

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА ЦИТОХРОМА P450 2C9 НА ИНДИВИДУАЛЬНУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ГЛИКЛАЗИДУ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

М. Абулула, В.Л. Баранов, Н.В. Ворохобина

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

Цитохром P450 2C9, кодируемый геном *CYP2C9*, является ключевым ферментом для метаболизма большинства препаратов сульфонилмочевины (ПСМ). Известно, что полиморфизмы *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* ассоциированы со снижением активности цитохрома, что приводит к увеличению концентрации ПСМ в плазме и уменьшению их клиренса.

Цель исследования заключалась в том, чтобы оценить, как влияют полиморфизмы *CYP2C9* на индивидуальную чувствительность к гликлазиду у больных сахарным диабетом 2 типа.

В исследовании были включены 74 пациента с впервые выявленным СД, которым был назначен гликлазид в дозе 30 или 60 мг/сутки. Титрация доз осуществлялась на протяжении 6 месяцев наблюдения, при необходимости назначались другие виды сахароснижающей терапии (комбинированные препараты или инсулин).

По итогам исследования у всех пациентов были достигнуты целевые значения HbA1c. У больных с диким типом *CYP2C9* в сравнении с пациентами, имевшими полиморфный аллель в гене, эффективная доза гликлазида оказалась ниже, чаще требовались назначение больших (90–120 мг) доз препарата или перевод на другую сахароснижающую терапию.

Вывод: Наличие полиморфного аллеля в гене *CYP2C9* в гомо- или гетерозиготном состоянии ассоциировано с уменьшением эффективной дозы гликлазида, применяемого в виде монотерапии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Ключевые слова: гликлазид, препараты сульфонилмочевины, сахарный диабет, полиморфизм, *CYP2C9*, фармакокинетика, фармакогенетика, гликированный гемоглобин.

Препараты сульфонилмочевины (ПСМ) появились в клинической практике в 1950 году. Они были первыми пероральными сахароснижающими препаратами и в то время принципиально изменили представление о лечении пациентов с сахарным диабетом (СД) 2 типа. За прошедшие 65 лет ПСМ зарекомендовали себя как эффективные, безопасные и недорогие лекарственные средства, которые достаточно широко используются в клинической практике и в настоящее время. Современными рекомендациями по лечению СД 2 типа они предлагаются в качестве препаратов «второй линии» [1]. Тем не менее, по некоторым данным, примерно 25% пациентов с впервые выявленным заболеванием в качестве стартовой терапии назначаются ПСМ либо в виде монотерапии, либо в комбинации с каким-либо другим пероральным сахароснижающим средством [2].

Эффект ПСМ обусловлен их воздействием на АТФ-зависимые калиевые каналы (КАТФ-каналы) на β -клетках островков Лангерганса. При этом происходит деполяризация β -клетки, что в свою очередь приводит к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов, проникновению Ca^{++} внутрь клетки и экзоцитозу гранул, содержащих инсулин [3].

КАТФ-канал представляет собой октамерный комплекс из четырех субъединиц – рецепторов сульфонилмочевины (SUR) и четырех поробразующих субъединиц (Kir6.X). Открыты изоформы субъединиц Kir (Kir6.1 и Kir6.2) и SUR (SUR1, SUR2a, SUR2b). В поджелудочной железе представлена Kir6.2 в связи с SUR1 [4].

Ингибиторы КАТФ-каналов можно разделить на 2 группы: связывающиеся с субъединицей Kir6.2 и взаимодействующие с SUR. К первой категории относят имидазолины (фентоламин, цибензолин) и противомаларийные средства (хинин, мефлохин) [5], ко второй – ПСМ и производные бензамида (меглитинид) [6]. Все перечисленные препараты блокируют КАТФ-каналы и стимулируют секрецию инсулина, однако для лечения СД применяются только связывающиеся с SUR.

Даже при насыщающих концентрациях ПСМ, когда в КАТФ-канале связаны все четыре SUR, полной блокады канала не происходит и он может снова открыться [7]. На максимальную степень блокады, кроме того, оказывают влияние мутации генов Kir6.2 и SUR [8], а также мембранные фосфолипиды, такие как фосфатидилинозитол бисфосфат [9].

