, monofosfataza inozytoli 1), *IMP2* (*inositol monophosphatase 2*, monofosfataza inozytoli 2), *INPP1* (*inositol polyphosphate 1-phosphatase*) oraz *MARCKS* (*myristoylated alanine rich protein kinase C substrate*) w grupie 92 pacjentów z dobrą odpowiedzią na lit i 92 chorych niereagujących na profilaktykę litem. Stwierdzono asocjację polimorfizmów rs1387923 i rs1565445 genu *NTRK2* z profilaktyką litem u pacjentów z euforycznym przebiegiem manii i bez współwystępujących zaburzeń stresowych pourazowych i myśli samobójczych. Gen *NTRK2* koduje receptor Trkb dla *BDNF*. Gen *IPPL1*, kodujący enzym zaangażowany w szlak sygnałowy fosfatydyloinozytoli, wykazał związek z efektywnością litu w grupie pacjentów bez myśli samobójczych w wywiadzie (Bremer i wsp. 2007).

Rola polimorfizmów genu *NTRK2* nie została potwierdzona w badaniu populacji polskiej (Dmitrzak-Weglarz i wsp. 2008). Natomiast analiza wariantów genu *BDNF* w tej samej grupie dała pozytywne wyniki asocjacji dla polimorfizmów rs988748 oraz rs6265 (tj. wspomnianego wyżej Val66Met).

Badania przeprowadzone w populacji chińskiej pacjentów z diagnozą BD typu I, leczonych w monoterapii walproinianem lub litem, nie wykazały asocjacji między polimorfizmami rs1387923 i rs1565445 genu *NTRK2* a odpowiedzią na leczenie. Jednak trzeci z badanych polimorfizmów, rs2769605, wykazywał asocjację z efektem leczenia (Wang i wsp. 2013).

Gen *NR1D1* (*nuclear receptor subfamily 1 group D member 1*), kodujący receptor jądrowy Rev-Erba jest zaangażowany w regulację rytmów okołodobowych. Wykazano związek jego polimorfizmów z odpowiedzią na lit (Campos-de-Sousa i wsp. 2010; McCarthy i wsp. 2011). Jednak inne polimorfizmy genów *NR1D1*, *CRY1* (*cryptochrome circadian regulator 1*) i *GSK3β*, analizowane przez zespół McCarthy'ego, nie okazały się istotne.

Geny tzw. zegara molekularnego również były przedmiotem zainteresowania ośrodka poznańskiego, gdzie przeprowadzono analizy w grupie 115 chorych z zaburzeniami dwubiegunowymi. Genotypowano 9 SNP genu *CLOCK* (*circadian locomotor output cycle kaput*), 18 SNP genu *ARNTL* (*aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like*), 6 SNP genu *TIMELESS* (*timeless homolog gene*) i 9 SNP genu *PER3* (*period circadian clock 3*). Asocjację z odpowiedzią na lit wykazano dla 6 SNP i 3 haplotypów genu *ARNTL* oraz 2 SNP i 1 haplotypu genu *TIMELESS* (Rybakowski i wsp. 2014).

Geoffroy i współpracownicy przeprowadzili analizy farmakogenetyczne 22 genów zaangażowanych w rytmy dobowe (między innymi receptorów melatoniny 1a i 1b) w dwóch niezależnych kohortach pacjentów rasy kaukaskiej z BD (165 i 58 chorych). Nominalna asocjacja z odpowiedzią na lit została wykazana dla SNP genu *PPARGC1A* (*PGC-1*) (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha*) w obu grupach i dla genu *RORA* (*RAR-related orphan receptor alpha*) w grupie pierwszej (Geoffroy i wsp. 2016).

W kilku wcześniej wspomnianych badaniach genotypowano polimorfizmy *GSK3β*, jednak nie wykazano istotnych asocjacji. Związek z leczeniem profilaktycznym litem wykazano w badaniu Benedetti i wsp. dla SNP -50 T/C w regionie promotorowym genu *GSK3β* (Benedetti i wsp. 2005), jednak dwa późniejsze badania, obejmujące liczniejszą i zbliżoną grupę (odpowiednio), zależności tej nie potwierdziły (Michelon i wsp. 2006; Szczepankiewicz i wsp. 2006). Istnieją jednak pośrednie dowody łączące mechanizm działania litu z aktywnością enzymatyczną *GSK3β*.

Innym szlakiem sygnałowym zaangażowanym w efekt terapeutyczny litu jest układ cyklicznego adenozyno-3',5'-monofosforanu (cAMP). Badania Mamdani i współpracowników przeprowadzone na grupie 258 pacjentów z BD ujawniły związek dwóch SNP genu *CREB* (*cAMP response element-binding protein*) z odpowiedzią na lit (Mamdani i wsp. 2008).

