

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИЕМЛЕМОСТИ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА

ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА МЕТФОРМИН

Эффективность сахароснижающей терапии зависит не только от своевременного начала приема пероральных сахароснижающих препаратов, но и от генетических особенностей организма пациента. Оценка значения однонуклеотидных полиморфизмов генов для прогнозирования эффективности терапии является перспективным направлением и подтверждается с позиции фармакоэкономики. На базе клинической больницы им. Н.А. Семашко было обследовано 89 пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2-го типа и 80 лиц без нарушений углеводного обмена. В результате проведенных исследований было выявлено две группы пациентов: имеющие «фенотип провала», которым необходимы высокие дозы препарата (с развитием побочных эффектов) или его замена для достижения необходимого терапевтического эффекта, и имеющие «фенотип ответа». Анализ «затраты – эффективность» свидетельствует о том, что процедура генотипирования перед назначением метформина с целью выявления фенотипа «ответа» позволяет уменьшить затраты на единицу эффективности сахароснижающего препарата метформин.

Ключевые слова: метформин, сахарный диабет 2-го типа, фармакоэкономический анализ, персонализированная терапия.

Y.A. SOROKINA, PhD in Biology, O.V. ZAZNOBINA, MD, Prof., L.V. LOVTSOVA, MD, A.V. ZANOZIN, PhD in medicine
Nizhny Novgorod State Medical Academy

PHARMACOECONOMICAL APPROVAL OF GENOTYPING ELIGIBILITY IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2 TAKING METFORMIN

Effectiveness of sugar-lowering therapy depends on both betimes started therapy and genetically defined features of a patient. Single nucleotide polymorphism of genes may be perspective and approved by pharmacoeconomical analyses. We observed 89 patients with newly diagnosed diabetes mellitus type 2 and 80 subjects without impaired glucose metabolism. We found out 2 types of patients- with “response phenotype” and “fail phenotype”. CER showed that genotyping before prescribing metformin in order to find out “fail phenotype” to avoid lack of effectiveness could reduce expenses.

Keywords: metformin, diabetes mellitus type 2, pharmacoeconomical analyses, personified therapy.

ВВЕДЕНИЕ

Эффективность сахароснижающей терапии зависит не только от своевременного начала приема пероральных сахароснижающих препаратов, но и от генетических особенностей организма пациента [1]. Полиморфизмы генов как сами, так и в совокупности с другими факторами влияют на успех фармакологического воздействия, определяют категории пациентов, которые в той или иной степени подвержены действию препарата, обладая т. н. «фенотипом ответа». Задачей фармакогенетики также является выявление фенотипа неэффективности с целью устранения нерациональной сахароснижающей терапии.

Оценка значения однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов, непосредственно не связанных с фармакокинетикой и фармакодинамикой сахароснижающих препаратов, в частности метформина, для прогнозирования

эффективности терапии ограничивается единичными исследованиями, вызывает особые затруднения, в т. ч. в интерпретации результатов из-за этнической, гендерной принадлежности и других интерферирующих факторов [2].

В связи с этим следует изучать как ассоциированные непосредственно с СД2, так и полиморфные гены, формирующие специфический фармакологический ответ, а также другие гены, обуславливающие особенности метаболических процессов, ответственные за плейотропные эффекты препарата.

Большой интерес представляет полиморфный ген синтазы оксида азота 3. Существует ряд полиморфизмов гена, кодирующего эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS), часть из которых связана с изменением в плазме крови содержания NO (оксида азота), в частности, полиморфизм в промоторе 786T > C приводит к значительному сокращению количества самого фермента eNOS [3].

Выключение гена эндотелиальной синтазы оксида азота в эксперименте приводит не только к резкому повышению сосудистого тонуса, но и к нарушению захвата глюкозы периферическими тканями, т. к. доказано, что утилизация глюкозы NO-зависима. В то же время показано, что блокирование как индуцибельной, так и нейрональной NOS существенно не влияет на инсулинорезистентность и углеводный обмен [4]. Изученными являются полиморфизм 4a/b-интрона, полиморфизм G894T (Glu298Asp) 7-го экзона и полиморфизм C786T (rs2070744) промотора гена eNOS [5]. Полиморфизм G894T имеет различное значение в зависимости от этнической принадлежности пациента (азиаты и европейцы) и неоднозначный характер, в то время как нет функциональных различий ОНП C786T для разных этнических групп. Тем не менее в некоторых исследованиях была выявлена ассоциация генотипа гомозиготы по аллели T с инсулинорезистентностью у пациентов с СД2 типа и кардиомиопатиями среди европейцев [6] и японцев [7], а также с повышенным уровнем глюкозы в крови у жителей Саудовской Аравии [8]. Роль уровня NO, в частности, имеет большое значение в вероятности наступления таких осложнений СД2, как нефропатия [9, 10], ретинопатия [11], кардиомиопатия [12].

