

Гормонально-метаболические и генетические маркеры чувствительности к метформину при диабете и раке: предсказание и реальность

Берштейн Л.М., Васильев Д.А., Иевлева А.Г., Порошина Т.Е., Имянитов Е.Н.

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург
(директор – д.м.н., проф. А.М. Беляев)

Цели. 1. Сопоставить особенности гормонально-метаболического статуса у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2), имеющих и не имеющих онкологического заболевания, с носительством однонуклеотидных полиморфизмов, указывающих на потенциальную чувствительность к метформину или на ее отсутствие. 2. Сравнить частоту исследованных генотипов у больных, ответивших или не ответивших на реальное использование метформина изменением величины гормонально-метаболических показателей или маркеров возможного антинеопластического эффекта препарата.

Материалы и методы. К исследованию привлечено 167 страдавших или не страдавших диабетом женщин в возрасте от 43 до 88 лет с длительностью менопаузы не менее одного года. У 156 из них изучены полиморфные варианты генов, в отношении которых уже высказывались предположения о связях с ответом на метформин, а у 55 исследовался ответ на прием метформина в дозе 1–1,7 г с оценкой динамики гормонально-метаболических показателей и суррогатных «антинеопластических» маркеров (толщина эндометрия, маммографическая плотность молочных желез).

Результаты. Постменопаузальные больные СД2 – носительницы различных генетических маркеров потенциального позитивного ответа на метформин, не имея единого гормонально-метаболического фенотипа, все же тяготеют к изменениям показателей, ассоциированных с инсулинорезистентностью (НОМА-IR) и/или со стероидным компонентом (уровнем эстрадиола в крови). Хотя и «метаболический», и условный «антинеопластический» ответ на реальный прием бигуанида были чаще эффективными при более высокой липидемии и тенденции к гиперэстрогемии, второй из этих ответов при избранных нами условиях проявлялся реже, чем «метаболический». Сопоставляя маркеры направленности предположительного и реального ответа на метформин, приоритет среди 8 исследованных полиморфизмов следует, по полученным данным, отдать носительницам генотипа СС транспортера органических катионов 1 (OCT1_R61C).

Заключение. Представленные в работе результаты указывают на оправданность избранного подхода, целесообразность его дальнейшего совершенствования и проверки за счет увеличения числа пациенток, получавших метформин в лечебных или исследовательских целях.

Ключевые слова: метформин; чувствительность к терапии; сахарный диабет 2 типа; онкопатология; инсулинорезистентность; эстрадиол; генетические полиморфизмы

Hormonal, metabolic and genetic predictors of metformin efficacy in patients with diabetes mellitus and cancer

Bershteyn L.M., Vasil'ev D.A., Ievleva A.G., Poroshina T.E., Imyanitov E.N.
Petrov Research Institute of Oncology, St. Petersburg, Russian Federation

Aims. (1) To compare hormonal and metabolic profile of type 2 diabetes mellitus patients (T2DM) with or without neoplastic processes with the data from screening for SNPs affecting sensitivity to metformin. (2) To compare the abovementioned parameters including relevant genotype frequency in patients with positive and negative response to metformin.

Materials and Methods. A total of 167 patients, all female, aged 43 to 88 years in menopause no shorter than 1 year, with or without history of T2DM were enrolled in this study. 156 patients underwent genetic screening for SNPs that were previously suggested as relevant to metformin efficacy. 55 patients received metformin 1000-1700 g daily with hormonal and metabolic monitoring and assessment of surrogate antineoplastic markers (such as endometrial thickness and mammographic density of mammary glands).

Results. There was no unifying hormonal or metabolic phenotype for patients with given metformin-associated SNPs. However, we observed a certain trend for alterations in HOMA-IR and plasma estradiol levels. Dyslipidemia and elevated estradiol levels were positively associated with both types of positive response to metformin – ‘metabolic’ and ‘antineoplastic’ – though the latter was observed less frequently. Our data suggests that among 8 studied SNPs, the OCT1_R61C genotype (organic cation transporter-1) carriers require more close attention.

