

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА RS622342 ГЕНА SLC22A1 У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА ПРИ ТЕРАПИИ МЕТФОРМИНОМ

*В. Л. Баранов, Н. В. Ворохобина, М. Абулула, К. А. Загородникова, А. А. Топанова*

Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова,  
Санкт-Петербург, Россия

Одним из ключевых белков-переносчиков, определяющих фармакокинетику метформина, является OСТ1. Полиморфизм rs622342 в гене SLC22A1 (OСТ1) может снижать экспрессию этого белка. Целью настоящей работы явилось определение клинического значения rs622342 у пациентов с сахарным диабетом (СД) 2 типа, принимавших метформин. У 94 больных изучена динамика основных показателей гликемического контроля и индекса массы тела на протяжении 6 месяцев лечения.

По итогам исследования, 33 из 49 человек (67,3%) с диким типом rs622342 (AA-генотип) и 17 из 45 (37,7%) с полиморфными вариантами гена SLC22A1 (AC- и CC-генотип) получали монотерапию метформин и имели уровень HbA1c менее 7,0%. У остальных пациентов потребовалось назначение второго сахароснижающего препарата, либо уровень HbA1c, по результатам исследования, был 7,0% и более. Расчёт отношения шансов показал, что наличие генотипов AC и CC rs622342 в гене SLC22A1 повышает риск того, что метформин окажется недостаточно эффективным, в 3,4 раза ( $p=0,004$ ).

Был сделан вывод, что наличие полиморфного аллеля C (rs622342) в гене SLC22A1 у пациентов с СД 2 типа ассоциировано с недостаточным клиническим эффектом применения метформина в виде монотерапии.

**Ключевые слова:** метформин, сахарный диабет, полиморфизм, OСТ1, rs622342, SLC22A1, фармакокинетика, фармакогенетика, гликированный гемоглобин.

В настоящее время метформин является препаратом первой линии для лечения пациентов с сахарным диабетом (СД) 2 типа [1] и одним из самых часто назначаемых фармакологических средств в мире [2]. Он активно применяется в клинической практике с конца 1950-х годов. Несомненными достоинствами метформина являются его безопасность, эффективность и отсутствие негативного влияния на массу тела [2]. Вероятно, существуют и плейотропные эффекты – снижение заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [3], уменьшение риска развития онкологических заболеваний [4]. Тем не менее, использование метформина сопряжено с рядом трудностей. Одна из них – значительная вариабельность клинической эффективности препарата у разных пациентов. Вероятно, это явление во многом обусловлено интериндивидуальными различиями в фармакокинетике метформина. Известно, что биодоступность последнего при пероральном приеме колеблется в широких пределах. По данным Graham G.G. и соавт., среднее значение этого показателя  $\pm$  стандартное отклонение составило  $55 \pm 16\%$ . Средний почечный клиренс метформина оказался равным  $510 \pm 130$  мл/мин, а его полный почечный клиренс после пе-

рорального приема –  $1140 \pm 330$  мл/мин [5]. По данным Christensen M.M. и соавт., у пациентов, принимавших 2000 мг препарата в сутки, его концентрация в плазме колебалась в очень широких пределах –  $54-4133$  нг/мл [6]

Метформин представляет собой гидрофильную молекулу, обладающую плохой растворимостью в жирах, вследствие чего её пассивная диффузия через мембраны клеток резко ограничена [5]. По этой причине ключевую роль в фармакокинетике препарата играют белки, осуществляющие транспорт метформина через клеточные мембраны.

Одним из таких белков является OСТ1 (organic cation transporter [англ.] – органический катионный транспортёр). Этот белок экспрессируется на базолатеральной мембране энтероцитов и играет существенную роль в транспорте метформина из клетки в интерстициальное пространство [7]. Также OСТ1 экспрессируется на базолатеральной мембране гепатоцитов и осуществляет транспорт метформина из крови в клетки печени [5, 8]. Кроме того, транспортёр экспрессируется на поверхности эпителиальных клеток почек и может осуществлять реадсорбцию метформина из мочи [9].