Известно, что метформин активирует АМФК (АМФ-активируемую протеинкиназу), что приводит к увеличению фосфорилирования эндотелиальной синтазы оксида азота, повышению продукции NO, что в конечном итоге обуславливает компенсацию эндотелиальной дисфункции [13, 14]. Также известно, что метформин является структурным аналогом асимметричного диметиларгинина (АДМА), который подавляет выработку NO, и по механизму конкурентного ингибирования не допускает образования неактивного комплекса «синтаза оксида азота – АДМА» [15], одновременно повышая активность фермента.

Полиморфизм G894T имеет различное значение в зависимости от этнической принадлежности пациента (азиаты и европейцы) и неоднозначный характер, в то время как нет функциональных различий ОНП C786T для разных этнических групп

Таким образом, полиморфный ген, определяющий уровень газотрансмиттера NO – одного из ключевых факторов прогрессирования как самого заболевания, так и осложнений, а также участвующий в реализации антигипергликемического эффекта метформина, может стать маркером-предиктором эффективности назначаемой фармакотерапии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести фармакоэкономический анализ «затраты – эффективность» при применении препарата метформин с учетом генотипирования пациентов с СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено с использованием клинической базы ГБУЗ НО «НОКБ им. Н.А. Семашко», а также лабораторий ГБОУ ВПО НижГМА. Было обследовано 169 человек, в т. ч. 89 пациентов с впервые выявленным СД2.

Метформин активирует АМФ-активируемую протеинкиназу, что приводит к увеличению фосфорилирования эндотелиальной синтазы оксида азота, повышению продукции NO, что в конечном итоге обуславливает компенсацию эндотелиальной дисфункции

В исследовании участвовали только лица, отвечающие критериям включения: верифицированный диагноз СД2 давностью не более одного года, отсутствие ранее проводимой сахароснижающей терапии, пациенты обоих полов, возраст от 40 до 70 лет, гликированный гемоглобин от 6,5 до 8,0%, индекс массы тела до 40 кг/м², подписанное добровольное информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения: сахарный диабет 1-го типа, нарушенная толерантность к глюкозе и нарушение гликемии натощак, наличие тяжелых осложнений СД2, нарушенная функция печени, почек и сердечно-сосудистой системы, хронические заболевания в стадии обострения, несоответствие критериям включения. Критерии досрочного прекращения участия в исследовании: отсутствие приверженности к терапии, проявление побочных эффектов метформина, отзыв информированного согласия. Уровень глюкозы плазмы натощак (ГПН) определяли в капиллярной крови глюкозооксидазным методом на анализаторе «Биосен 5030», на глюкометрах «Акучек Актив» натощак и выражали в ммоль/л. Гликозилированный гемоглобин (HbA1c) определяли на жидкостном хроматографе Bio-Rad со стандартными наборами (France). Уровень C-пептида оценивали с помощью диагностических иммуноферментных тест-систем «Mercodia C-peptide ELISA specific». Пациентам с СД2 (89 человек) был назначен метформин в дозе по 850 мг 2 р/сут. В группу сравнения (80 человек) вошли лица без нарушений углеводного обмена. Затем проводилось обследование пациентов с СД2 через 90 сут. назначенной медикаментозной терапии.

Включенные в исследование пациенты были распределены на группы по генотипу ОНП: rs2070744-гена эндотелиальной синтазы оксида азота C786T (CC; CT; TT). Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) гена синтазы оксида азота 3 eNOS3 (C786T) выявляли методом ПЦР с детекцией в реальном времени. Все анализы были проведены с использованием диагностических наборов для выявления полиморфизмов в геноме человека методом ПЦР «SNP-ЭКСПРЕСС» производства НПФ – ЛИТЕХ. С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Использовали амплификатор детектирующий ДТ-прайм по ТУ 9443-004-96301278-2010 в модификации 5M [16].

Таблица 1. Частоты встречаемости гаплотипов полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота у пациентов с СД2 и лиц группы сравнения

Генотип	СД2 (n = 89)	Группа сравнения (n = 80)	χ^2	p	ОШ	
					значение	95% CI
СС	0,133	0,192	0,87	0,65	1,24	0,37 – 4,12
СТ	0,284	0,308			1,42	0,51 – 3,97
ТТ	0,583	0,500			0,63	0,24 – 1,68

Примечание. ОШ – отношение шансов, CI – доверительный интервал, p – уровень статистической значимости различий между основной группой и группой сравнения.