Conclusion. Larger studies are required for further elucidation of the genetic background for metformin action in patients with various forms of cancer.

Keywords: metformin; efficacy; type 2 diabetes mellitus; cancer; insulin resistance; estradiol; single nucleotide polymorphisms

DOI: 10.14341/DM2014121-28

Метформин принадлежит к числу наиболее широко используемых антидиабетических препаратов, что подтверждается в отдельных странах и данными специального статистического учета [1]. В дополнение, последнее десятилетие ознаменовалось и новой волной интереса к этому бигуаниду как к средству с вероятными противоопухолевыми свойствами [2, 3]. Особенностью метформина в случае применения как у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2), так и по другим показаниям у людей, не страдающих диабетом, является вариабельность выраженности его эффектов. Среди иных причин [4, 5] эта вариабельность может быть объяснена и различиями в индивидуальной чувствительности к данному препарату. Известны две основные группы маркеров, на основании которых делаются попытки предсказания того, насколько эффективным может оказаться использование метформина при лечении эндокринных заболеваний (прежде всего, СД2, а также поликистоза яичников и ожирения). Такие маркеры могут быть обозначены как гормонально-метаболические (к числу которых нередко относят избыточную массу тела и признаки инсулинорезистентности [6], хотя полного единодушия в этом вопросе не достигнуто [7]) и генетические. В случае последних речь идет преимущественно о полиморфных вариантах генов, кодирующих белки, ассоциированные с утилизацией/метаболизмом метформина и механизмом его действия (см. более подробно в работах [8, 9] и ниже). В отношении предикторов возможного противоопухолевого действия метформина (в особенности, в том случае, когда опухолевая ткань для анализа недоступна) вопрос находится на достаточно ранней стадии своего изучения [9, 10].

Целью настоящего исследования, проводившегося на группе постменопаузальных женщин, явилось: а) сравнение гормонально-метаболического статуса у больных с впервые выявленным СД2, имеющих и не имеющих онкологического заболевания, а также у онкологических больных без СД2 и здоровых женщин в том случае, когда они были или не были носительницами однонуклеотидных полиморфизмов (SNP's), указывающих на потенциальную чувствительность к метформину, и б) сравнение особенностей генотипа в подгруппах больных, ответивших или не ответивших на реальное использование метформина изменением величины гормонально-метаболических показателей или суррогатных маркеров возможного антинеопластического эффекта препарата.

Материалы и методы

К исследованию было привлечено 167 женщин в возрасте от 43 до 88 лет ($M \pm m$, $61,3 \pm 0,8$ года) с длительностью менопаузы не менее одного года. Группа включала в себя больных СД2 без онкологических заболеваний ($n=32$), больных с сочетанием онкологического заболевания – более чем в 60% случаев рак молочной железы, тела матки или толстой кишки – и СД2 ($n=73$), больных с онкологическим заболеванием без признаков СД2 ($n=25$) и пришедших на очередное маммографическое обследо-

вание здоровых женщин ($n=37$) без онкопатологии и диабета. В объединенной группе больных диабетом ($n=105$) в 65 случаях СД2 был выявлен впервые (комбинируясь у 40 женщин с недавно обнаруженным злокачественным новообразованием), а 40 оставшихся наблюдений были представлены больными СД2, получавшими тот или иной вариант антидиабетической терапии (33 – с сочетанием диабета и онкозаболевания и 7 – страдавшие только диабетом). Никто из онкологических больных никакой специфической противоопухолевой терапии до момента обследования не получал. В соответствии с задачами исследования из общей группы была дополнительно выделена подгруппа женщин, получавших метформин в варианте, когда препарат назначался впервые ($n=24$) или же когда обследование проводилось на фоне его приема в известной дозе и при известной – не менее 6 мес – длительности, $n=31$ (см. ниже раздел «Оценка метаболического и «антинеопластического» эффекта метформина»).