### Poszukiwania mutacji typu CNV

Polimorfizm liczby kopii (CNV, *copy number variants*) to termin dotyczący segmentów DNA wielkości od 1 kbp do kilku Mbp, w których zaobserwowano zmienną liczbę kopii w porównywanych regionach chromosomowych różnych genomów. CNV mogą mieć charakter delecji, insercji lub bardziej złożonych rearanżacji (Scherer

i wsp. 2007). W dziedzinie chorób psychicznych badania takich wariantów dotyczyły głównie zaburzeń ze spektrum autyzmu, schizofrenii i choroby dwubiegunowej. Szczególne znaczenie patogenetyczne wydają się mieć rzadkie CNV (częstość <1%) o dużych rozmiarach (>100 kbp) (Malhotra, Sebat 2012), które są młodsze ewolucyjne, w mniejszym stopniu zostały poddane selekcji i usunięciu, więc są bogatsze w szkodliwe allele (Tennessen i wsp. 2012).

W badaniu przeprowadzonym w populacji japońskiej wykryto obecność amplifikacji regionów genomowych w eksonie IV genu *BDNF* u 5 na 50 chorych na BD, których nie wykazano w grupie kontrolnej. W związku z hipotezą o wpływie litu na zwiększanie poziomu *BDNF* w mózgu, wykorzystując skalę Aldy, porównano odpowiedź terapeutyczną na lit w grupach chorych z i bez wskazanego CNV, jednak nie wykryto istotnych różnic w efekcie terapeutycznym (Suga i wsp. 2019).

### Wyniki analiz Genome-Wide Association Studies

Szybki postęp technologiczny badań genetycznych otworzył nowe możliwości prowadzenia badań asocjacyjnych bez zakładania *a priori*, do jakiej hipotezy etiopatogenetycznej choroby się odnosimy. W materiale pobranym do analizy oznaczane są często występujące polimorfizmy pojedynczych nukleotydów, rozmieszczone w całym genomie. Jednorazowo badanych może być około 0,5–1 mln polimorfizmów (Bush, Moore 2012), a następnie przeprowadzana analiza statystyczna pozwala wykryć związek poszczególnych wariantów z badaną cechą. Uzyskuje się dzięki temu swoistą mapę sygnałów wskazujących loci mieszczące geny związane z cechą, w tym takie, których asocjacji z chorobą wcześniej nawet nie zakładano. Niekiedy wskazane zostają obszary genomu o nieznannej funkcji lub takie, których dotychczas opisana rola nie była wiązana z obszarem aktualnie badanym. Badania GWAS stawiają jednak poważne wyzwania. Zgodnie z hipotezą „częsta choroba / częsty wariant” ryzyko genetyczne w przypadku większości zaburzeń psychicznych jest współtworzone przez wiele wariantów genetycznych (Bush, Moore 2012). W odniesieniu do depresji czy schizofrenii mówi się o wpływie setek lub tysięcy alleli i genów (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium i wsp. 2014; The International Schizophrenia Consortium 2009). Efekt pojedynczego wariantu wpływa na ryzyko zachorowania w niewielkim stopniu, zwiększając je zazwyczaj do 1,2–2 wartości ryzyka populacyjnego (Hindorff i wsp. 2009). Szacuje się, że dla uzyskania wysoce wiarygodnych wyników w przypadku depresji do badania włączać należy grupy liczące 100 000 pacjentów (Hyman 2014). W odniesieniu do cech farmakogenetycznych przypuszcza się, że częste allele wnoszą pojedynczo większy efekt (Malhotra 2012). Pozwala to, zdaniem niektórych autorów, obniżyć wymagany próg do 2500 badanych (Hou i wsp. 2016).

Za istotne statystycznie uznaje się wyniki, dla których  $p < 5 \times 10^{-8}$  (Dudbridge, Gusnanto 2008; Ioannidis i wsp. 2009; Willour i wsp. 2012).

Praca opublikowana w 2011 r. obejmowała grupę zaledwie 204 chorych z diagnozą zaburzeń afektywnych dwubiegunowych leczonych litem (Squassina i wsp. 2011). Żaden z SNP badanych metodą GWAS nie osiągnął istotnego poziomu asocjacji z efektem leczenia. Najwyższą istotność wykazano dla związku wariantu zlokalizowanego w intronie genu *ACCN1* (*amiloride-sensitive cation channel 1, neuronal*). Gen ten koduje białko kanału sodowego przepuszczalnego także dla litu.

Uczestnicy badania STEP-BP, prowadzonego w latach 2001–2006, zostali włączeni do analizy GWAS dotyczącej odpowiedzi na lit, opublikowanej przez Perlisa i wsp. (Perlis i wsp. 2009). Grupa badana obejmowała 1177 chorych. Genotypowano 1,4 miliona SNP, ale żaden nie wykazał związku z wynikiem leczenia na poziomie istotności statystycznej dla GWAS. Polimorfizmy o najwyższych wartościach asocjacji wykazano w chromosomach 10, 21, 12 i 6 ( $p < 5 \times 10^{-5}$ ). Poziom istotności  $p < 5 \times 10^{-4}$  osiągnęło 140 SNP, z czego część potwierdzono w grupie replikacyjnej. Były one zlokalizowane w genach: 1) podjednostki jonotropowego receptora glutaminergicznego *GluR2/GLURB*; 2) proteoglikanu błonowego *Syndecan-2* (biorącego udział w formowaniu kolców dendrytycznych w hipokampie) oraz 3) w genie homologicznym z *Drosophila ODZ4* (uczestniczącym w rozwoju mózgu).