Показатель «затраты – эффективность» рассчитывали для каждой сравниваемой альтернативы по формуле:

$$CER = DC / Ef,$$

где CER – соотношение «затраты – эффективность» (показывает затраты, приходящиеся на единицу эффективности); DC – прямые медицинские затраты; Ef – эффективность применения препарата (в данном исследовании – снижение гликированного гемоглобина) [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении частоты встречаемости гаплотипов однонуклеотидного полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота (C786T, rs 2070744) выявлено, что генотип СС (гомозигота по аллелю 1) распространен у лиц без нарушений углеводного обмена с частотой, не отличающейся статистически значимо от таковой у пациентов с СД2. Практически не отличаются частоты встречаемости гетерозигот (СТ) и гомозигот по аллелю 2 (ТТ) у лиц обследованных групп (табл. 1).

При проведении исследований выявлено, что у представителей гомозиготы по аллелю 2 (ТТ) отмечен более

высокий исходный уровень глюкозы плазмы натощак (ГПН), а у представителей гомозиготы по аллелю 1 (СС) – более низкий исходный уровень гликированного гемоглобина по сравнению с аналогичными показателями у двух других гаплотипов данного ОНП. В то же время исходный уровень С-пептида не отличается у представителей трех гаплотипов (табл. 2).

При медицинской технологии без проведения генотипирования обращает на себя внимание вероятность (частота встречаемости) фенотипа «ответа», при котором не требуется изменение дозы метформина или его замена, и вероятность фенотипа «провала», при котором необходимо либо увеличить дозу метформина, либо заменить его на другой препарат

В динамике 3 мес. наблюдения пациентов уровень гликированного гемоглобина и ГПН снижается статистически значимо во всех подгруппах обследованных. Обращает на себя внимание, что у представителей гомозиготы по аллелю 1 (СС) и гетерозиготы (СТ) происходит

Таблица 2. Динамика показателей гликемии при применении метформина в зависимости от гаплотипа rs 2070744 (ОНП C786T-гена эндотелиальной синтазы оксида азота), (Ме [25p; 75p])

Показатель	Гаплотип (частота)		
	СС (0,133)	СТ (0,284)	ТТ (0,583)
НbA1c до начала терапии, %	6,90 [6,70; 7,30]# p = 0,0347	7,70 [7,10; 8,50]	7,40 [7,00; 9,40]
НbA1c через 3 мес. терапии, %	5,80 [5,00; 6,90]* p = 0,035	6,95 [6,50; 7,70]* p = 0,0268	6,60 [6,30; 7,60]* p = 0,0265
ГПН до начала терапии, ммоль/л	7,70 [7,35; 8,05]	7,90 [6,60; 9,00]	8,05 [6,20; 10,00]# p = 0,0319
ГПН через 3 мес. терапии, ммоль/л	6,30 [6,00; 7,40]* p = 0,014	6,90 [6,50; 8,00]* p = 0,028	7,30 [5,40; 8,60]* p = 0,01
С-пептид до начала терапии, нг/мл	1,85 [1,20; 2,20]	2,14 [1,48; 2,80]	2,14 [1,60; 3,14]
С-пептид через 3 мес. терапии, нг/мл	2,37 [2,05; 2,70]* p = 0,027	2,90 [1,98; 3,20]* p = 0,042	1,95 [1,04; 2,65]* p = 0,041

Примечание. НbA1, % – гликированный гемоглобин, ГПН – глюкоза плазмы натощак, # – уровень статистической значимости различий между исходными показателями у представителей разных гаплотипов. * – уровень статистической значимости различий между показателями до и через 3 мес. терапии.

статистически более выраженное снижение уровня гликированного гемоглобина на 1,05% ($p = 0,011$) и 0,85% ($p = 0,036$) соответственно, при этом у представителей ТТ гаплотипа Δ HbA1c составляет 0,37% за 3 мес. наблюдений. У представителей гомозиготы по аллелю 2 (ТТ) уровень С-пептида значимо снижается на 10%, в то время как в подгруппах СС и СТ данный показатель статистически значимо возрастает на 22 и 35% соответственно относительно результатов первого обследования (табл. 2).

В результате проведенных исследований было выявлено две группы пациентов: имеющие «фенотип провала» (низкая эффективность), которым необходимы высокие дозы препарата (с развитием побочных эффектов) или его замена для достижения необходимого терапевтического эффекта, и имеющие «фенотип ответа» (достаточная эффективность) (рис. 1).