Характеристика исследованных полиморфизмов

У 156 из привлеченных к обследованию 167 женщин изучены полиморфные варианты генов, в отношении которых уже имелись сведения о связях с ответом на метформин или же кодируемые которыми белки вовлечены в такие процессы, как сниженная толерантность к глюкозе/диабет, метаболический синдром, легкое хроническое воспаление или онкологические заболевания. К первой группе были отнесены два полиморфизма гена транспортера 1 органических катионов OCT1 (*R61C/rs12208357* и интронный вариант *A>C/rs622342*), а также полиморфизмы гена печеночной киназы V1, т.е. *STK11/LKB1 (rs8111699)*, и гена *C11orf65 (rs11212617)*, локализующегося в том же локусе, что и ген атаксии-телеангиэктазии, *ATM* [8, 11, 12]. Вторую группу составили полиморфные варианты генов рецепторов лептина, *LEPR_Gln223Arg (rs1137101)*, половые гормоны связывающего глобулина, *SHBG_D356N (rs6259)* и 8-оксигуанин-ДНК-гликозилазы, *OGG1_Ser326Cys (rs1052134)*, а также полиморфизм локуса *rs11065987*, локализующегося вблизи гена *BRAP*, связанного с онкосупрессором *BRCA1* и модулирующего рост и дифференцировку клеток и функционирование провоспалительных сигнальных путей [13–16].

Генотипирование

Источником ДНК служили лейкоциты периферической крови, образцы которой собирались после ночного голодания. ДНК выделяли соль-хлороформным методом, генотипирование проводили при помощи аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе iQ iCycler (Bio-Rad) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I. Праймеры, их температуры отжига и длины синтезированных фрагментов для анализа полиморфизма соответствующих генов приведены в работе [9]. ПЦР-амплификация проходила в объеме 20 мкл. В состав реакционной смеси входили: 1 ед. акт. hot-start

Taq-полимеразы, однократный ПЦР буфер, 50 нг ДНК, 1,5–3,0 mM MgCl₂, по 200 мкМ каждого из дезокси-нуклеотидтрифосфатов (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 100 нМ каждого праймера, 0,2 мкл 20-кратного раствора SYBR-Green I. Реакция начиналась с фазы активации Taq-полимеразы (95°C, 7 мин.). Последующие 45 циклов ПЦР состояли из фаз денатурации (95°C, 30 сек.), отжига (60°C–66°C, 60 сек.) и элонгации (72°C, 60 сек.).

Изучение гормонально-метаболического статуса

Кровь из локтевой вены отбирали утром натощак, после 10–12-часового ночного голодания. Исследование, помимо оценки индекса массы тела (ИМТ) и соотношения окружности талии и бедер (Т/Б), включало в себя определение гликемии, липидемии, инсулинемии и эстрадиолемии в сыворотке крови методами энзимокolorиметрического и иммуноферментного анализа, гликированного гемоглобина и расчет индекса инсулинорезистентности (НОМА-IR = (глюкоза × инсулин)/22,5) по D.R.Matthews и соавт.

Оценка метаболического и «антинепластического» эффекта метформина

К этой части работы были привлечены суммарно 55 постменопаузальных женщин (ср. возраст – 59,3±1,0 года). У 10 из них был обнаружен рак эндометрия (у трех – в сочетании с впервые выявленным СД2), и по согласованию с локальным Этическим комитетом на неoadъювантном (дооперационном) этапе им назначали метформин (Сиофор) в суточной дозе 1–1,5 г со средней длительностью курса 5,2 нед. Во вторую подгруппу в этом разделе работы вошли 14 женщин (7 из них – с СД2), характеризовавшихся превышением величины маммографической плотности молочных желез над значениями, присущими популяции женщин этого возраста в целом, что рассматривается как фактор риска развития маммарных карцином [17]. Метформин (Сиофор) назначали им в вышеупомянутой дозе на срок, равный в среднем 10,4±0,3 мес. [18]. Наконец, третью подгруппу составила 31 больная СД2 (в 27 случаях – с впервые выявленным онкологическим заболеванием), получавшие в течение не менее 6 мес до поступления в клинику метформин (Глюкофаж, Сиофор) в дозе, варьирующей от 1,0 до 1,7 г. Во всех трех группах (n=55) проводилась оценка метаболического ответа на прием бигуанида по уровню гликемии и липидемии, а у части обследуемых – и по уровню гликированного гемоглобина. Суррогатные маркеры «антинепластического» ответа на препарат исследовались в двух группах (суммарное n=24), упомянутых в начале: в первой из них по уменьшению толщины эндометрия (М-эхо сигнал) и – в половине случаев – по динамике исследовавшегося иммуногистохимически маркера пролиферации Ki-67 [19], а во второй – по уменьшению маммографической плотности молочных желез [18]. Метаболический ответ на метформин оказался эффективным в среднем в 61,8% наблюдений, а суррогатный «антинепластический» ответ – в 33,3% случаев (при среднем возрасте

