



# Otrā tipa diabēta farmakoģenētika. OPTIMED pētījums

*VVP4.2 seminārs*  
Linda Tarāsova MSc. Biol.

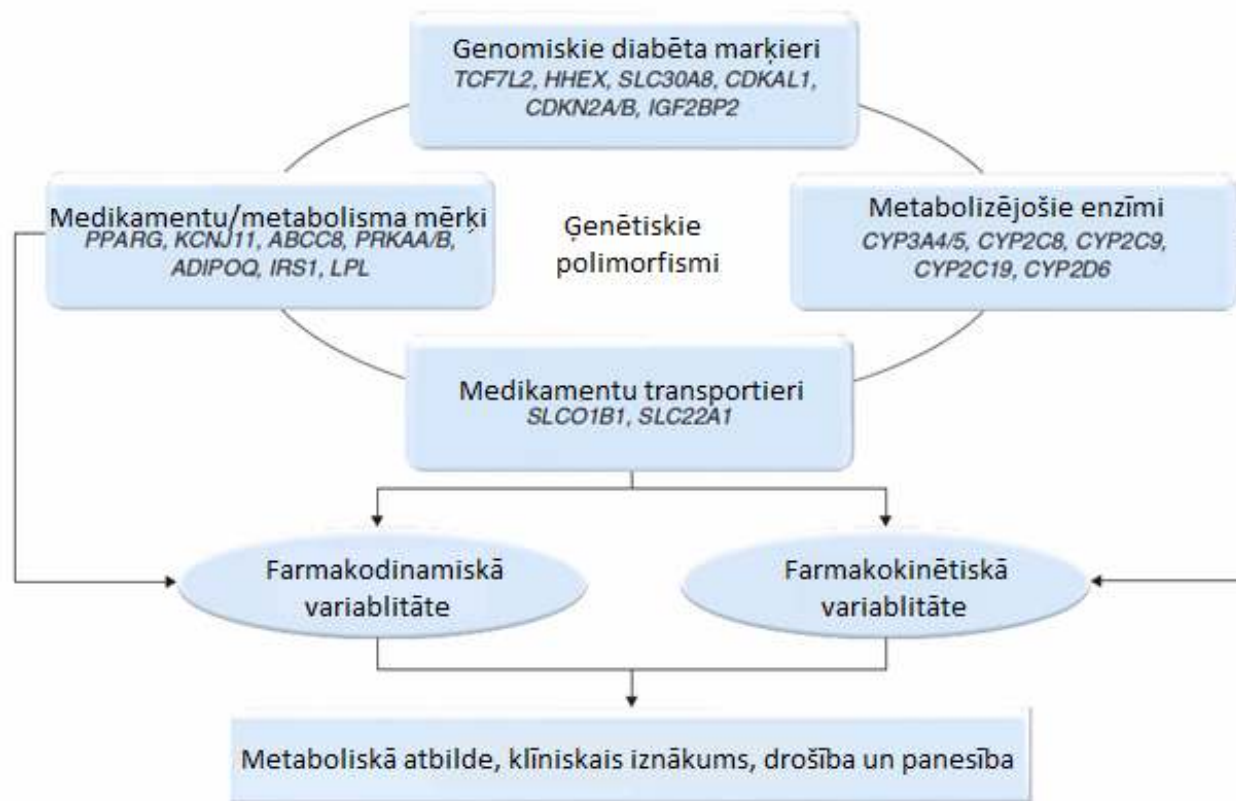
2010. gada 30. septembris

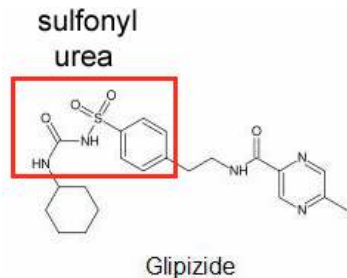
**2009. gada janvārī Latvijā bija reģistrēti 62 000 cukura diabēta slimnieki, 90% gadījumu ir diagnosticēts 2.tipa diabēts.**

2. Tipa diabētu ir iespējams ārstēt ar deviņu klašu apstiprinātiem medikamentiem, kā arī ar diētu un fiziskām aktivitātēm. Klīniskajā praksē ir pierādījies, ka pastāv tikai neliela iespēja paredzēt pacienta individuālo reakciju uz medikamentu.

- Insulīni,
- Sulfanilurea,
- Tiazolidīndioni,
- Biguanīdi,
- Meglitinīdi,
- $\alpha$ -Glukozidāzes inhibitori,
- Glukagonam līdzīgā peptīda 1 mimētiķi,
- Amilīna mimētiķi,
- Dipeptidilpeptidāzes 4 inhibitori.