В настоящее время большинство исследова-

ний в области фармакогенетики метформина касается изучения гена SLC22A1, кодирующего OCT1. Одним из известных, но малоизученных полиморфизмов гена SLC22A1, является rs622342. Он лоцирован в зоне интрона гена и может снижать экспрессию OCT1. Получены неоднозначные результаты о клинической значимости указанного полиморфизма. Первое исследование на 102 пациентах с СД 2 типа выявило ассоциацию между вариантом rs622342 и уменьшением уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) после назначения метформина [10]. Christensen и соавт., обследовав 159 пациентов, принимавших препарат, не получили данных за статистически значимое влияние полиморфизма на уровень HbA1c [6]. Ткач и соавт. изучили показатели 148 пациентов с впервые выявленным СД 2 типа, которые в течение шести месяцев получали метформин, и не обнаружили влияния rs622342 на уровень HbA1c [11]. Недавно были опубликованы данные еще одного исследования. Оно было проведено в южной части Индии. Umamaheswaran G. и соавт., обследовав 122 пациента с впервые выявленным СД 2 типа, которым был назначен метформин на протяжении 12 недель, обнаружили связь обсуждаемого полиморфизма с показателями HbA1c [12].

Учитывая несомненную актуальность вопроса о влиянии rs622342 на клиническую эффективность метформина и противоречивость данных других авторов, нами было предпринято соответствующее исследование.

**Цель исследования:** оценить влияние полиморфизма A>C rs622342 гена SLC22A1 на индивидуальную чувствительность к метформину у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

### Материалы и методы

В исследование было включено 94 пациента с впервые выявленным СД 2 типа с показаниями для назначения метформина и без противопоказаний для его использования. Наряду с общеклиническим обследованием у больных оценивали индекс массы тела (ИМТ), уровни тощаковой, постпрандиальной гликемии и HbA1c. Указанные показатели измеряли исходно, затем через 3 и 6 месяцев после выявления СД 2 типа.

Для молекулярно-генетического анализа у пациентов однократно забирали 5 мл венозной крови с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта. ДНК выделялась из цельной периферической крови с использованием комплекта реагентов «Проба-ГС-Генетика» (ДНК-

Технология, Россия). Генотипирование происходило с использованием набора реагентов для определения полиморфизма A/C гена OCT1 (rs622342) (Синтол, Россия) методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени. Для амплификации и последующей детекции накопления продуктов применялся прибор ДТ-Лайт (ДНК-Технология, Россия).

Статистический анализ проводился с использованием программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft, США). Применялись методы непараметрической статистики (критерий Вилкоксона для связанных показателей), рассчитывалось отношение шансов. Статистически значимыми различия считались при коэффициенте доверительной вероятности  $p$  менее 0,05.

В тексте статьи показатели представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей – Me [Q1; Q3].

### Результаты и их обсуждение

У 94 пациентов (47 мужчин и 47 женщин) с СД 2 типа медиана возраста составила 54 [40; 65] года. У всех больных имелись избыток массы тела или ожирение, ИМТ был 31,9 [30,3; 34,3] кг/м<sup>2</sup>. Уровень HbA1c составил 9,8 [9,1; 10,5] %.

Верификация диагноза СД 2 типа служила основанием для назначения диеты № 9 и метформина в дозе 1500–2000 мг в сутки. По причине неудовлетворительного гликемического контроля во время госпитализации у 19 больных доза препарата была увеличена и составила более 2000 мг/сутки, у 30 потребовалось назначение комбинированных средств. Через 3 месяца ввиду сохраняющейся гипергликемии еще у 9 пациентов была повышена доза метформина, 7 пациентам рекомендованы комбинированные препараты или иные методы лечения. Через 6 месяцев оценивались результаты терапии.

В соответствии с результатами молекулярно-генетического обследования выделены 2 группы пациентов: с диким типом полиморфизма rs622342 в гене SLC22A1 (AA-генотип) – 49 человек и при наличии полиморфного аллеля C в гомо- или гетерозиготном состоянии (AC- либо CC-генотип) – 45 больных. В указанных группах на каждом этапе исследования выделялось по 3 подгруппы в соответствии с применяемым лечением (прием метформина в дозе не более 2000 мг, более 2000 мг, использование комбинированной сахароснижающей терапии). Таким образом, пациенты разделялись на шесть подгрупп. Количество больных в подгруппах представлена в таблице 1.