Известно о значительной вариабельности эффекта ПСМ от пациента к пациенту. Иллюстративно, что у 10–20% пациентов с СД 2 типа при инициации монотерапии ПСМ гликемия натощак снижается менее чем на 1,1 мМоль/л («первичная неэффективность препаратов») [10]. Примерно у 50–60% больных имеется более выраженный ответ (показатель изменяется более чем на 1,7 мМоль/л), однако он оказывается недостаточным для достижения целевых значений гликемии [10]. У 5–10% пациентов в год изначально хороший ответ на средства становится недостаточным («вторичная неэффективность ПСМ») [11, 12].

Одну из гипотез для объяснения значительной вариабельности эффекта препаратов предлагает фармакогенетика. Большинство работ в этой области посвящено изучению отдельных генов, определяющих метаболизм вещества в организме. Так, в частности, имеются сообщения о том, что при различных вариантах генотипа цитохрома P450 2C9 отмечается различная реакция показателей, отражающих состояние углеводного обмена на фоне приема ПСМ.

Известно, что цитохром P450 2C9, кодируемый геном *CYP2C9*, является ключевым ферментом для метаболизма большинства ПСМ [13, 14]. Идентифицировано 3 варианта *CYP2C9*: дикий (*CYP2C9*1*), Arg144Cys (*CYP2C9*2*), Ile359Leu (*CYP2C9*3*) [13]. Исследования на здоровых добровольцах показали, что полиморфизмы *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* ассоциированы со снижением активности цитохрома, что приводит к увеличению концентрации ПСМ в плазме и уменьшению их клиренса [13, 14].

В исследовании GoDARTS показано, что наличие у пациента двух инактивирующих полиморфных аллелей (*2/*2, *2/*3 или *3/*3) в гене *CYP2C9* встречается в 6% случаев и ассоциировано с большей эффективностью ПСМ (уменьшение HbA1c в среднем на 0,5% больше, вероятность достижения уровня HbA1c менее 7% в 3,4 раза выше) [15].

В нескольких исследованиях использовались не прямые критерии эффективности ПСМ, такие как достаточная доза препарата. Так, M. Vesker и соавт. на примере 475 пожилых пациентов, большинство из которых принимало толбутамид, обнаружили, что доза ПСМ была наибольшей при генотипах *1/*1, *1/*2 и *2/*2 [16]. В аналогичном исследовании J. Swen и соавт. показали, что имеется тенденция к снижению дозы ПСМ у пациентов с аллелем *CYP2C9*3* [17].

Из представленных данных следует, что больные СД неодинаково реагируют на прием ПСМ. У части из них вообще не наблюдается реакции углеводного обмена. Имеется связь между чувствительностью к ПСМ и полиморфными вариантами гена *CYP2C9*. Однако исследований, дающих однозначный ответ о влиянии указанных генетических полиморфизмов на клиническую эффективность гликлазида, нам найти не удалось.

Цель исследования: оценить, как влияют полиморфизмы гена цитохрома P450 2C9 на индивидуальную чувствительность к гликлазиду у больных сахарным диабетом 2 типа.

Материалы и методы

В исследование было включено 74 пациента (44 мужчины и 30 женщин) с впервые выявленным СД 2 типа, не имевших избытка массы тела или ожирения, а также противопоказаний для применения гликлазида.

Всем больным проводили общеклиническое обследование, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ), измеряли уровни тощачковой и постпрандиальной гликемии и HbA1c. Указанные показатели были оценены исходно (при выявлении СД 2 типа), затем через 3 и 6 месяцев.

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 комплекта реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с метаболизмом варфарина, методом ПЦР в режиме реального времени «ФармакоГенетикаВарфарин» (ДНК-Технология, Россия). 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 (тест Краскела – Уоллиса для рангового дисперсионного анализа, критерий Манна – Уитни, критерий Вилкоксона для связанных показателей, критерий χ^2 , точный критерий Фишера). 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

Медиана возраста среди обследованных пациентов составила 55 [48; 58] лет. ИМТ был 23,1 [21,8; 23,8] кг/м². Уровень HbA1c составил 9,9 [9,1; 10,7] %.

После верификации диагноза СД 2 типа всем 74 пациентам назначены диета №9 и гликлазид в дозе 30 или 60 мг 1 раз в день утром натощак. У большинства больных за время госпитализации были достигнуты удовлетворительные показатели гликемии на фоне терапии низкими дозами препарата (30–60 мг/сутки). В связи с недостаточным эффектом от приема гликлазида в стационаре у 17 пациентов доза гликлазида была увеличена (до 90–120 мг/сутки), у 16 назначены другие методы лечения (комбинированные сахароснижающие средства). Через 3 месяца наблюдения ввиду неудовлетворительного гликемического контроля у 5 больных повышена доза гликлазида, 1 человек переведен на инсулинотерапию. Через 6 месяцев оценивались результаты терапии.