## 2.TIPA DIABĒTA PERORĀLĀS ANTIDIABĒTISKĀS TERAPIJAS FARMAKOĢENĒTIKA





## Sulfanilurea

Sulfanilurea saistās pie pankreatisko  $\beta$  šūnu virsmas receptoru kompleksa. Rezultātā tiek noslēgti K kanāli, Na ieplūšana izraisa šūnas depolarizāciju un notiek no glikozes līmeņa neatkarīga insulīna atbrīvošana. HbA1c samazinās par aptuveni 1-2%

**Sulfanilurea kompleksu kodē vairāki gēni, ieskaitot *KCNJ11* (K kanāls) un *ABCC8* (ATP-binding cassette transporter sub-family C member 8).**

### Terapija:

- Stimulē insulīna sekrēciju

**Blaknes:** hipoglikēmija, svara pieaugums.

Grupa	vidējais HbA <sub>1c</sub> samazinājums	Eliminācijas half life	Metabolizējošie enzīmi (gēna nosaukums)	Transportieri (gēna nosaukums)	Mērķis, efektor-proteīns, slimību ietekmējošs gēns (gēna nosaukums)
Sulfanilurea Glyburide (glibenclamide) Glipizide Glimepiride	1 – 2%	4 – 10 h	CYP2C9 (CYP2C9)	? P-glycoprotein (ABCB1) ? OATP2B1 (SLCO2B1) ? BCRP (ABCG2) ? MRP3 (ABCC3)	Kir6.2 (KCNJ11) SUR1 (ABCC8) IRS-1 (IRS1) HNF-1α (HNF1A) TCF7L2 (TCF7L2)

## 2. Tipa diabēta kandidātģēni:

1. **KCNJ11 Lys23** variantam (gēna Glu23Lys nesinonimajam polimorfismam) ir palielināta secondary failure (sulfanilurea-metformīna kombinētās terapijas un optimāla dzīvesveida neefektivitāte, jo fasting plasma glucose >300mg/dl, nepieciešams insulīns). OD 1.45 (95% CI:1.01-2.09,p=0.04)
2. **ABCC8 haplotipa SUR1** nesējiem tika konstatēts par 50% samazināts seruma C-peptīds un par 40% reducēts seruma insulīna atbilde 2TD pacientiem ar kombinētu genotipu (medikaments tolbutamīds). Domājams, SNP maina SU afinitāti.
3. **Insulīna receptora substrāta 1 (IRS1) Arg 972 alēle** Gly972Arg polimorfismam ir sastopama 8.7% pacientiem, kas labi reaģē uz perorālo terapiju un 16.7% pacientiem, kuriem konstatēta sulfanilurea secondary failure (SF) (OD: 2.1,95% CI:1.18 – 3.70, p=0.01). Šajā pētījumā insulīna terapijas uzsākšana definēta kā SF.

### Metabolizējošie enzīmi

1. **CYP2C9 (\*2,\*3)**
2. **CYP2C19 (mazāk)**

### Transportieris

1. ?OATP2B1 (vairāk – meglitinīdi, mazāka ietekme uz SU un TZD)
2. ?P-glycoprotein(maza ietekme)

# Tiazolidīndioni

TZD saistās pie PPAR- $\gamma$  ( izoforma ir nozīmīga arī GLUT1 un GLUT4 glikozes transportieru ekspresijā un adipocītu diferenciācijā). TZD galvenokārt tiek metabolizēts aknās ar citohromu P450.

Klīniskajā praksē tiek lietoti TZD preparāti: pioglitazons (galvenokārt tiek metabolizēts ar CYP2C8 un mazāk ar CYP3A4 in vitro) un rosiglitazons (galvenokārt tiek metabolizēts ar CYP2C8 un mazāk ar CYP2C9).

## Terapija:

- PPAR- $\gamma$  antagonists
- Regulē insulīna un lipīdu metabolismā iesaistītos gēnus
- Uzlabo insulīna sensitivitāti
- Nestimulē insulīna izdalīšanos

**Blaknes:** galvassāpes, muskuļu sāpes, tūskas, saaukstēšanās simptomi, slikta dūša, dubultošanās, aizdusa. Iespējama nelabvēlīga ietekme uz sirdi.

Grupa	vidējais HbA <sub>1c</sub> samazinājums	Eliminācijas half life	Metabolizējošie enzīmi (gēna nosaukums)	Transportieri (gēna nosaukums)	Mērķis, efektorproteīns, slimību ietekmējošs gēns (gēna nosaukums)
TZD Rosiglitazone Pioglitazone	0.5 – 1.4%	3–7 h	CYP2C8 (major) – rosiglitazone and pioglitazone (CYP2C8) CYP2C9 (minor) – rosiglitazone (CYP2C9) CYP3A4 (minor) – pioglitazone (CYP3A4) CYP1A1 (minor) – pioglitazone (CYP1A1)	? OATP1B1 (SLCO1B1)	PPARγ (PPARG) Adiponectin (ADIPOQ) Lipoprotein lipase (LPL) Perilipin (PLIN)

## 2. Tipa diabēta kandidātgēni

### 1. PPARG proline 12 alanine(u.c.)

Transportieri – neviens

Metabolizējošais enzīms-

1. CYP2C8\*3 alēle (u.c.) asociējas ar TZD augstāku oral clearance (?), un zemāku koncentrāciju plazmā, salīdzinot ar wild type.