Рисунок 1. Древо решений предполагаемой пользы от определения ОНП пациентов с впервые выявленным СД2 перед применением препарата метформин



При проведении исследований по оценке затратной эффективности медицинской технологии применения препарата метформин с проведением предварительной процедуры генотипирования (с определением «фенотипа провала» и «фенотипа ответа») и без нее гипотетически рассчитывали показатель «затраты – эффективность» (табл. 3).

Однако при оценке стоимости лечения, кроме затрат на лекарственные препараты, стоимость процедуры генотипирования незначительна (150 – 200 руб.) и оплачивается однократно, т. к. полиморфизм гена не изменен. При медицинской технологии без проведения генотипирования обращает на себя внимание вероятность (частота встречае-

Таблица 3. Стоимостные характеристики сахароснижающих препаратов

Показатель цены	1 упаковка метформина 850 мг, руб.:	3 мес. лечения метформином по 850 мг 2 раза в день, руб.:
средняя	204,00	675,00
минимальная	225,00	612,00
максимальная	246,00	738,00

мости) фенотипа «ответа», при котором не требуется изменение дозы метформина или его замена, и вероятность фенотипа «провала», при котором необходимо либо увеличить дозу метформина, либо заменить его на другой препарат (табл. 4).

Таким образом, после определения «фенотипа ответа» у 1 000 пациентов при назначении только им метформина прогнозируется затрата на единицу действия от 582 860 до 868 240 руб. при снижении уровня гликированного гемоглобина за 3 мес. от 0,85 до 1,05%, в то время как при эмпирическом назначении доля пациентов с «фенотипом ответа» составит 0,133 (13,3%) и 0,284 (28,4%), а доля с «фенотипом провала» – 0,583 (58,3%). В последнем случае затраты будут представлять собой сумму из затрат на оба фенотипа (рис. 2).

Это свидетельствует о том, что процедура генотипирования перед назначением метформина с целью выявления фенотипа «ответа» позволяет уменьшить затраты на единицу эффективности сахароснижающего препарата метформин, т. е. единицу снижения уровня гликированного гемоглобина.

Выводы

Полученные результаты обосновывают фармакоэкономическую целесообразность проведения процедуры

Таблица 4. Показатель «затраты – эффективность» с учетом генотипирования

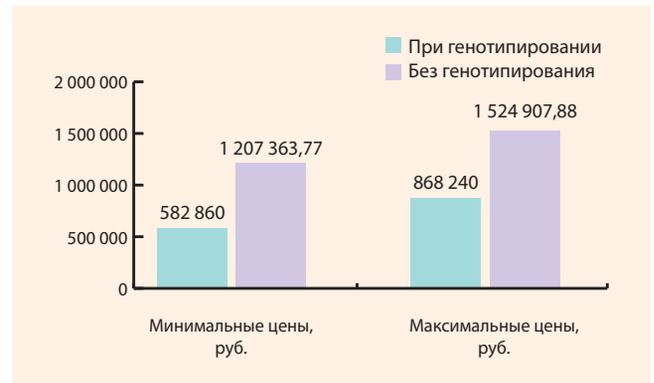
Состав	С генотипированием		Эмпирически без генотипирования		
	фенотип ответа (100%)		фенотипы ответа (13,3% + 28,4%)		фенотип провала (58,3%)
Эффективность	СС *HbA1c 1,05%	СТ *HbA1c 0,85%	СС *HbA1c 1,05%	СТ *HbA1c 0,85%	ТТ *HbA1c 0,37%
«затраты – эффективность» CER					
• средние	642,86	794,12	642,86	794,12	1824,32
• минимальные	582,86	720,00	582,86	720,00	1654,05
• максимальные	702,86	868,24	702,86	868,24	1994,60
Затраты на единицу снижения уровня HbA1c на 1 000 пациентов, руб.	от 582 860 до 868 240		На 417 пациентов от 243 052,62 до 362 056,08 + На 583 пациента 964 311,15 до 1 162 851,80 = от 1 207 363,77 до 1 524 907,88		

генетического типирования пациентов с СД2 перед началом сахароснижающей терапии. Основываясь на данных литературы, можно сделать вывод о том, что успех и эффективность сахароснижающей терапии зависят не только от своевременного начала приема пероральных сахароснижающих препаратов в монотерапии или комбинации, но и от генетических особенностей организма пациента. Полиморфизмы генов, как сами, так и в совокупности с другими факторами, влияют на успех фармакологического воздействия, определяют категории пациентов, которые в той или иной степени подвержены действию препарата, обладая т. н. «фенотипом ответа». Задачей фармакогенетики также является выявление fail phenotype-фенотипа «провала» – для определенного фармакотерапевтического подхода и тем самым устранения возможности нерациональной сахароснижающей терапии.