„The New England Journal of Medicine” opublikował w 2014 roku wyniki tajwańskiego badania odpowiedzi na lit w zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych typu I (Chen i wsp. 2014). Grupa badana obejmowała 1761 pacjentów, spośród których wytypowano najpierw 294 osoby otrzymujące lit przez minimum 2 lata. W próbkach DNA genotypowano 1814186 polimorfizmów. Efekty leczenia oceniano skalą Aldy (Grof i wsp. 2002a) i przyjęto za główny punkt odcięcia wartości 0–6 jako brak dobrej odpowiedzi na lit oraz 7 i więcej punktów jako dobrą odpowiedź na leczenie. Wyniki poddano dwukrotnie analizie w grupach replikacyjnych, w tym biorąc pod uwagę wyniki obserwacji prospektywnej. Finalnie stwierdzono asocjację odpowiedzi na leczenie litem z regionem chromosomu 3 wskazanym przez 2 polimorfizmy (*rs17026688* i *rs17026651*). Są to polimorfizmy zlokalizowane w intronach genu kodującego białko podobną do dekarboksylazy glutaminianu (*GADLI*). Autorzy pracy wykryli ponadto w tym rejonie delecję w pozycji *IVS8+48delG*. Wymienione warianty genetyczne wykazywały silne sprzężenie. Istotność statystyczna rezultatów badaczy z Tajwanu jest bardzo przekonująca. Iloraz szans pozytywnej odpowiedzi na lit dla allelu T *rs17026688* wliczono na 111,87. Wyniki wskazują na znaczenie formy genetycznej białka o podobnych właściwościach enzymatycznych do dekarboksylazy glutaminianu, choć jego rola wymaga dalszych badań. To potwierdzałoby wnioski z badania opartego na kohorcie ze STEP-BP o roli szlaku



glutaminergicznego w reakcji na leczenie litem. Niestety, polimorfizmy wskazane w tajwańskiej analizie GWAS są bardzo rzadkie w populacjach pochodzenia europejskiego i afrykańskiego, co utrudnia ekstrapolację wyników.

Natomiast w badaniu opartym na hodowlach komórkowych rola *GADL1* znajduje potwierdzenie. Ujawniono mechanizm interakcji między litem, genem *GADL1* i genem *KCTD12* (*potassium channel tetramerization domain containing 12*). Lit, przez inhibicję GSK-3 indukował ekspresję *KCTD12* w komórkach. Z kolei nadekspresja *GADL1* pośrednio hamowała ten proces. U osób niebędących nosicielami allelu T w rs17026688 genu *GADL1* ekspresja tego genu była wyższa, a *KCTD12* niższa niż u nosicieli, co mogło wpływać na obserwowany brak skuteczności leczenia litem (Wu i wsp. 2019).

Zespół Hou i wsp. opublikował badania GWAS dotyczące odpowiedzi na leczenie litem, w których wzięło udział 2563 pacjentów (Hou i wsp. 2016). Efekt działania litu, stosowanego w badanej grupie jako jedyny stabilizator nastroju, oceniano skalą Aldy. Biorąc pod uwagę wyniki leczenia jako cechę ilościową, stwierdzono istotny związek z regionem chromosomu 21 zawierającym cztery SNP (rs79663003, rs78015114, rs74795342 i rs75222709). Wszystkie wskazane SNP są sprzężone. W regionie tym zlokalizowane są dwa geny długich, niekodujących RNA. Ich przypuszczalna rola dotyczy regulacji ekspresji genów w centralnym układzie nerwowym. Przytoczone wyniki autorzy potwierdzili w obserwacji prospektywnej.

W mniejszej podgrupie tego samego badania stwierdzono związek odpowiedzi na lit z wariantem rs7833426. Leży on w intronie genu *GFRA2*, kodującego receptor GDNF (*glial cell line-derived neurotrophic factor receptor*) (Hou i wsp. 2016), co może sugerować związek z postulowanym neuroprotektynym działaniem litu.

### Poligenic risk score (PRS)

Dalszym krokiem w strategii badawczej są analizy *poligenic risk score*. Na podstawie wyników GWAS grup badanych o wspólnej diagnozie uzyskuje się dane obejmujące tysiące chorych, dotyczące setek tysięcy polimorfizmów SNP. Zakres danych pozwala na drodze obliczeniowej wytypować zespoły polimorfizmów (pojedynczo o małym efekcie), które są charakterystyczne dla danej cechy i oszacować ich względny wkład w jej kształtowanie. Zazwyczaj testuje się wiele progów istotności *p* i liczne zespoły polimorfizmów, włącznie z wariantem obejmującym je wszystkie, aby uniknąć pominięcia polimorfizmu o niskim efekcie, ale zasadniczym dla cechy (Fabbri, Serretti 2018). Metoda ta rodzi nadzieję na uzyskanie protokołów badania genetycznego (listy wariantów genetycznych o znanym wpływie na cechę) do potencjalnego zastosowania predykcyjnego.