В соответствии с результатами молекулярно-генетического обследования выделены 2 группы пациентов: с диким типом гена *CYP2C9* (генотип *1/*1) – 46 человек и при наличии полиморфных аллелей *2 и *3 в гомо- или гетерозиготном состоянии (генотипы *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3) – 28 больных. Распределение пациентов по генотипу *CYP2C9* представлено на рисунке 1.

Группы были сравнимы по возрасту, половому составу, а также по ИМТ, уровням тощаковой, постпрандиальной гликемии и HbA1c ($p > 0,05$).

В указанных группах на каждом этапе исследования выделено по 3 подгруппы в соответствии с применяемым лечением (прием

гликлазида в дозе 30–60 мг, 90–120 мг либо использование других видов сахароснижающей терапии). Таким образом, пациенты были разделены на шесть подгрупп. Численность больных в подгруппах представлена в таблице 1.

При оценке динамики показателей в подгруппах через 3 месяца терапии не был проведен статистический анализ показателей пациентов, имевших полиморфный вариант гена *CYP2C9* при приеме 90–120 мг гликлазида или при использовании других видов сахароснижающей терапии. Это связано с недостаточным числом таких больных (3 и 1 человек соответственно). В остальных подгруппах отмечалось уменьшение уровней тощаковой и постпрандиальной гликемии, HbA1c ($p < 0,05$).

Через 6 месяцев терапии отмечалось дальнейшее снижение гликемии и HbA1c во всех подгруппах ($p < 0,05$).

В результате лечения уровни тощаковой, постпрандиальной гликемии, HbA1c через 6 месяцев достигли целевых значений у всех 74 пациентов.

Динамика используемых доз гликлазида среди пациентов с диким типом *CYP2C9* и полиморфными вариантами гена представлена в таблице 2.

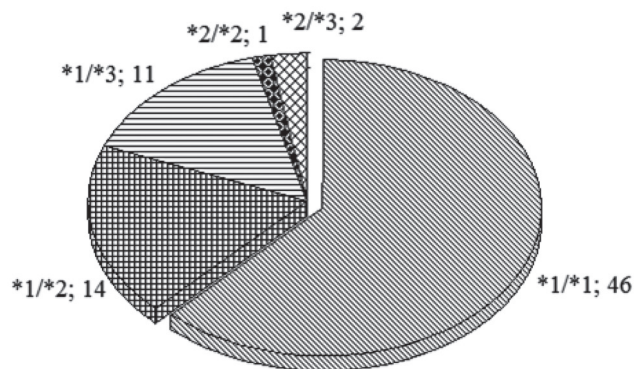


Рис. 1. Распределение пациентов по генотипу *CYP2C9* (генотип; число пациентов)

Таблица 1

Численность пациентов в изучаемых подгруппах на различных этапах исследования

Этапы исследования	Дикий тип гена <i>CYP2C9</i> (*1/*1)			Полиморфный вариант гена <i>CYP2C9</i> (*1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3)		
	Доза гликлазида 30–60 мг	Доза гликлазида 90–120 мг	Другие виды терапии	Доза гликлазида 30–60 мг	Доза гликлазида 90–120 мг	Другие виды терапии
Исходно	46	0	0	28	0	0
0–3 месяца	17	14	15	24	3	1
3–6 месяцев	14	16	16	21	6	1

Динамика используемых доз гликлазида у пациентов на различных этапах исследования в зависимости от генотипа *CYP2C9*

Показатель	Период наблюдения	Генотип <i>CYP2C9</i>		Р при сравнении двух групп
		Дикий тип (*1/*1) (n = 46)	Полиморфный вариант (*1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3) (n = 28)	
Доза гликлазида, мг/сут	Исходно	30 [30; 60]	30 [30; 60]	0,698
	0–3 месяца	60 [60; 90]	60 [30; 60]	0,023
	3–6 месяцев	90 [60; 90]	60 [30; 60]	0,025

Примечание. Показатели в двух группах сравнены с использованием критерия Манна – Уитни.