**Распределение пациентов по генотипу rs622342 и используемой терапии на различных этапах исследования**

Этапы исследования	AA-генотип rs622342			AC- и CC-генотип rs622342		
	Доза метформина ≤ 2000 мг	Доза метформина > 2000 мг	Комбинированное лечение	Доза метформина ≤ 2000 мг	Доза метформина > 2000 мг	Комбинированное лечение
Исходно	49	0	0	45	0	0
0–3 месяца	35	6	8	10	13	22
3–6 месяцев	21	18	10	8	11	26

Исходно все 6 подгрупп были сопоставимы по ИМТ, уровням тощаковой, постпрандиальной гликемии и HbA1c ( $p > 0,05$ ).

Через 3 месяца терапии уменьшение ИМТ, уровней тощаковой и постпрандиальной гликемии, HbA1c произошло во всех группах ( $p < 0,05$ ) за исключением пациентов, имевших AA-генотип rs622342 и принимавших комбинированные сахароснижающие препараты. В этой подгруппе изменение ИМТ не достигло уровня статистической значимости ( $p = 0,33$ ).

Через 6 месяцев терапии отмечались те же тенденции изменения ИМТ, HbA1c, уровней тощаковой и постпрандиальной гликемии. В группе с AA-генотипом не достигли уровня статистической значимости изменения по ИМТ в подгруппе с рекомендованным комбинированным лечением ( $p = 0,44$ ), по HbA1c – в подгруппе принимавших метформин в дозе ≤ 2000 мг ( $p = 0,07$ ). В группе с полиморфным аллелем С (AC- и CC-генотип) незначимыми оказались изменения по ИМТ в подгруппах пациентов, у

которых метформин использовался в виде монотерапии ( $p = 0,16$  у пациентов с дозой ≤ 2000 мг,  $p = 0,07$  при дозе более 2000 мг).

Уровень HbA1c через 6 месяцев не достиг целевых значений (7,0%) у 6 (12,2%) пациентов с диким типом rs622342 и у 9 (20,0%) пациентов с полиморфным аллелем С в гомо- или гетерозиготном состоянии.

Сводные данные по HbA1c в результате лечения пациентов в течение 6 месяцев представлены в таблице 2.

К числу пациентов, у которых метформин оказался эффективен («респондеров»), были отнесены больные, по итогам исследования получавшие этот препарат в любой дозе и имевшие уровень HbA1c менее 7,0%. В группе с диким типом rs622342 (AA-генотип) таких пациентов было 33 (67,3%), тогда как в группе с полиморфными вариантами гена SLC22A1 (AC- и CC-генотип) – 17 (37,7%) человек. Пациенты, у которых потребовалось назначение второго сахароснижающего препарата, либо

Таблица 2

**Результаты лечения пациентов в течение 6 месяцев в зависимости от полиморфизма A>C rs622342**

HbA1c	Полиморфизм rs622342			
	AA-генотип		AC- или CC-генотип	
	абс.	%	абс.	%
лечение метформином в дозе < 2000 мг/сут				
менее 7,0	21	100,0	8	100,0
7,0 и более	0	0,0	0	0,0
лечение метформином в дозе > 2000 мг/сут				
менее 7,0	12	66,7	9	81,8
7,0 и более	6	33,3	2	18,2
др. варианты лечения				
менее 7,0	10	100,0	19	73,1
7,0 и более	0	0,0	7	26,9

уровень HbA1c по результатам исследования был 7,0% и более, были отнесены к группе «нон-респондеров», не ответивших на терапию метформином. Их было 16 (32,6%) в группе с AA-генотипом и 28 (62,2%) в группе лиц с полиморфным аллелем С в гомо- или гетерозиготном состоянии. Расчёт отношения шансов показал, что наличие генотипов AC и CC rs622342 в гене SLC22A1 повышает риск того, что метформин окажется недостаточно эффективным, в 3,4 раза ( $p=0,004$ ).

Среди обследованных больных 49 (52,1%) пациентов имели AA-генотип rs622342, 39 (41,5%) человек – AC-генотип и остальные 6 (6,4%) – CC-генотип. Распределение вариантов полиморфизма соответствует правилу Харди – Вайнберга. Встречаемость аллеля С составила 27%, что несколько ниже аналогичного показателя, обнаруженного другими авторами в европейской популяции (37%) [10].

Исходно группы сравнения были сопоставимы по основным измеряемым показателям: ИМТ, уровни тощаковой и постпрандиальной гликемии, HbA1c.