W 2016 roku opublikowano rezultaty badania GWAS przeprowadzonych na grupie ponad 3000 pacjentów i ponad ośmiotysięcznej grupie kontrolnej. Wykazano

związek odpowiedzi na lit w zaburzeniach dwubiegunowych z polimorfizmami genu *SEC14* oraz *SESTD1* (Song i wsp. 2016).

Zespół Abé i wsp. (Abé i wsp. 2019) badał zmiany grubości kory w poszczególnych obszarach mózgu w przebiegu zaburzeń afektywnych dwubiegunowych. Autorzy posłużyli się rezultatami z 2018 roku (eQTLGen Consortium i wsp. 2019), aby wygenerować współczynniki PRS-BP dla osób badanych. Stwierdzono korelację pomiędzy zmianami grubości kory i PRS-BP w przyśrodkowej korze potylicznej oraz w bruzdzie środkowej. Chorzy, którzy przyjmowali lit w tej kohorcie, nie różnili się w zakresie PRS-BP od osób nieleczonych litem. Natomiast u osób leczonych litem stwierdzono znaczący przyrost grubości przyśrodkowej kory potylicznej i w bruzdzie środkowej.

Zaburzenia afektywne dwubiegunowe i schizofrenia cechują się zbliżonymi wartościami odziedziczalności. Z badań GWAS w tych dwóch jednostkach chorobowych wynika, że genetyczne czynniki predysponujące częściowo się nakładają (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium i wsp. 2014). Analizowano, czy współczynnik PRS uzyskany w grupie 36 989 pacjentów ze schizofrenią ma wartość predykcyjną w odniesieniu do efektów leczenia litem. Do badania włączono 2586 chorych z zaburzeniami dwubiegunowymi. Stwierdzono, że niższe obciążenie wariantami predysponującymi do schizofrenii było związane z lepszą odpowiedzią na lit w przebiegu BP (International Consortium on Lithium Genetics (ConLi+Gen) i wsp. 2018).

Badanie Coutts i wsp. miało na celu wykrycie mechanizmu związanego z utrzymywaniem długości telomerów i mechanizmu, w jakim lit wykazuje działanie przeciwstarzeniowe. Wykazano związek 13 genów z długością telomerów, a przewlekłe przyjmowanie litu (powyżej 4,5 roku) było związane z ich mniejszym skracaniem. Uzyskany współczynnik PRS–długość telomerów lepiej odzwierciedlał zmienność długości telomerów w populacji chronicznie leczonej litem (Coutts i wsp. 2019).

Interesujące, aczkolwiek w pewnym sensie kazuistyczne badanie przeprowadzono metodą WES (*whole-exome sequencing*, sekwencjonowania eksomu) w rodzinie bliźniaków monozygotycznych chorych na zaburzenia dwubiegunowe, znacznie różniących się pod względem przebiegu i reakcji na lit. Krewni różnili się w zakresie wariantów genetycznych 6 genów (neurofibromina typu 1; białka GGA3; receptor typu 2 neuromedyny U; geny *DISC-1*; *HIP1R* oraz *BOD1*). Większość z tych genów bierze udział w neuroprzekaznictwie GABA- i glutaminergicznym (Jacobs i wsp. 2020).

Dodatkowych danych o działaniu litu jako leku o efekcie przeciwsuicydalnym dostarczyło badanie z 2012 roku. Metodą GWAS poszukiwano loci w genomie, których zmienność wpływa na predyspozycję do zachowań samobójczych. Analizy wskazują na obszar chromosomu 2p25 sąsiadujący m.in. z genem *ACPI* (*acid phosphatase 1*, kwaśna fosfataza 1). Jest ona zaangażowana

w metabolizm beta-katenin i jej nadekspresja wywołuje efekty przeciwne do działania litu, co czyni ten enzym funkcjonalnym kandydatem pośredniczącym w leczniczym efekcie litu (Willour i wsp. 2012).

## Podsumowanie

Rozwój metod badań genetycznych, molekularnych i biochemicznych poszerza możliwości w zakresie dokładnego określenia endofenotypu BD i otwiera drogę do dobierania leczenia „skrojonego na miarę” indywidualnie każdemu pacjentowi. Lit jest jednym z najważniejszych leków psychotropowych, a zainteresowanie badaczy, obok efektu normotymicznego, budzi jego działanie przeciwsamobójcze, immunomodulacyjne i neuroprotektoryjne. Jego niezaprzeczalna skuteczność w leczeniu BD i wciąż nie do końca poznany mechanizm działania stanowią inspirację do prowadzenia dalszych badań (Rybakowski 2019).