Из представленных данных видно, что через 3 и 6 месяцев наблюдения доза препарата у больных с полиморфными вариантами *CYP2C9* оказалась ниже ($p < 0,05$). Необходимость в коррекции сахароснижающей терапии имела высокую значимость сопряженностью с наличием полиморфного аллеля в гене *CYP2C9* ($p < 0,001$; $C = 0,51$).

В следующей таблице представлено распределение пациентов в зависимости от используемых доз гликлазида через 6 месяцев терапии при различном генотипе *CYP2C9* (табл. 3).

Таблица 3

Распределение пациентов в зависимости от используемых доз гликлазида через 6 месяцев терапии при различном генотипе *CYP2C9*

Доза гликлазида, мг/сут	Генотип <i>CYP2C9</i>	
	Дикий тип (*1/*1) (n = 46)	Полиморфный вариант (*1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3) (n = 28)
30–60	14 (30,4%)	21 (75,0%)*
90–120	16 (34,8%)	6 (21,4%)
Другой вид терапии	16 (34,8%)	1 (3,6%)*

Примечание. *, ** – различия с группой пациентов с диким типом *CYP2C9* значимы при $p < 0,01$; $p < 0,001$.

В процессе лечения всеми пациентами были достигнуты целевые уровни HbA1c. Таким образом, можно полагать, что назначаемая доза гликлазида во всех случаях была адекватной и достаточной.

Среди больных СД, получавших низкие (30–60 мг) дозы гликлазида, при диком типе *CYP2C9*

препарат оказывался эффективным сравнительно редко (у 30,4% пациентов), тогда как при полиморфном варианте гена – существенно чаще (у 75,0%). Это указывает на то, что больные, имевшие полиморфизм в гене *CYP2C9*, оказались более чувствительными к терапии гликлазидом.

В группе с диким типом *CYP2C9* у значительного (34,8%) числа больных требовалось назначение других видов сахароснижающей терапии (комбинированные фармакологические средства или инсулин), в то время как среди пациентов с полиморфными вариантами гена лишь 1 человек из 28 был переведен на комбинированные препараты. Обнаруженные различия между группами также могут служить косвенным свидетельством недостаточной эффективности гликлазида у пациентов с диким типом *CYP2C9*.

Полученные в нашем исследовании результаты согласуются с данными, полученными рядом авторов [16, 17] при оценке эффективности гликлазида у больных СД в зависимости от генотипа *CYP2C9*.

Выводы

Наличие полиморфного аллеля в гене *CYP2C9* в гомо- или гетерозиготном состоянии ассоциировано с уменьшением эффективной дозы гликлазида, применяемого в виде монотерапии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Литература:

1. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Position Statement // Diabetes Care. – 2013. – Vol. 36. – Suppl. 1. – P. 67–74.