«ответивших» соответственно 58,8±1,3 и 54,4±1,4 года); критерии этих ответов описаны ранее [18, 19].

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью пакета прикладных программ SigmaPlot for Windows и Statistica 8.0. Сравнение гормонально-метаболических показателей в отдельных группах (M±m) осуществлялось на основе t-критерия Стьюдента. Тест на гетерогенность полученных результатов проводили, сравнивая распределение генотипов по каждому полиморфизму между группами с помощью χ-квадрата критерия Пирсона (χ² с одной степенью свободы). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Как отмечалось выше, первая часть исследования была посвящена выяснению того, имеются ли какие-либо гормонально-метаболические параметры, коррелирующие сносительством генетических признаков потенциальной чувствительности к метформину у имеющих и не имеющих диабета постменопаузальных женщин. Сведения об особенностях гормонально-метаболического статуса у носительниц 5 из 8 исследованных генетических полиморфизмов, связанных с возможным ответом на метформин, представлены в табл. 1. Анализ полученных результатов указывает при этом на ряд особенностей, одна часть из которых связана с наличием или отсутствием СД2, а вторая – с сопряженностью с полиморфными вариантами определенных генов.

Первое из этих заключений иллюстрируется, в частности, тем, что в большинстве представленных наблюдений, у больных с впервые выявленным СД2 в сравнении с постменопаузальными женщинами без диабета при носительстве полиморфизмов, сопряженных с потенциально позитивной реакцией на метформин (МФ+), помимо более высокого уровня в крови гликированного гемоглобина и величины НОМА-IR, в трех случаях из пяти имело место повышение массы тела и в четырех из пяти – более высокое соотношение окружностей талии/бедер (Т/Б), чего, в целом, и можно было ожидать.

Другое заключение подтверждено данными, полученными при сравнении гормонально-метаболического фенотипа у обследованных женщин – носительниц генотипов, указывающих на возможность потенциальных различий в ответе на МФ. «Принадлежность» к МФ+ группе характеризовалась, в частности, тенденцией к увеличению (OCT1_rs622342; объединенная когорта онкологических больных без СД2 и здоровых женщин) или, напротив, достоверным уменьшением (SHBG_D356N, впервые выявленный СД2±онкопатология и C11orf65_rs11212617, онкологические больные без СД2+здоровые женщины) индекса массы тела; снижением в крови содержания гликированного гемоглобина (C11orf65_rs11212617 и SHBG_D356N, впервые выявленный СД2±онкологическое заболе-

Таблица 1

Гормонально-метаболический статус у обследованных постменопаузальных женщин: сравнение пробандов с потенциально различным по данным изучения генетических полиморфизмов ответом на метформин