W ciągu lat badań nad uwarunkowaną genetycznie zmiennością reakcji na lit zebrano argumenty za tym, że na jego efektywność wpływa wiele wariantów genów. Są to geny należące do układów neuroprzekaznikowych: serotonergicznego (gen *5-HTTLPR*), dopaminergicznego (gen *DRD1*), glutaminergicznego (gen *FYN*); geny układu wtórnych przekazników fosfatydyloinozytolu (gen *IPPL1*) i cAMP (gen *CREB*); geny zaangażowane w regulację rytmów okołodobowych (*NR1D1*, *ARNTL*, *TIMELESS*, *PPARGCIA* (*PGC-1*), *RORA*), geny białek związanych z neuroprotekcją (*BDNF*, *NTRK2*), rozwojem układu nerwowego (*BCR*) i procesami immunologicznymi (*XBPI*). Autor przeglądu z 2013 roku podkreśla ograniczenia

metodologiczne badań genów kandydujących i wskazuje, że udział pojedynczego polimorfizmu w skuteczności litu w najlepszym razie warunkuje 1–2% efektu (Rybakowski 2013). Wynika stąd potrzeba dogłębnych badań wielogenowych uwarunkowań. Takie badania oparte na metodzie GWAS wskazały na zaangażowanie następujących genów: *ACCN1* kodującego białko kanału sodowego, podjednostki jonotropowego receptora glutaminergicznego *GluR2/GLURB*, proteoglikanu błonowego *Syndecan*, genu homologicznego z *Drosophila ODZ4*, kodującego proteinę 1 podobną do dekarboksylazy glutaminianu *GADLI* oraz *GFRA2* kodującego receptor *GDNF*. Należy więc określić uwarunkowania farmakogenetyczne działania litu jako wielokierunkowe, oddziałujące na różnych poziomach aktywności neuronów i prawdopodobnie rozłożone w czasie, podobnie jak zmienna w czasie jest ekspresja znaczących genów.

Konsekwentnie więc – kierunki otwierające dalsze obszary badawcze to analizy zmiany ekspresji genów pod wpływem leczenia litem, jak w badaniach Krebs i wsp. (Krebs i wsp. 2019). Ich ważnym uzupełnieniem są badania umożliwiające śledzenie zmian w różnych obszarach mózgu, co jest osiągalne w modelach zwierzęcych czy badaniach neuroobrazowych.

Otwarta pozostaje nadal kwestia znalezienia biomarkerów predykcyjnych dla odpowiedzi na lit (definiowanych jako *theranostic biomarker* (Weickert i wsp. 2013).

Należy mieć nadzieję, że szersze zastosowanie metod genetycznych w terapii litem pozostaje kwestią czasu i przełoży się na zastosowania praktyczne. Ich wykorzystanie przyczynić się może do zmniejszenia rozmiaru problemu lekooporności w BD.

Conflict of interest and non declared. / Nie zgłoszono konfliktu interesów.

The work was created as part of a grant funded by the National Science Centre No 2016/21/B/NZ5/00148. / Praca powstała w ramach grantu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki nr 2016/21/B/NZ5/00148.

The work described in this article has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, and Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. / Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

Authors' contributions / Wkład autorów: MS – co-author of the concept of the article, data collection and interpretation, literature search, writing and acceptance of the final version of the article / współautor koncepcji pracy, zebranie i interpretacja danych, zebranie piśmiennictwa, redagowanie i akceptacja ostatecznej wersji pracy do publikacji; JP – co-author of the

work concept, preparation of the work plan, data collection and interpretation, critical review for relevant intellectual content, supplementation of the literature, text editing and acceptance of the final version for publication / współautorka koncepcji pracy, przygotowanie planu pracy, zebranie i interpretacja danych, krytyczne zrecenzowanie pod kątem istotnej zawartości intelektualnej, uzupełnienie piśmiennictwa, redakcja tekstu i akceptacja ostatecznej wersji do publikacji

## References / Piśmiennictwo:

1. Abé C, Liberg B, Song J, Bergen SE, Petrovic P, Ekman CJ *et al.* Longitudinal Cortical Thickness Changes in Bipolar Disorder and the Relationship to Genetic Risk, Mania, and Lithium Use. *Biological Psychiatry* 2019; S0006322319316270.
2. Benedetti F, Serretti A, Pontiggia A, Bernasconi A, Lorenzi C, Colombo C *et al.* Long-term response to lithium salts in bipolar illness is influenced by the glycogen synthase kinase 3-β -50 T/C SNP. *Neuroscience Letters* 2005; 376: 51–55.
3. Bremer T, Diamond C, McKinney R, Shekhtman T, Barrett TB, Herold C *et al.* The Pharmacogenetics of Lithium