Efektorproteīns (pretrunīgi dati);-

#### 1. ADIPOQ;

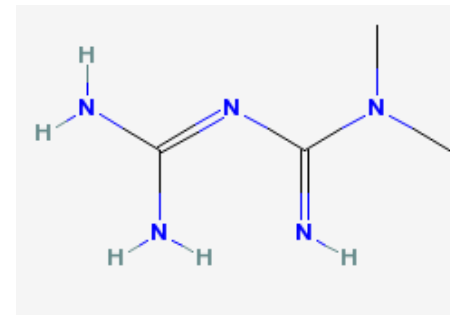
2. Lipoproteīna lipāzes (LPL) polimorfismam – Ser447X iespējams ir asociēts ar zemāku atbildi uz pioglitazona terapiju. Ser447Ser genotipam ir būtiski augstāka atbilde uz terapiju (OD=0.538 /0.298-0.974/;p=0.0403), kā Ser447X genotipa grupai.

# Biguanīdi

Viens no plašāk lietotajiem 2. tipa diabēta perorālās terapijas līdzekļiem ir metformīns, kas satur aktīvo vielu - metformīna hidrohlorīdu.

## Metformīna terapija:

- Samazina papildu glikozes izstrādi aknās
- Insulīns efektīvāk nogādā glikozi audos
- Samazina svaru
- Neizraisa hipoglikēmiju
- Samazina sirds un asinsvadu slimību risku



<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

1,1-dimetil-biguanīds  
1,1-dimethyl-biguanide

**Blaknes:** biežākās blaknes ir kuņģa kairinājums, gastrointestinālā trakta traucējumi, vemšana, nelabums. Ļoti reti – laktacidoze.

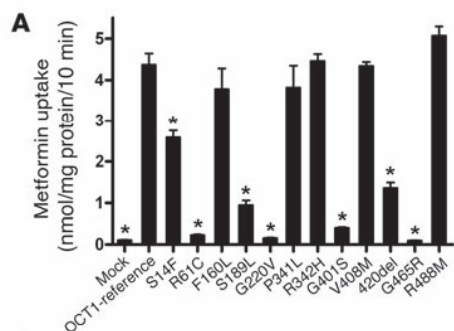
Līdz 36% neefektivitāte



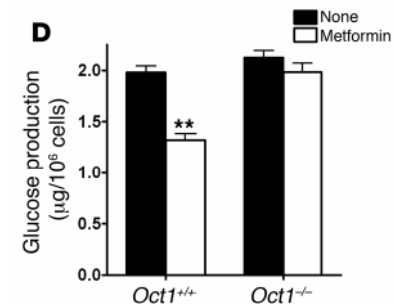
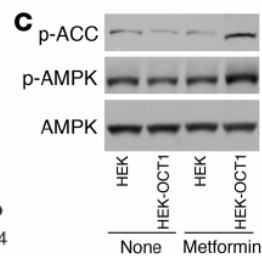
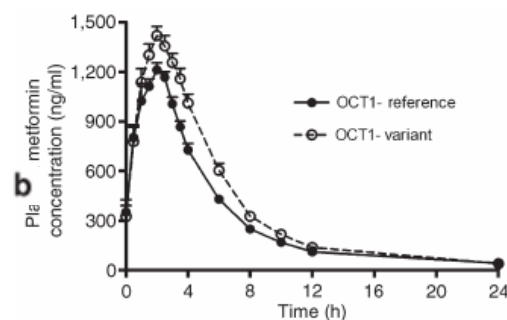
Metformīns reducē aknu glikoneoģenēzi, tomēr tā darbības mehānisms nav skaidrs. HbA<sub>1c</sub> samazinās par aptuveni 1-2%. Organisko katjonu 1 transportieris (OCT1) transportē metformīnu hepatocītos, OCT2 transportieris transportē metformīnu nieru epitēlijā, MATE1 un MATE2 ir ekspresēti brush border un izvada metformīnu urīnā un žultī.

1. **OCT1**
2. **OCT2**
3. **MATE1**
4. **MATE2**

Grupa	vidējais HbA <sub>1c</sub> samazinājums	Eliminācijas half life	Metabolizējošie enzīmi (gēna nosaukums)	Transportieri (gēna nosaukums)	Mērķis, efektor-proteīns, slimību ietekmējošs gēns (gēna nosaukums)
Biguanīdi Metformīns	1.5%	6 h	Nav	OCT1 (SLC22A1) OCT2 (SLC22A2)	Kir6.2 (KCNJ11) SUR1 (ABCC8) PPARγ (PPARG) TCF7L2 (TCF7L2) IRS-1 (IRS1) HNF-1α (HNF1A)