Через 3 месяца после начала лечения у всех обследованных пациентов наблюдалось улучшение гликемического контроля. У большинства пациентов, принимавших метформин и соблюдавших диету, снизился вес. Изменение ИМТ не достигло уровня статистической значимости в подгруппе при комбинированном лечении и AA-генотипе rs622342. Вероятно, это связано с тем, что помимо метформина пациенты этой подгруппы принимали препараты сульфонилмочевины. Последние могут вызывать увеличение массы тела за счет повышения содержания инсулина в крови.

Через 6 месяцев лечения пациентов и коррекции терапии контроль гликемии продолжил улучшаться. Среди изученных показателей исключение составила динамика HbA1c у пациентов, принимавших метформин в дозе  $\leq 2000$  мг. Она не достигла уровня статистической значимости ( $p=0,07$ ). Вероятно, обнаруженное явление не свидетельствует о недостаточности сахароснижающего эффекта метформина, так как в эту подгруппу попали только пациенты с удовлетворительным гликемическим контролем (включая HbA1c) уже на этапе 3-месячного наблюдения. В связи с этим отсутствие выраженной динамики показателя у этих больных представляется ожидаемым и логичным.

Было обнаружено, что в группе с AC- и CC-генотипом rs622342 изменения по ИМТ среди

пациентов, принимавших только метформин в течение 6 месяцев, не оказались статистически значимыми ( $p=0,16$ ,  $p=0,07$ ). Обнаруженную закономерность можно отнести к косвенным свидетельствам неэффективности метформина у носителей полиморфного аллеля С (rs622342).

По результатам 6-месячного наблюдения за пациентами, они были разделены на «респондеров» и «нон-респондеров». В качестве критериев недостаточной эффективности монотерапии метформином рассматривались необходимость назначения второго сахароснижающего препарата за время наблюдения и неудовлетворительный гликемический контроль по результатам лечения. Целевым показателем HbA1c у всех пациентов был избран уровень менее 7,0%, что соответствует российским клиническим рекомендациям «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 2013 года [13].

Расчет отношения шансов показал, что наличие полиморфного аллеля С (rs622342) ассоциировано с недостаточной эффективностью монотерапии метформином.

Таким образом, полученные нами данные согласуются с результатами Becker M.L. и соавт. [10] и Umamaheswaran G. и соавт. [12]. Другие авторы не обнаружили выявленных нами закономерностей (Christensen M.M. и соавт. [6], Tkáč и соавт. [11]).

Возможно, различия в результатах указанных исследований обусловлены тем, что они были проведены на разных этнических группах – в Нидерландах [10], Индии [12], Дании [6] и Словакии [11]. Существует множество различных биологических факторов (как генетических, так и негенетических), которые влияют на эффективность метформина. Можно предположить, что некоторые из них в ряде популяций более значимы, чем полиморфизм rs622342, что и определяет разнородность результатов исследований.

### Выводы

Наличие полиморфного аллеля С (rs622342) в гене SLC22A1 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа ассоциировано с недостаточным клиническим эффектом применения метформина в виде монотерапии.

### Литература:

1. Inzucchi S. E., Bergenstal R. M., Buse J. B., Diamant M., Ferrannini E., Nauck M. et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes:

A Patient-Centered Approach. Position Statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) // *Diabetes Care*. – 2012. – Vol. 35. – P. 1364–1379.

2. Rena G., Pearson E. R., Sakamoto K. Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights? // *Diabetologia*. – 2013. – Vol. 56. – №9. – P. 1898–1906.

3. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) // *Lancet*. – 1998. – Vol. 352. – P. 854–865.

4. Noto H., Goto A., Tsujimoto T., Noda M. Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – №3. – e33411.

5. Graham G. G., Punt J., Arora M., Day R. O., Doogue M. P., Duong J. K., Furlong T. J., Greenfield J. R., Greenup L. C., Kirkpatrick C. M., Ray J. E., Timmins P., Williams K. M. Clinical pharmacokinetics of metformin. // *Clin. Pharmacokinet.* – 2011. – Vol 50. – №2. – P. 81–98.

6. Christensen M. M., Brasch-Andersen C., Green H., Nielsen F., Damkier P., Beck-Nielsen H., Brosen K. The pharmacogenetics of metformin and its impact on plasma metformin steady-state levels and glycosylated hemoglobin A1c. *Pharmacogenet. // Genomics*. – 2011. – Vol. 21. – № 12. – P. 837–850.