Полиморфизмы и генотипы	Группа	ИМТ, усл. ед.	Т/Б	HbA _{1c} %	ТГ, ммол/л	ХС, ммол/л	НОМА-IR, усл. ед.	Эстрадиол, пмол/л
OCTR61C rs12208357 (CC vs CT+TT)	СД2вп±ЗНО	32,1±0,89 (56)	0,87±0,01 (56) ¹⁾	6,40±0,17 (42)	1,73±0,07 (53)	6,07±0,18 (53)	5,11±0,77 (34) ¹⁾	84,6±23,2 (39)
	ЗНО без СД2	33,6±2,26 (7)	0,91±0,018 (7)	6,13±0,46 (6)	2,06±0,25 (7)	6,54±0,48 (7)	3,23±0,37 (3)	92,5±77,4 (4)
	+ здор. ж.	29,2±1,0 (45)	0,84±0,01 (45)	5,48±0,14 (53)	1,63±0,08 (44)	6,21±0,17 (44)	2,71±0,35 (35)	48,9±12,4 (31)
OCT1 rs622342 (AA+AC vs CC)	СД2вп±ЗНО	28,4±1,9 (15)	0,81±0,02 (14)	5,50±0,09 (8)	1,74±0,12 (15)	5,97±0,20 (15)	3,56±0,84 (12)	38,2±19,7 (11)
	ЗНО без СД2	32,3±0,89 (58)	0,88±0,01 (58)	6,38±0,17 (46)	1,77±0,07 (56)	6,08±0,17 (56)	5,29±0,77 (33) ¹⁾	89,4±24,0 (39)
	+ здор. ж.	31,5±2,00 (5)	0,84±0,025 (5)	6,15±0,15 (2)	1,73±0,25 (4)	6,77±0,57 (4)	3,31±0,67 (5)	45,9±27,7 (4)
C11orf65 rs11212617 (CC vs CA+AA)	СД2вп±ЗНО	29,3±1,0 (54)	0,84±0,008 (53)	5,49±0,10 (24)	1,62±0,06 (53)	6,09±0,13 (53)	3,06±0,37 (42) ¹⁾	48,6±11,4 (38)
	ЗНО без СД2	26,7±1,5 (6)	0,84±0,02 (6)	5,50±0,20 (2)	2,00±0,35 (6)	6,66±0,62 (6)	1,75±0,53 (5)	22,2±16,3 (4)
	+ здор. ж.	32,9±1,45 (15)	0,91±0,022 (15)	5,97±0,13 (12) ¹⁾	1,83±0,12 (14)	5,88±0,28 (14)	3,97±0,34 (9)	51,0±13,3 (9)
LKB1/STK11 rs8111699 (GG vs CC+CG)	СД2вп±ЗНО	32,1±1,00 (48)	0,87±0,009 (48)	6,50±0,21 (6)	1,75±0,08 (46)	6,20±0,20 (7)	5,28±0,92 (28)	94,5±27,4 (34)
	ЗНО без СД2	25,0±1,2 (11) ¹⁾	0,81±0,017 (11)	5,27±0,30 (6)	1,79±0,12 (11)	6,35±0,23 (11)	2,63±0,23 (6)	51,1±25,3 (9)
	+ здор. ж.	29,9±1,0 (49)	0,84±0,009 (48)	5,55±0,09 (20)	1,63±0,08 (48)	6,10±0,16 (48)	2,96±0,39 (41)	44,7±11,6 (33)
SHBG D356N rs6259 (GA vs GG)	СД2вп±ЗНО	31,0±2,51 (10)	0,87±0,02 (10)	6,68±0,43 (8)	1,76±0,21 (10)	6,28±0,31 (10)	5,68±1,29 (8)	64,9±23,6 (8)
	ЗНО без СД2	32,5±0,87 (53)	0,88±0,009 (53)	6,30±0,18 (40)	1,77±0,07 (50)	6,09±0,19 (50)	4,76±0,83 (29)	75,7±16,6 (35)
	+ здор. ж.	30,7±2,7 (9)	0,84±0,026 (8)	5,40±0,15 (4)	1,73±0,14 (9)	6,14±0,21 (9)	3,56±1,09 (8)	67,1±12,4 (5)
SHBG D356N rs6259 (GA vs GG)	СД2вп±ЗНО	28,7±0,96 (51)	0,84±0,008 (51)	5,50±0,11 (22)	1,64±0,08 (50)	6,15±0,16 (50)	2,79±0,35 (39)	43,2±10,4 (37)
	ЗНО без СД2	27,7±1,8 (9)1)	0,87±0,018 (9)	5,80±0,07 (5)1)	1,71±0,20 (8)	6,00±0,37 (8)	4,13±1,37 (7)	67,5±40,1 (8)
	+ здор. ж.	33,0±0,9 (54)	0,88±0,009 (54)	6,43±0,18 (43)	1,77±0,07 (52)	6,14±0,18 (52)	5,15±0,81 (30)	75,2±15,0 (35)
SHBG D356N rs6259 (GA vs GG)	СД2вп±ЗНО	31,3±1,94 (15)	0,86±0,014 (15)	5,55±0,15 (8)	1,75±0,12 (14)	6,23±0,20 (14)	3,18±0,52 (12)	43,7±18,7 (10)
	ЗНО без СД2	28,3±1,01 (45)	0,83±0,009 (44)	5,46±0,12 (18)	1,63±0,08 (45)	6,12±0,15 (45)	2,83±0,42 (35)	46,8±12,5 (32)
	+ здор. ж.							