- Response Depends upon Clinical Co-Morbidity. *Mol Diag Ther* 2007; 11: 161–170.
4. Budde M, Degner D, Brockmüller J, Schulze TG. Pharmacogenomic aspects of bipolar disorder: An update. *European Neuropsychopharmacology* 2017; 27: 599–609.
  5. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol* 2012; 8:e1002822.
  6. Campos-de-Sousa S, Guindalini C, Tondo L, Munro J, Osborne S, Floris G *et al.* Nuclear Receptor *Rev-Erb- $\alpha$*  Circadian Gene Variants and Lithium Carbonate Prophylaxis in Bipolar Affective Disorder. *J Biol Rhythms* 2010; 25: 132–137.
  7. Chen C-H, Lee C-S, Lee M-TM, Ouyang W-C, Chen C-C, Chong M-Y *et al.* Variant GADL1 and response to lithium therapy in bipolar I disorder. *N Engl J Med* 2014; 370: 119–128.
  8. Cipriani A, Hawton K, Stockton S, Geddes JR. Lithium in the prevention of suicide in mood disorders: updated systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2013; 346: f3646–f3646.
  9. Coutts F, Palmos AB, Duarte RRR, de Jong S, Lewis CM, Dima D *et al.* The polygenic nature of telomere length and the anti-ageing properties of lithium. *Neuropsychopharmacology* 2019; 44: 757–765.
  10. Dmitrzak-Weglarz M, Rybakowski JK, Słopian A, Czerski PM, Leszczynska-Rodziewicz A, Kapelski P *et al.* Dopamine receptor D1 gene -48A/G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a Polish population. *Neuropsychobiology* 2006; 53: 46–50.
  11. Dmitrzak-Weglarz M, Rybakowski JK, Suwalska A, Skibinska M, Leszczynska-Rodziewicz A, Szczepankiewicz A *et al.* Association studies of the BDNF and the NTRK2 gene polymorphisms with prophylactic lithium response in bipolar patients. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 1595–1603.
  12. Dome P, Rihmer Z, Gonda X. Suicide Risk in Bipolar Disorder: A Brief Review. *Medicina (Kaunas)* 2019; 55. DOI: 10.3390/medicina55080403.
  13. Dudbridge F, Gusnanto A. Estimation of significance thresholds for genomewide association scans. *Genet Epidemiol* 2008; 32: 227–234.
  14. eQTLGen Consortium, BIOS Consortium, the Bipolar Disorder Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Stahl EA, Breen G, Forstner AJ *et al.* Genome-wide association study identifies 30 loci associated with bipolar disorder. *Nat Genet* 2019; 51: 793–803.
  15. Fabbri C, Serretti A. Clinical application of antidepressant pharmacogenetics: Considerations for the design of future studies. *Neuroscience Letters* 2018; 133651.
  16. Geoffroy PA, Etain B, Lajnef M, Zerdazi E-H, Brichant-Petitjean C, Heilbronner U *et al.* Circadian genes and lithium response in bipolar disorders: associations with PPARGC1A (PGC-1 $\alpha$ ) and RORA: Circadian genes and lithium response. *Genes, Brain and Behavior* 2016; 15: 660–668.
  17. Grof P. Excellent lithium responders: people whose lives have been changed by lithium prophylaxis. W: *Lithium: 50 Years of Psychopharmacology*. Birch NJ, Gallicchio VS, Becker RW (red.): Weidner Publishing Group, Cheshire 1999, 365–1.
  18. Grof P. Sixty Years of Lithium Responders. *NPS* 2010; 62: 8–16.
  19. Grof P, Duffy A, Alda M, Hajek T. Lithium response across generations. *Acta Psychiatr Scand* 2009; 120: 378–385.
  20. Grof P, Duffy A, Cavazzoni P, Grof E, Garnham J, MacDougall M *et al.* Is response to prophylactic lithium a familial trait? *J Clin Psychiatry* 2002a; 63: 942–947.
  21. Grof P, Duffy A, Cavazzoni P, Grof E, Garnham J, MacDougall M *et al.* Is response to prophylactic lithium a familial trait? *J Clin Psychiatry* 2002b; 63: 942–947.
  22. Hauser J, Leszczyńska-Rodziewicz A. Farmakogenetyka leków przeciwpsychotycznych. *Psychiatria* 2004; 1: 81–89.
  23. Hauser J, Leszczyńska-Rodziewicz A, Skibińska M. Wspólne podłoże genetyczne schizofrenii i choroby afektywnej dwubiegunowej? *Psychiatria* 2005; 2: 145–153.
  24. Hindorf LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS *et al.* Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009; 106: 9362–9367.
  25. Hou L, Heilbronner U, Degenhardt F, Adli M, Akiyama K, Akula N *et al.* Genetic variants associated with response to lithium treatment in bipolar disorder: a genome-wide association study. *Lancet* 2016; 387: 1085–1093.
  26. Huser V, Sincan M, Cimino JJ. Developing genomic knowledge bases and databases to support clinical management: current perspectives. *Pharmacogenomics Pers Med* 2014; 7: 275–283.
  27. Hyman S. Mental health: Depression needs large human-genetics studies. *Nature* 2014; 515: 189–191.
  28. International Consortium on Lithium Genetics (ConLi+Gen), Amare AT, Schubert KO, Hou L, Clark SR, Papiol S, *et al.* Association of Polygenic Score for Schizophrenia and HLA Antigen and Inflammation Genes With Response to Lithium in Bipolar Affective Disorder: A Genome-Wide Association Study. *JAMA Psychiatry* 2018; 75: 65–74.
  29. Ioannidis JPA, Thomas G, Daly MJ. Validating, augmenting and refining genome-wide association signals. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 318–329.
  30. Jacobs A, Hagin M, Shugol M, Shomron N, Pillarad N, Fañanás L *et al.* The black sheep of the family- whole-exome sequencing in family of lithium response discordant bipolar monozygotic twins. *European Neuropsychopharmacology* 2020; 34: 19–27.
  31. Kleindienst N, Engel R, Greil W. Which clinical factors predict response to prophylactic lithium? A systematic review for bipolar disorders. *Bipolar Disorders* 2005; 7: 404–417.
  32. Kliwicki S, Chłopocka-Woźniak M, Rudnicka E, Rybakowski JK *et al.* Skuteczność długoterminowego stosowania litu w chorobie afektywnej dwubiegunowej. *Farmakoterapia w Psychiatrii i Neurologii*, 2014; 1: 5–13.
  33. Krebs CE, Ori APS, Vreeker A, Wu T, Cantor RM, Boks MPM *et al.* Whole blood transcriptome analysis in bipolar disorder reveals strong lithium effect. *Psychol Med* 2019; 1–12.
  34. Malhotra AK. Association Between Common Variants Near the Melanocortin 4 Receptor Gene and Severe Antipsychotic Drug-Induced Weight Gain. *Arch Gen Psychiatry* 2012; 69: 904.
  35. Malhotra D, Sebat J. CNVs: Harbingers of a Rare Variant Revolution in Psychiatric Genetics. *Cell* 2012; 148: 1223–1241.
  36. Mamdani F, Alda M, Grof P, Young LT, Rouleau G, Turecki G. Lithium Response and Genetic Variation in the CREB Family of Genes. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 147B: 500–504.
  37. Manchia M, Adli M, Akula N, Arda R, Aubry J-M, Backlund L *et al.* Assessment of Response to Lithium Maintenance Treatment in Bipolar Disorder: A Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen) Report. *PLoS ONE* 2013; 8:e65636.
  38. Manchia M, Congiu D, Squassina A, Lampus S, Arda R, Chillotti C *et al.* No association between lithium full responders and the DRD1, DRD2, DRD3, DAT1, 5-HTTLPR and HTR2A genes in a Sardinian sample. *Psychiatry Research* 2009; 169: 164–166.
  39. Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S *et al.* A possible association between the -116C/G single nucleotide polymorphism of the XBP1 gene and lithium