7. Muller J., Lips K. S., Metzner L., Neubert R. H., Koepsell H., Brandsch M. Drug specificity and intestinal membrane localization of human organic cation transporters (OCT). // *Biochem.*

*Pharmacol.* – 2005. – Vol. 70. – №12. – P. 1851–1860.

8. Shu Y., Sheardown S. A., Brown C. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – № 5. – P. 1422–1431.

9. Gong L., Goswami S., Giacomini K. M., Altman R. B., Klein T. E. Metformin pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. // *Pharmacogenet. Genomics*. – 2012. – Vol. 22. – № 11. – P. 820–827.

10. Becker M. L., Visser L. E., van Schaik R. H., Hofman A., Uitterlinden A. G., Stricker B. H. Genetic variation in the organic cation transporter 1 is associated with metformin response in patients with diabetes mellitus. // *Pharmacogenomics J.* – 2009. – Vol. 9. – № 4. – P. 242–247.

11. Tkáč I., Klimcakova L., Javorsky M., Fabianová M., Schroner Z., Hermanová H., Babjaková E., Tkáčová R. Pharmacogenomic association between a variant in SLC47A1 gene and therapeutic response to metformin in Type 2 diabetes. // *Diabetes Obes. Metab.* – 2013. – Vol. 15. – № 2. – P. 189–191.

12. Umamaheswaran G., Praveen R. G., Damodaran S. E., Das A. K., Adithan C. Influence of SLC22A1 rs622342 genetic polymorphism on metformin response in South Indian type 2 diabetes mellitus patients // *Clin. Exp. Med.* – 2014. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25492374> (дата обращения: 05.01.2015).

13. Клинические рекомендации «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» / под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой. 6-й выпуск // *Сахарный диабет*. – 2013. – №1S. – 120 с.

*М. Абулула*

*Тел.: +7 950 031 1624*

*E-mail: macha1999@yahoo.fr*

**В. Л. Баранов, Н. В. Ворохобина, М. Абулула, К. А. Загородникова, А. А. Топанова** Клиническое значение полиморфизма rs622342 гена slc22a1 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при терапии метформином // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. – 2015. – Том 7, № 1. – С. 22–27.

## CLINICAL SIGNIFICANCE OF SLC22A1 RS622342 GENETIC POLYMORPHISM IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS, TAKING METFORMIN

*V.L. Baranov, N.V. Vorokhobina, M. Abulula, K.A. Zagorodnikova, A.A. Topanova*

North-Western State Medical University named after I.I.Metchnikov, Saint-Petersburg, Russia

One of the key proteins that determine the pharmacokinetics of metformin is OCT1. rs622342 polymorphism in the gene SLC22A1 (OCT1) can reduce the expression of this protein. The aim of this study was to evaluate clinical significance of rs622342 in people with diabetes mellitus (DM) type 2, taking metformin. In 94 patients dynamics of the main indicators of glycemic control and body mass index were studied over 6 months of treatment.

At the end of the study 33 of 49 patients (67,3%) with wild-type variant of rs622342 (genotype AA) and 17 of 45 (37,7%) with polymorphic variants of the gene SLC22A1 (AC- and CC-genotypes) were taken metformin only and had HbA1c levels less than 7,0%. Remaining patients required a second hypoglycemic agent or had HbA1c levels 7,0% or more. Calculating odds ratios showed that the presence of AC- or CC- genotypes of rs622342 in the gene SLC22A1 increases the risk of poor clinical effect of metformin 3,4-fold ( $p = 0,004$ ).

Conclusion: The presence of a polymorphic allele C (rs622342) in the gene SLC22A1 in patients with type 2 diabetes is associated with poor clinical effect of metformin monotherapy.

**Keywords:** metformin, diabetes mellitus, polymorphism, OCT1, rs622342, SLC22A1, pharmacokinetics, pharmacogenetics, glycated hemoglobin.

**Authors**

M. Abulula

Tel.: +7 950 031 1624

E-mail: macha1999@yahoo.fr

Baranov V.L., Vorokhobina N.V., Abulula M., Zagorodnikova K.A., Topanova A.A. Clinical significance of slc22a1 rs622342 genetic polymorphism in type 2 diabetes mellitus patients, taking metformin // Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov. – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 22–27.