Примечания: первыми (верхняя строка в каждой графе) упомянуты генотипы с предположительно позитивным ответом на метформин

¹⁾ Отличие от соответствующей группы с потенциально ослабленной чувствительностью к метформину достоверно ($p < 0,05$)

В круглых скобках – число наблюдений; ИМТ – индекс массы тела; Т/Б – соотношение окружностей талии и бедер;

HbA_{1c} – гликированный гемоглобин; ТГ – триглицериды; ХС – холестерин крови; НОМА-IR – индекс инсулинорезистентности

вание) и повышением индекса инсулинорезистентности НОМА-IR (OCT1R61C_rs12208357, впервые выявленный СД2±онкопатология и OCT1_rs622342, впервые выявленный СД2±онкопатология, а также онкологические больные без СД2+здоровые женщины), не всегда, правда, сопровождавшимся соответствующим сдвигом в величине соотношения Т/Б. При сравнении МФ+ и МФ-подгрупп, выделенных по генотипическому признаку, не было обнаружено каких-либо заметных различий в уровне липидов в крови, но выявилась тенденция, соответственно, к повышению (OCT1_rs622342) и снижению (C11orf65_rs11212617) эстрадиола в крови у больных впервые выявленным диабетом – носительниц полиморфизмов, ассоциированных с возможностью положительного ответа на метформин (табл. 1).

При анализе особенностей гормонально-метаболического статуса у носительниц полиморфных вариантов трех остальных изучавшихся генов (рецепторов лептина, *LEPR Gln223Arg*; 8-оксигуанин-ДНК-гликозилазы, *OGG1Ser326Cys* и *BRAP*, функционально связанного с геном-онкосупрессором *BRCA1*) выяснилось, что, несмотря на, казалось бы, заметные при наглядном выражении результатов изменения в ряде случаев величины НОМА-IR и содержания эстрадиола в крови, достоверные сдвиги обнаруживались только в отношении холестеринемии (повышение) и уровня гликированного гемоглобина (снижение) при носительстве сопряженного с потенциально позитивным ответом на метформин полиморфного варианта гена *BRAP* у больных с впервые выявленным диабетом, страдающих или не страдающих онкопатологией (рис. 1). Когда (в продолжение этого анализа) были сопоставлены особенности гормонально-метаболического

фенотипа у больных с впервые выявленным СД2 в комбинации с онкологическим заболеванием, с одной стороны, и без онкологического заболевания, с другой, оказалось, что только в первой из этих групп (СД2+онкопатология) у носителей свидетельствующих о потенциальной чувствительности к метформину генотипов имелось достоверное увеличение индекса НОМА-IR (OCT1_R61C: 6,68±1,22 vs 3,52±0,40; $p < 0,05$) и снижение уровня гликированного гемоглобина (SHBG_D356N: 5,77±0,09% vs 6,46±0,17%; $p < 0,02$), а тенденция к относительному повышению эстрадиолемии у носительниц соответствующих полиморфных вариантов гена рецепторов лептина наблюдалась независимо от того, сочетался ли впервые выявленный диабет с онкологическим заболеванием (149,6±40,1 vs 76,6±24,2 пмоль/л) или нет (53,3±18,5 vs 17,4±6,2 пмоль/л).