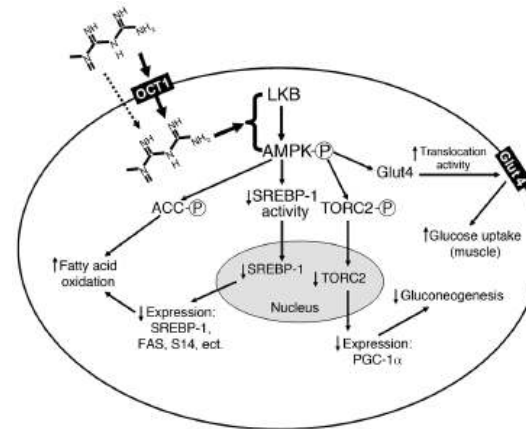
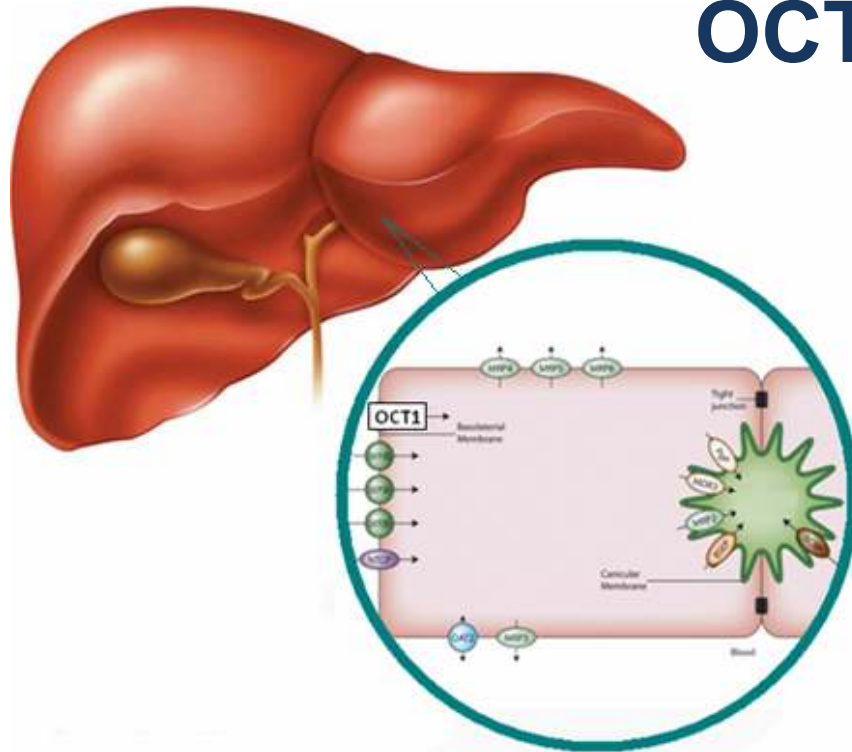


Stably transfected HEK293 cells, Human OCT1

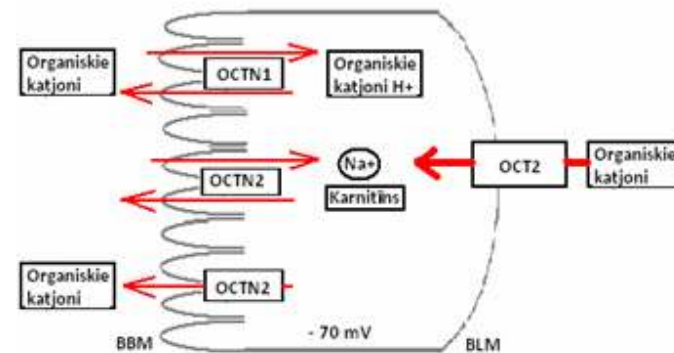
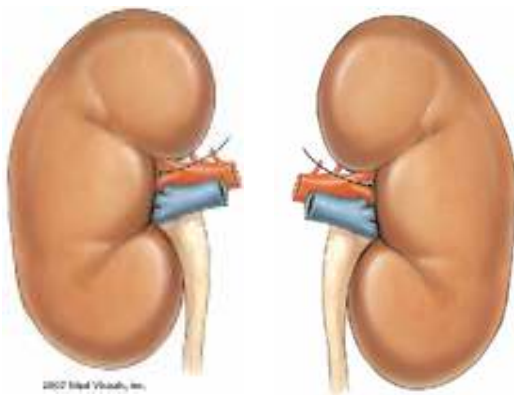


\*\*P < 0.001 versus no treatment (2-tailed Student's test).

# Metformīna transportieri OCT1 OCT2 un MATE1



Metformīna iespējamais iedarbības mehānisms aknu šūnā (Shu et al.)



Organisko katjonu sekrēcija un karnitīna reabsorbcija nieru epiteliālajās šūnās (Fujita et al.)

## Mērķis:

Darba mērķis bija identificēt potenciālos metformīna nepanesības marķierus – polimorfismus, kas asociētos ar metformīna terapijas intoleranci.

## Uzdevumi:

- Identificēt bieži sastopamus polimorfismus, kuri ietekmē OCT1, OCT2 un MATE1 transportieru efektivitāti;
- Sadarbībā ar Paula Stradiņa Klīniskās Universitātes slimnīcas endokrinologiem izstrādāt nepanesības anketu un iesaistīt projektā 2.tipa diabēta pacientus ar metformīna nepanesību;
- Veikt ģenētiskās analīzes un datu statistisko apstrādi, ar mērķi izveidot klīniskajā praksē pielietojamu testu metformīna nepanesības identificēšanai.