- prophylaxis in bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2006a; 9: 83–88.
40. Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, *et al.* Lithium response and Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene in Japanese patients with bipolar disorder. *Psychiatric Genetics* 2006b; 16: 49–50.
  41. Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S *et al.* A possible association between missense polymorphism of the breakpoint cluster region gene and lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2008; 32: 204–208.
  42. McCarthy MJ, Nievergelt CM, Shekhtman T, Kripke DF, Welsh DK, Kelsoe JR. Functional genetic variation in the Rev-Erb  $\alpha$  pathway and lithium response in the treatment of bipolar disorder. *Genes, Brain and Behavior* 2011; 10: 852–861.
  43. Michelon L, Meira-Lima I, Cordeiro Q, Miguita K, Breen G, Collier D *et al.* Association study of the INPPI, 5HTT, BDNF, AP-2 $\beta$  and GSK-3 $\beta$  GENE variants and retrospectively scored response to lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Neuroscience Letters* 2006; 403: 288–293.
  44. O'Connell RA, Mayo JA, Flatow L, Cuthbertson B, O'Brien BE. Outcome of Bipolar Disorder on Long-Term Treatment with Lithium. *The British Journal of Psychiatry* 1991; 159: 123–129.
  45. Perlis RH, Smoller JW, Ferreira MAR, McQuillin A, Bass N, Lawrence J *et al.* A Genomewide Association Study of Response to Lithium for Prevention of Recurrence in Bipolar Disorder. *AJP* 2009; 166: 718–725.
  46. Pirmohamed M. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: Editorial. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2001; 52: 345–347.
  47. Rybakowski JK: Genetic Influences on Response to Mood Stabilizers in Bipolar Disorder. *CNS Drugs* 2013; 27: 165–173.
  48. Rybakowski JK. Lit – niezwykły lek w psychiatrii. Termedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań 2019.
  49. Rybakowski JK. Leczenie zespołów maniакаlnych i hipomaniакаlnych. W: Standardy leczenia farmakologicznego niektórych zaburzeń psychicznych. Jarema M. (red.), Via Medica, Gdańsk 2015; 92–97.
  50. Rybakowski JK. Oblicza choroby maniакално-depresyjnej. Termedia Wydawnictwo Medyczne, Poznań 2018; 65–75.
  51. Rybakowski JK. Two generations of mood stabilizers. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 2007; 10: 709–711.
  52. Rybakowski JK, Dmitrzak-Weglarz M, Kliwicki S, Hauser J. Polymorphism of circadian clock genes and prophylactic lithium response. *Bipolar Disord* 2014; 16: 151–158.
  53. Rybakowski JK, Dmitrzak-Weglarz M, Suwalska A, Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser J. Dopamine D1 receptor gene polymorphism is associated with prophylactic lithium response in bipolar disorder. *Pharmacopsychiatry* 2009; 42: 20–22.
  54. Rybakowski JK, Suwalska A, Czernski PM, Dmitrzak-Weglarz M, Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser J. Prophylactic effect of lithium in bipolar affective illness may be related to serotonin transporter genotype. *Pharmacol Rep* 2005a; 57: 124–127.
  55. Rybakowski JK, Suwalska A, Skibinska M, Szczepankiewicz A, Leszczynska-Rodziewicz A, Permoda A *et al.* Prophylactic Lithium Response and Polymorphism of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene. *Pharmacopsychiatry* 2005b; 38: 166–170.
  56. Scherer SW, Lee C, Birney E, Altshuler DM, Eichler EE, Carter NP *et al.* Challenges and standards in integrating surveys of structural variation. *Nat Genet* 2007; 39: S7–S15.
  57. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Bipolar Disorder Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Cross-Disorder Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Ruderfer DM, Fagnou AH, Ripke S *et al.* Polygenic dissection of diagnosis and clinical dimensions of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2014; 19: 1017–1024.
  58. Schulze TG, Alda M, Adli M, Akula N, Ardaur R, Bui ET *et al.* The International Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen): An Initiative by the NIMH and IGSLI to Study the Genetic Basis of Response to Lithium Treatment. *Neuropsychobiology* 2010; 62: 72–78.
  59. Serretti A, Lilli R, Mandelli L, Lorenzi C, Smeraldi E. Serotonin transporter gene associated with lithium prophylaxis in mood disorders. *Pharmacogenomics J* 2001; 1: 71–77.
  60. Serretti A, Malitas PN, Mandelli L, Lorenzi C, Ploia C, Alvarezos B *et al.* Further evidence for a possible association between serotonin transporter gene and lithium prophylaxis in mood disorders. *Pharmacogenomics J* 2004; 4: 267–273.
  61. Silberberg G, Levit A, Collier D, St. Clair D, Munro J, Kerwin RW *et al.* Stargazin involvement with bipolar disorder and response to lithium treatment. *Pharmacogenetics and Genomics* 2008; 18: 403.
  62. Song J, Bergen SE, Di Florio A, Karlsson R, Charney A, Ruderfer DM *et al.* Genome-wide association study identifies SESTD1 as a novel risk gene for lithium-responsive bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2016; 21: 1290–1297.
  63. Squassina A, Manchia M, Borg J, Congiu D, Costa M, Georgitsi M *et al.* Evidence for association of an ACCN1 gene variant with response to lithium treatment in Sardinian patients with bipolar disorder. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 1559–1569.
  64. Stern S, Linker S, Vadodaria KC, Marchetto MC, Gage FH. Prediction of response to drug therapy in psychiatric disorders. *Open Biol* 2018; 8. DOI: 10.1098/rsob.180031.
  65. Suga Y, Yoshimoto K, Numata S, Shimodera S, Takamura S, Kamimura N *et al.* Structural variation in the glycogen synthase kinase 3 $\beta$  and brain-derived neurotrophic factor genes in Japanese patients with bipolar disorders. *Neuropsychopharmacol Rep* 2019; npr2.12083.
  66. Szczepankiewicz A, Rybakowski JK, Suwalska A, Skibinska M, Leszczynska-Rodziewicz A, Dmitrzak-Weglarz M *et al.* Association study of the glycogen synthase kinase-3 $\beta$  gene polymorphism with prophylactic lithium response in bipolar patients. *The World Journal of Biological Psychiatry* 2006; 7: 158–161.
  67. Szczepankiewicz A, Skibinska M, Suwalska A, Hauser J, Rybakowski JK. The association study of three FYN polymorphisms with prophylactic lithium response in bipolar patients. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 2009; 24: 287–291.
  68. Tennessen JA, Bigham AW, O'Connor TD, Fu W, Kenny EE, Gravel S *et al.* Evolution and Functional Impact of Rare Coding Variation from Deep Sequencing of Human Exomes. *Science* 2012; 337: 64–69.
  69. The International Schizophrenia Consortium. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 2009; 460: 748–752.
  70. Trevor Young L, Cooke RG, Robb JC, Levitt AJ, Joffe RT. Anxious and non-anxious bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders* 1993; 29: 49–52.
  71. Vogel F. Moderne Probleme der Humangenetik; in: Heilmeyer L, Schoen R, de Rudder B (eds): *Ergebnisse der Inneren*