Вторая часть работы имела своей задачей сопоставление подгрупп женщин, прореагировавших или не прореагировавших на реальное применение метформина при оценке по двум типам параметров: а именно, по уже упоминавшимся выше гормонально-метаболическим показателям, а также по таким, которые могли быть отнесены к числу суррогатных маркеров возможного «антинеопластического» действия препарата. Выбор последних определялся тем, что применительно к потребностям онкологии обычно принимается во внимание не только так называемое *непрямое* действие метформина, реализуемое путем устранения или ослабления гиперинсулинемии/инсулинорезистентности, но и его *прямое* действие, опосредуемое на клеточном уровне через АМПК-зависимое или АМПК-независимое угнетение mTOR-сигналинга и приводящее, в частности, к угнетению пролиферации [3, 5, 10].

Как уже было отмечено в секции «Оценка метаболи-

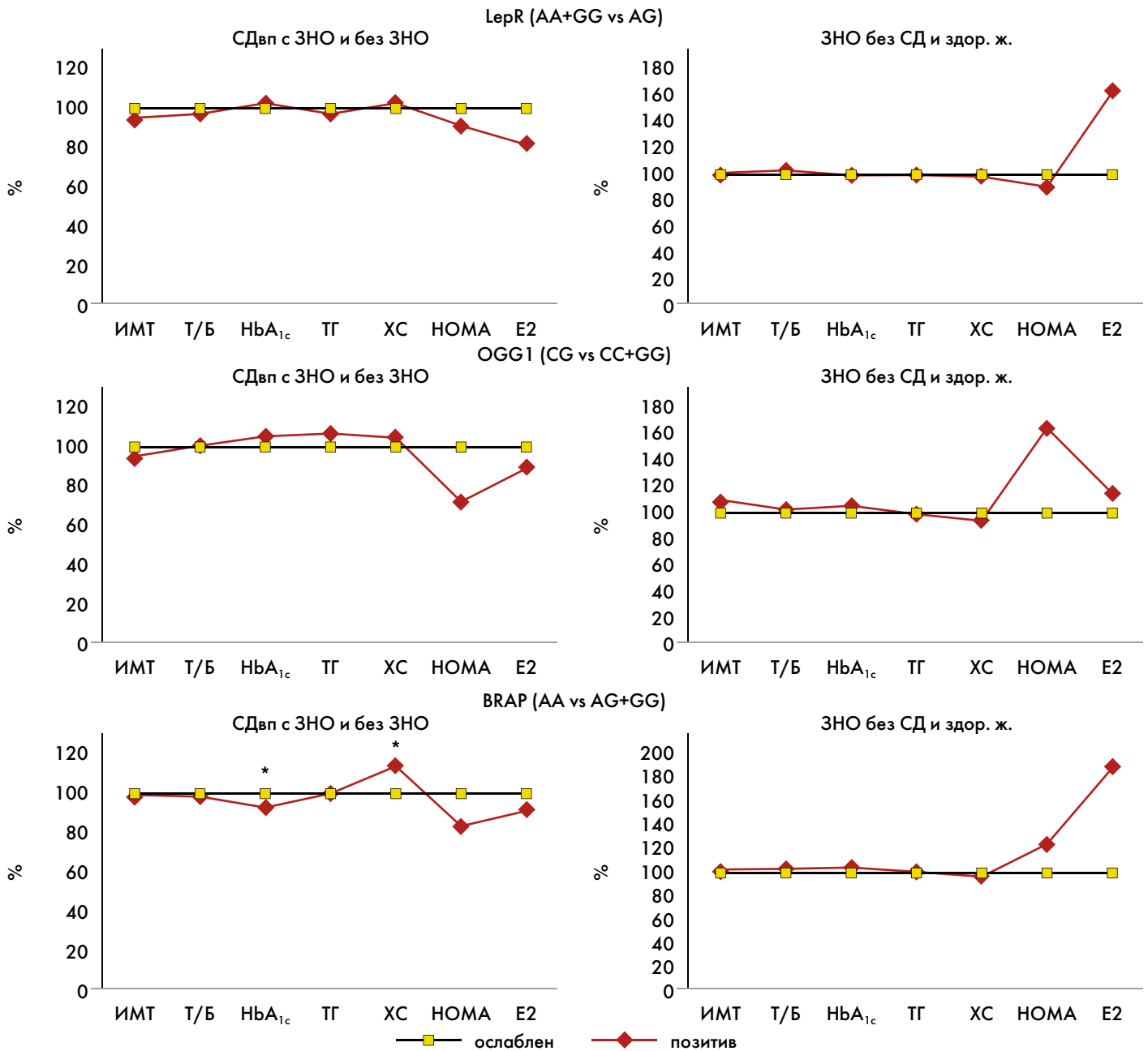


Рис. 1. Гормонально-метаболический статус при носительстве полиморфизмов генов рецепторов лептина (LeprR), 8-оксигуанин-ДНК-гликозилазы (OGG1) и белка BRAP, указывающих на возможность потенциально различного ответа на метформин. Сплошной линией представлены в процентном выражении данные у носителей полиморфных вариантов (генотипов), свидетельствующих о потенциальной чувствительности к метформину, пунктирной – при носительстве вариантов, предполагающих отсутствие/ослабление этой чувствительности (принято за 100%).
 Обозначения: ИМТ – индекс массы тела, Т/Б – соотношение окружностей талии и бедер; HbA_{1c} – гликированный гемоглобин; ТГ – триглицериды крови; ХС – холестерин крови; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности; E2 – эстрадиол в крови