**Sadarbības partneris: Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca**

Projekta īstenošanas periods: 2009. gada oktobris – 2010. gada augusts

## Dalībnieku atlase:

Projektam tika atlasīti 285 dalībnieki, kontroles grupa (n=236) un metformīna nepanesības grupa (n=49).

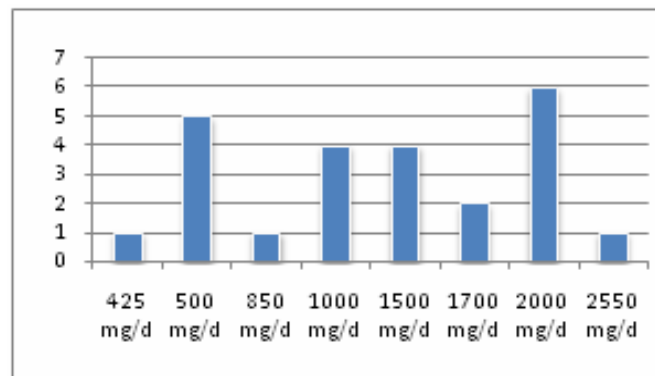
- **Metformīna nepanesības grupā** tika iekļauti pacienti, kuriem metformīna terapija (monoterapija vai kombinēta terapija) izraisīja blaknes.
- **Kontroles grupā** tika iekļauti pacienti, kuriem ordinēts metformīns (monoterapija vai kombinēta terapija) vismaz 500 mg/ dienā (dati iegūti no pacientu epikrīzēm) un nav novērotas blaknes.

Metformīna nepanesības grupas dalībnieki aizpildīja Metformīna nepanesības anketu un nodeva metformīna metabolisma analīzes.

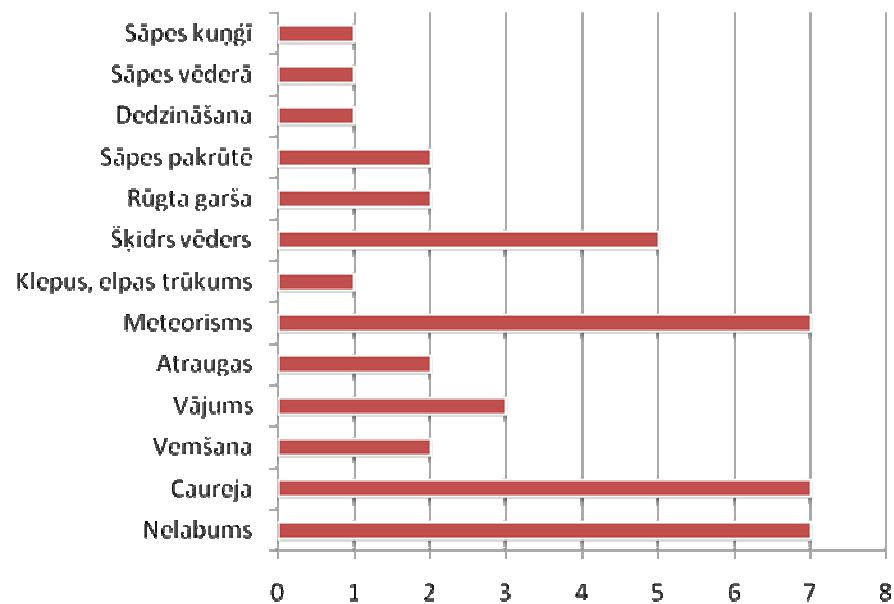
Bioķīmiskās analīzes nosaukums	Vidējā vērtība	Standartnovirze (SD)	Norma
Kreatinīns (mmol/L)	75,17	19,00	30-80
Glomerulu filtrācijas ātrums (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	83,44	21,38	> 91
HbA1c (%)	7,79	1,26	< 6.0
Holesterīns (mmol/L)	5,41	1,30	< 5.0
ABLH (mmol/L)	1,18	0,32	> 1.10
ZBLH (mmol/L)	3,28	1,09	<3.0
Triglicerīdi (mmol/L)	2,25	1,12	<2.0
Albumīna/Kreatinīna attiecība (mg/mmol)	3,33	6,35	-

# Rezultāti

Att.1. Metformīna deva, kas izraisa blaknes.  
Fig.1. Dosage-related side-effects.