- Medizin und Kinderheilkunde. Berlin, Heidelberg, Springer, 1959, pp 52–125.
72. Wang Z, Fan J, Gao K, Li Z, Yi Z, Wang L *et al.* Neurotrophic Tyrosine Kinase Receptor Type 2 (NTRK2) Gene Associated with Treatment Response to Mood Stabilizers in Patients with Bipolar I Disorder. *J Mol Neurosci* 2013; 50: 305–310.
73. Washizuka S, Ikeda A, Kato N, Kato T. Possible relationship between mitochondrial DNA polymorphisms and lithium response in bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2003; 6: 421–424.
74. Weickert CS, Weickert TW, Pillai A, Buckley PF. Biomarkers in Schizophrenia: A Brief Conceptual Consideration. *Disease Markers* 2013; 35: 3–9.
75. Willour VL, Seifuddin F, Mahon PB, Jancic D, Pirooznia M, Steele J *et al.* A genome-wide association study of attempted suicide. *Molecular Psychiatry* 2012; 17: 433–444.
76. Wu T-N, Chen C-K, Lee C-S, Wu B-J, Sun H-J, Chang C-H *et al.* Lithium and GADL1 regulate glycogen synthase kinase-3 activity to modulate KCTD12 expression. *Sci Rep* 2019; 9: 10255.