Полиморфизмы генов, как сами, так и в совокупности с другими факторами, влияют на успех фармакологического воздействия, определяют категории пациентов, которые в той или иной степени подвержены действию препарата, обладая т. н. «фенотипом ответа»

Поскольку метформин является препаратом первой линии [18 – 20] и назначается обширной категории пациентов при условии переносимости терапевтической

Рисунок 2. Затраты на единицу эффективности при назначении метформина (по 850 мг 2 р/сут) при применении процедуры генотипирования и без нее с учетом минимальных и максимальных цен на лекарственный препарат



дозы, необходимо изучить все особенности фармакокинетики и фармакодинамики препарата, в т. ч. и с позиции фармакогенетики, что позволит не только обеспечить оптимальный индивидуальный подход к схеме терапии в соответствии с определенным фенотипом «провала» или «ответа», но и создать предпосылки к формированию и обоснованию новых схем терапии с применением фиксированных комбинаций уже существующих средств.



ЛИТЕРАТУРА

- Дедов И.И., Смирнова О.М., Кононенко И.В. Значение результатов полногеномных исследований для первичной профилактики сахарного диабета 2 типа и его осложнений. Персонализированный подход. *Сахарный диабет*, 2014, 2: 10-19.
- Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина. *Acta Natura*, 2010, 2, 4(7): 18-34.
- Носиков В.В., Серегин Ю.А. Молекулярная генетика сахарного диабета типа 1: достижения и перспективы. *Молекулярная биология*, 2008, 42(5): 867-879.
- Miranda JA, Belo VA, Souza-Costa DC. eNOS polymorphism associated with metabolic syndrome in children and adolescents. *Mol Cell Biochem*, 2013, 372(1-2): 155-160. doi: 10.1007/s11010-012-1456-y.
- Бондарь И.А., Шабельникова О.Ю. Генетические основы сахарного диабета 2 типа. *Сахарный диабет*, 2013, 4: 11-16.
- Vecoli C et al. T(-786) C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with insulin resistance in patients with ischemic or non ischemic cardiomyopathy. *BMC Med Genet*, 2012, 13: 92. doi: 10.1186/1471-2350-13-920015813 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2350/13/92>.
- Nakayama M et al. T-786 C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation*, 1999, 99: 2864-2870.
- Alkharfi KM, Al-Daghri NM, Al-Attas OS et al. Variants of endothelial nitric oxide synthase gene are associated with components of metabolic syndrome in an Arab population. *Endocr J*, 2012, 59(3): 253-263. Epub 2012 Jan 12.
- Dellamea BS et al. Nitric oxide system and diabetic nephropathy. *Diabetol Metab Syndr*, 2014, 6(1): 17. doi: 10.1186/1758-5996-6-17.
- Ezzidi I. et al. Association of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and -786T>C gene variants with diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications*, 2008, 22(5): 331-338. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2007.11.011.
- Ezzidi I et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and -786C polymorphisms in type 2 diabetic retinopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008, 68(4): 542-546.
- Matsa LS et al. Haplotypes of NOS3 gene polymorphisms in dilated cardiomyopathy. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70523. doi: 10.1371/journal.pone.0070523. Print 2013.
- Бондарь И.А., Климентов В.В. Метформин в лечении сахарного диабета 2 типа: новые данные об известном препарате. *Эффективная фармакотерапия в эндокринологии*, 2010, 1: 14-18.
- Кравчук Е.Н., Галагузда М.М. Применение метформина при сочетании ишемической болезни сердца и сахарного диабета 2 типа: механизмы действия и клиническая эффективность. *Сахарный диабет*, 2013, 1: 5-14.
- Bestermann WH Jr. The ADMA-Metformin Hypothesis: Linking the Cardiovascular Consequences of the Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. *Cardiorenal Med*, 2011, 1(4): 211-219.
- Зорина В.В. Основы полимеразной цепной реакции. М., 2012. 80 с.
- Клинико-экономический анализ. Под ред. П.А. Воробьева. 3-е изд., доп. с приложениями. М.: НЬЮДИАМЕД, 2008. 778 с.
- Смирнова О.М. Место метформина в современном лечении и профилактике сахарного диабета 2 типа. *Сахарный диабет*, 2010, 3: 83-90.
- Александров А.А. Метформин – «миледи» сахарного диабета. *РМЖ*, 2012, 14: 666-670.
- Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. 7-е изд. М.: ФГБУ ЭНЦ, 2014. 112 с.