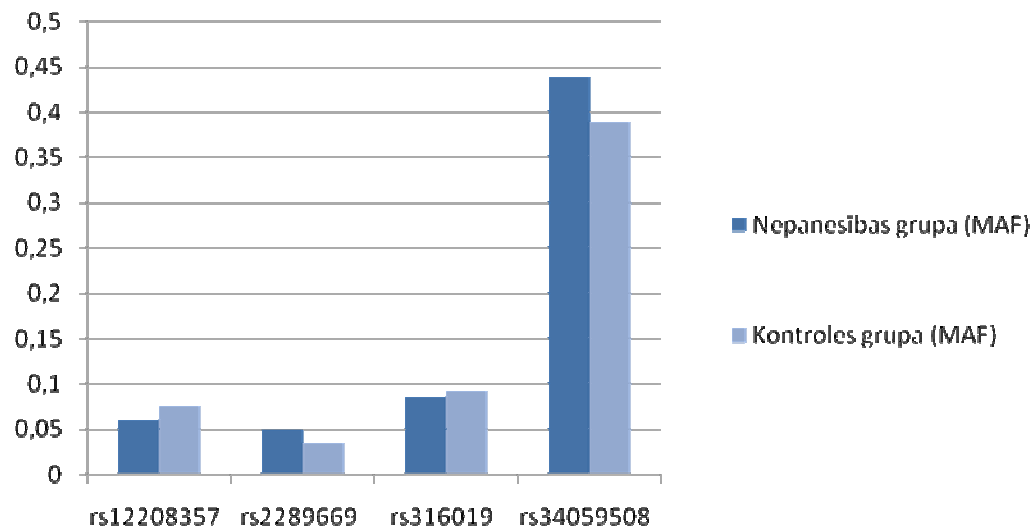
Att.2. Metformīna blaknes.  
Fig.2. Metformin side-effects.



# Rezultāti

Att.3. Genotipēšanas datu analīze.

Fig.3. Analysis of data



SNP kods	Transpor- tieris	Pozīcija	Alēle 1*	Alēle 2*	MAF 1 Nepanesības grupa	MAF 1** kontroles grupa	MAF 2**	MAF 3**
rs12208357	OCT1	R61C	T	G	0.061	0.076	0.04	0.074
rs2289669	OCT1	introns	T	C	0.049	0.046	0.03	0.016
rs316019	OCT2	A270S	A	C	0.085	0.092	0.21	0.113
rs34059508	MATE1	G465R	C	T	0.439	0.389	0.43	0.486

\*Alēle 1 ir retākā alēle, alēle 2 ir biežāk sastopamā alēlē;

\*\*Minorās alēles frekvence no 1) rezultātiem; 2) Applied Biosystems datiem (35); 3) NCBI (67);

# Rezultāti

**Att. 4. Alēļu asociācijas testa rezultāti.**  
**Figure. 4. Results of allelic association test.**

SNP kods	Transportieris	P vērtība	Alēļu OR [95% CI]	HW
rs12208357	OCT1	0.632	0.7891 (0.2986-2.085)	0.14555
rs2289669	OCT1	0.5307	1.227 (0.7617-1.977)	1.0
rs316019	OCT2	0.8444	0.9193 (0.3968-2.13)	0.1436
rs34059508	MATE1	0.3997	1.432 (0.4632-4.43)	0.5178

Analizējot ģenētisko analīžu datus ar programmu PLINK (alēļu frekvenču biežuma, kā arī genotipu asociācija pielietojot recesīvos un dominantos ģenētiskās analīzes modeļus) tika atklāts, ka neviena no genotipēto polimorfismu alēļu vai genotipu frekvencēm nav būtiski ( $P > 0.05$ ) atšķirīga starp kontroles (pacienti ar metformīna panesamību) un gadījumu (pacienti ar metformīna intolerance) grupām.

# Secinājumi

- Sadarbībā ar Paula Stradiņa Klīniskās universitātes endokrinologiem tika **izstrādāta metformīna nepanesības anketa** un **ievākta fenotipiski labi aprakstīta metformīna nepanesības grupa**.
- Metformīna terapijas nepanesības **simptomi metformīna terapijas nepanesības grupā atbilst VZA medikamenta blakusparādību aprakstam**. Izplatītākās blaknes metformīna nepanesības grupā ir meteorisms, caureja un nelabums.
- Metformīna nepanesības anketas **dati apstiprina metformīna nepanesības dalījumu relatīvajā un absolūtajā metformīna intolerancē**.
- Metformīna nepanesības anketas apkopotie dati liecina, metformīna nepanesības gadījumā puse pacientu pārtrauc terapiju. Savukārt trešdaļa turpina lietot līdzšinējo terapiju, lai arī blaknes nav novērstas. **Jāsecina, ka, iespējams, metformīna nepanesības gadījumā būtisks skaits pacientu turpina sev neatbilstošu terapiju**.
- Paraugkopā tika genotipēti četri polimorfismi (rs12208357 un rs34059508 (OCT1), rs316019 (OCT2) un rs2289669 (MATE1), kas izmaina transportiera efektivitāti un ir izplatīti populācijā. **Visiem genotipētajiem polimorfismiem MAF atbilst eiropiešu populācijā identificētajai minorās alēles frekvencei**.
- Veicot genotipēšanas datu statistisko analīzi **nav identificēta polimorfismu saistība ar metformīna nepanesību, salīdzinot polimorfismu sastopamības biežuma atšķirību abās pacientu grupās**.



## OPTIMED

### *Diabēta pacientu optimālas personalizētas ārstēšanas programma*

Klīniskais pētījums OPTIMED tiek organizēts Valsts pētījumu programmas „Jaunu profilakses, ārstniecības, diagnostikas līdzekļu un metožu, biomedicīnas tehnoloģiju izstrāde sabiedrības veselības uzlabošanai” ietvaros. Programmas ilgums no 2010. līdz 2014. gadam ar iespējamu pagarinājumu.