2. *Desai N.R.*, Shrank W.H., Fischer M.A. et al. Patterns of medication initiation in newly diagnosed diabetes mellitus: quality and cost implications. // *Am. J. Med.* – 2012. – Vol. 125. – № 302. – P. e301–e307.
3. *Ashcroft F.M.*, Rorsman P. Electrophysiology of the pancreatic beta-cell. *Biophys. Mol. Biol.* – 1989. – Vol. 54. – P. 87–143.
4. *Proks P.*, Reimann F., Green N., Gribble F., Ashcroft F. Sulfonylurea Stimulation of Insulin Secretion // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51. – Suppl. 3. – P. S368–S376.
5. *Gribble F.M.*, Davis T.M.E., Higham C.E., Clark A., Ashcroft F.M. The antimalarial agent mefloquine inhibits ATP-sensitive K-channels // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 131. – P. 756–760.
6. *Gribble F.M.*, Tucker S.J., Seino S., Ashcroft F.M. Tissue specificity of sulphonylureas: studies on cloned cardiac and beta-cell KATP channels // *Diabetes.* – 1998. – Vol. 47. – P. 1412–1418.
7. *Proks P.*, Reimann F., Green N., Gribble F., Ashcroft F. Sulfonylurea Stimulation of Insulin Secretion // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51. – Suppl. 3. – P. S368–S376.
8. *Koster J.C.*, Sha Q., Nichols C.G. Sulfonylurea and K-channel opener sensitivity of KATP channels: functional coupling of Kir6.2 and SUR1 subunits // *J. Gen. Physiol.* – 1999. – Vol. 114. – P. 203–213.
9. *Krauter T.*, Ruppertsberg J.P., Baukowitz T. Phospholipids as modulators of KATP channels: distinct mechanisms for control of sensitivity to sulphonylureas, K-channel openers, and ATP // *Mol. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 59. – P. 1086–1093.
10. *DeFronzo, R.A.* Pharmacologic therapy for Type 2 diabetes mellitus. // *Ann. Intern. Med.* – 1999. – Vol. 131. – №4. – P. 281–303.
11. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). // *Lancet.* – 1998. – Vol. 352. – P. 837–853.
12. *Matthews D.R.*, Cull C.A., Stratton I.M., Holman R.R., Turner, R.C. UKPDS 26: Sulphonylurea failure in non-insulin-dependent diabetic patients over six years. // *Diabet. Med.* – 1998. – Vol. 15. – P. 297–303.
13. *Kirchheiner J.*, Brockmoller J., Meineke I. et al. Impact of *CYP2C9* amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers // *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* – 2002. – Vol. 71. – № 4. – P. 286–296.
14. *Kirchheiner J.*, Bauer S., Meineke I. et al. Impact of *CYP2C9* and *CYP2C19* polymorphisms on tolbutamide kinetics and the insulin and glucose response in healthy volunteers // *Pharmacogenetics.* – 2002. – Vol. 12. – № 2. – P. 101–109.
15. *Zhou K.*, Donnelly L., Burch L. et al. Loss-of-function *CYP2C9* variants improve therapeutic response to sulphonylureas in type 2 diabetes: a go-DARTS study // *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* – 2010. – Vol. 87. – № 1. – P. 52–56.
16. *Becker M.L.*, Visser L.E., Trienekens P.H., Hofman A., Van Schaik R.H.N., Stricker B.H.C. Cytochrome P450 2C9 *2 and *3 polymorphisms and the dose and effect of sulphonylurea in type II diabetes mellitus // *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* – 2008. – Vol. 83. – № 2. – P. 288–292.
17. *Swen J.J.*, Wessels J.A.M., Krabben A., Assendelft W.J.J., Guchelaar H.-J. Effect of *CYP2C9* polymorphisms on prescribed dose and time-to-stable dose of sulphonylureas in primary care patients with type 2 diabetes mellitus // *Pharmacogenomics.* – 2010. – Vol. 11. – № 11. – P. 1517–1523.

М. Абулула

Тел.: +7 950 031 1624

E-mail: macha1999@yahoo.fr

Абулула М., Баранов В.Л., Ворохобина Н.В. Влияние полиморфизмов гена цитохрома P450 2C9 на индивидуальную чувствительность к гликлазиду у больных сахарным диабетом 2 типа // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.* – 2015. – Том 7, № 1. – С. 28–33.

EFFECT OF CYTOCHROME P450 2C9 GENE POLYMORPHISMS ON INDIVIDUAL SENSITIVITY TO GLICLAZIDE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS*M. Abulula, V.L. Baranov, N.V. Vorokhobina*

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

Cytochrome P450 2C9, encoded by the gene *CYP2C9*, is a key enzyme for the metabolism of most sulfonylurea (SU). It is known that the polymorphisms *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* are associated with decreased activity of cytochrome, which leads to an increase in plasma concentrations of SU and reduction in its clearance.

The aim of the study was to assess the impact *CYP2C9* polymorphisms on individual sensitivity to gliclazide in patients with type 2 diabetes.

The study included 74 patients with newly diagnosed diabetes. For all patients gliclazide in a dose of 30 or 60 mg/day was prescribed. Dose titration was carried out for 6 months of observation. If necessary other glucose-lowering therapy (a combination of drugs or insulin) were prescribed.

Following the results of study, all patients had achieved the target values of HbA1c. In comparison with patients who had a polymorphic allele in the gene, patients with wild-type *CYP2C9* had lower effective dose of gliclazide, more often required prescription of large (90–120 mg) doses of drug or other antihyperglycemic therapy.

Conclusion: The presence of a polymorphic allele in the gene *CYP2C9* in homo- or heterozygous state is associated with a decrease in the effective dose of gliclazide, used as monotherapy in patients with type 2 diabetes.

Keywords: gliclazide, sulfonylureas, diabetes mellitus, polymorphism, *CYP2C9*, pharmacokinetics, pharmacogenetics, glycated hemoglobin.

Authors

Abulula M.

Tel.: +7 950 031 1624

E-mail: macha1999@yahoo.fr

Abulula M., Baranov V.L., Vorokhobina N.V. Effect of cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on individual sensitivity to gliclazide in patients with type 2 diabetes mellitus // Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov. – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 28–33.