Programmas mērķis ir aizkavēt un novērst diabēta komplikāciju attīstību, kas ir iespējams ar efektīvas un individualizētas ārstēšanas palīdzību. Optimālas personalizētas ārstēšanas programmā katru gadu tiks iesaistīti 300 (kopumā 1000) pacienti ar jaundiagnosticētu 2. tipa cukura diabētu, lai uzsāktu ārstēšanu pēc mūsdienīga algoritma un veiktu regulāru novērošanu un ārstēšanas efektivitātes izvērtēšanu.

Projekta līdzvadītāji:

 <p>Valsts pētījumu programmas vadītājs:</p>	 <p>Latvijas Endokrinologu asociācija</p>	 <p>Valsts ledzīvotāju genoma datu bāze</p>	 <p>Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca</p>
 <p>prof. Valdis Pīrāgs</p>	 <p>doc. Ilze Konrāde</p>	 <p>dr. biol. Jānis Kloviņš</p>	 <p>prof. Aivars Lejnīks</p>

## Uzdevumi

- 3 gadu laikā iesaistīt programmā 1000 jaundiagnosticētu 2. tipa diabēta pacientus, lai uzsāktu ārstēšanu pēc mūsdienīga algoritma un veiktu regulāru novērošanu un ārstēšanas efektivitātes izvērtēšanu
- Iesaistītajiem pacientiem regulāri tiks veiktas asins bioķīmiskās analīzes un 7-8 reizes endokrinologs novērtēs pacienta veselības stāvokļa izmaiņas
- Ņemot vērā pacienta fenotipu, bioķīmiskās analīzes un ģenētisko profilu, ar mērķi prognozēt pacientam nozīmētās terapijas efektivitāti un identificēt pacientu tipus pēc atbildes uz medikamentozo terapiju, tiks salīdzinātas divas grupas, no kurām vienai tiks ordinēta tradicionāla terapija un otrai ārstēšanā tiks pielietota personalizētās ārstēšanas stratēģija., atbilstoši katra pacienta individuālajiem bioķīmiskajiem un ģenētiskajiem marķieriem.

## 2. TIPA DIABĒTA PACIENTU IESAISTĪŠANAS SHĒMA

### IEKĻAUŠANAS KRITĒRIJI

- 1) Pirmreizējs 2TD un uzsākama perorālā terapija
- 2) 2TD, 3 mēneši nav lietota perorālā vai insulīna terapija
- 3) Pirmreizējs 2TD, stacionārā akūti uzsākta intensificētā insulīna terapija, kas tālāk netiek turpināta

### 1. VIZĪTE

Pacientam piedāvā dalību OPTIMED pētījumā un VIGDB

Bioķīmiskās analīzes: glikoze, insulīns, HbA<sub>1c</sub>, C peptīds, triglicerīdi, holesterīns, ABL holesterīns, ZBL holesterīns un kreatinīns

-1-Pacients var saņemt nosūtījumu un doties uz E. Gulbja laboratorijas filiāli

-2-Medmāsa var ievākt un uzglabāt asins paraugus atbilstoši protokolam, loģistiku nodrošina E. Gulbja laboratorijas kurjers

Tiek veikta intervija un antropometriskie mērījumi: vidukļa apkārtmērs, asinsspiediens un svars

Tiek ordinēta terapija atbilstoši ārsta pieredzei un diabēta terapijas standartalgoritmam

### TELEFONINTERVIJA

Intervijā (nedēļu pēc terapijas uzsākšanas) tiek uzdoti jautājumi par ordinētā perorālā antidiabētiskā medikamenta iedarbību un blaknēm

### 2. VIZĪTE ( 3. mēnesis )

Tiek veikta intervija un antropometriskie mērījumi: vidukļa apkārtmērs, asinsspiediens un svars

Bioķīmiskās analīzes : HbA<sub>1c</sub> analīzes tiek veiktas 3 mēnešus pēc terapijas uzsākšanas, pieļaujamas atkāpes +/- 3 dienu robežās (Ja tiek uzsākta insulīna terapija, pacients turpina dalību pētījumā, turpmāk netiek noteikts C peptīds\*).

Notiek nejaušināta pacientu sadale divās grupās – viena grupa turpina ārsta nozīmēto terapiju, otras grupas pacientu terapija tiek individualizēta pēc genotipa un fenotipa rekomendācijām (rekomendācijas tiek izsniegtas 6-12 mēnešu laikā).

### 3. VIZĪTE (9. mēnesis)

Tiek veikta intervija un antropometriskie mērījumi: vidukļa apkārtmērs, asinsspiediens un svars

Bioķīmiskās analīzes: glikoze, insulīns, HbA<sub>1c</sub>, C peptīds\*, triglicerīdi, holesterīns, ABL holesterīns, ZBL holesterīns un kreatinīns

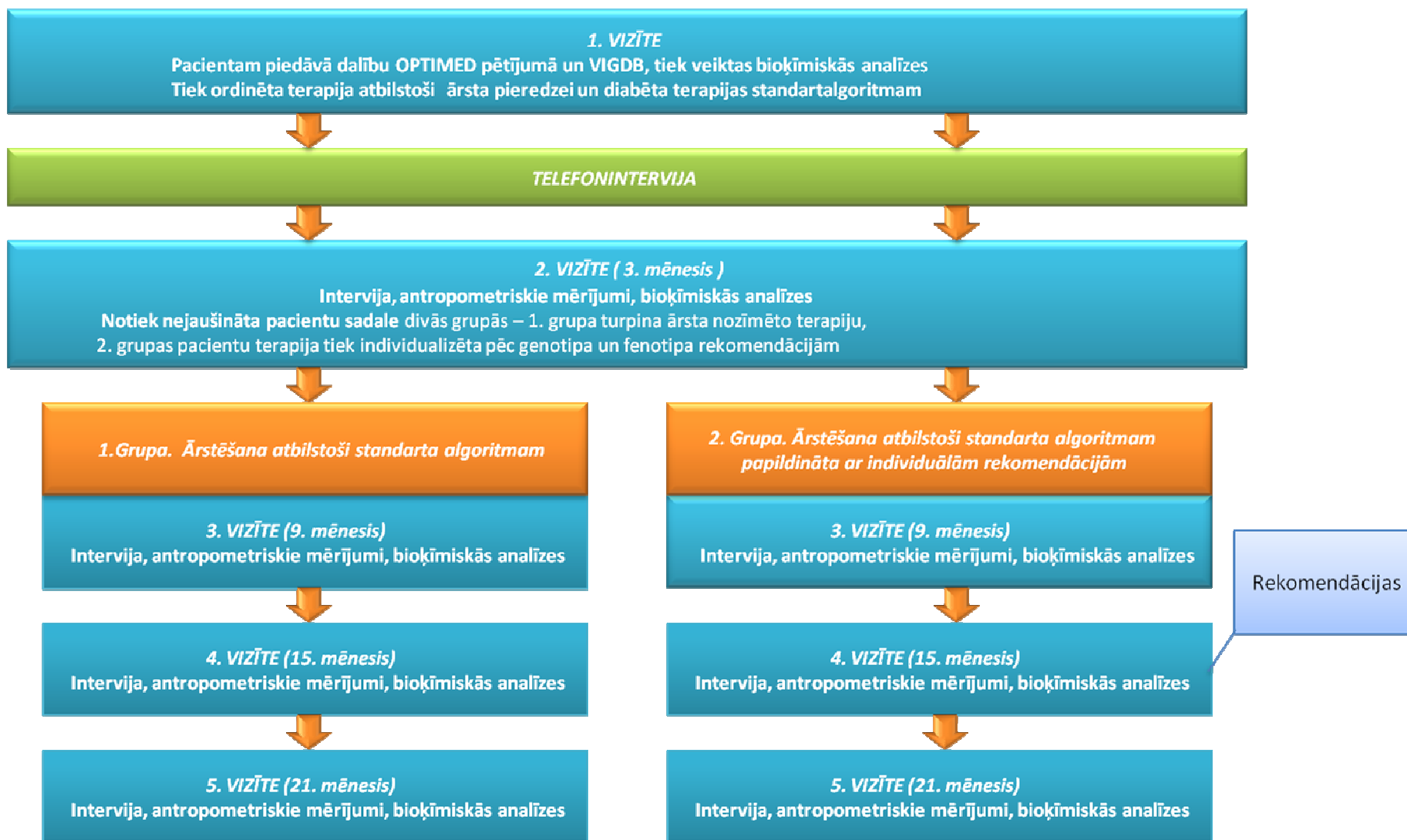
-1-Pacients var saņemt nosūtījumu un doties uz E. Gulbja laboratorijas filiāli

-2-Medmāsa var ievākt un uzglabāt asins paraugus atbilstoši protokolam, loģistiku nodrošina E. Gulbja laboratorijas kurjers

Terapija atbilstoši ārsta pieredzei un diabēta terapijas standartalgoritmam

Tālāk vizītes un bioķīmiskās - ik pēc 6 mēnešiem: 15., 21., 27., 33. mēnesis

## 2. TIPA DIABĒTA PACIENTU ĀRSTĒŠANAS SHĒMA



- Tiks noskaidrota Latvijas populācijā esošo polimorfismu ietekme uz dažādu perorālo antidiabētisko medikamentu efektivitāti un panesamību, un izstrādāts ģenētisko variāciju panelis farmakoģenētiskajam diagnostikas testam.
- Prospektīva novērojuma laikā vairāku gadu garumā tiks analizēti terapijas efektivitātes un panesamības rādītāji atkarībā no pacienta fenotipa un genotipa.
- Tradicionālā uz algoritmu balstītā ārstēšanas shēma tiks salīdzināta ar personalizētās ārstēšanas stratēģiju, atbilstoši katra pacienta individuālajiem bioķīmiskajiem un ģenētiskajiem marķieriem



# Otrā tipa diabēta farmakoģenētika. OPTIMED pētījums

*VVP4.2 seminārs*  
Linda Tarāsova MSc. Biol.

2010. gada 30. septembris