ческого и «антинеопластического» эффекта метформина» раздела «Материалы и методы», ответ на прием метформина при его регистрации по гормонально-метаболическим показателям оказался эффективен (Э) на группу в целом в 61,8% наблюдений, а при анализе по «антинеопластическому» действию – в 33,3%, т.е. почти в два раза реже (с сохранением практически той же частоты этих эффектов у больных СД2: соответственно в 65,9% и 40,0% случаев). При сравнении исходного (т.е. до начала приема препарата) гормонально-метаболического статуса в подгруппах с благоприятной (Э) реакцией на метформин и при

отсутствии таковой (Н) выяснилось, что в случае оценки как по «метаболической», так и «антинеопластической» реакции имелась тенденция к более молодому среднему возрасту у женщин, вошедших в группу Э. Помимо этого, в Э-группе, характеризующейся чувствительностью к метформину по изменению гормонально-метаболических параметров, выявлялся достоверно более высокий уровень холестеринемии (р/Э vs Н/<0,05), а в аналогичной группе, выделенной на основе «антинеопластического» эффекта, была обнаружена более высокая исходная триглицеридемия (р/Э vs Н/<0,02). В качестве еще одной особенности можно

Таблица 2

Исходный гормонально-метаболический статус у обследованных постменопаузальных женщин, различающихся наличием (Э) или отсутствием (Н) «метаболического» или «антинеопластического» ответа на метформин

Оценка по	Ответ на применение метформина	ИМТ, усл. ед.	Т/Б	Глюкоза, ммол/л	ТГ, ммол/л	ХС, ммол/л	НОМА-IR, усл. ед.	Эстрадиол, пмол/л	Возраст, годы
«метаболическому» ответу	Э	32,7±2,2 (12)	0,86±0,02 (12)	5,93±0,29 (12)	1,77±0,14 (12)	6,51±0,30 ¹⁾ (12)	3,24±0,47 (7)	91,4±49,0 (11)	56,0±1,7 (12)
	Н	29,2±1,0 (12)	0,86±0,02 (12)	5,70±0,32 (12)	1,53±0,21 (12)	5,55±0,29 ¹⁾ (12)	3,31±0,87 (12)	69,4±34,1 (12)	60,1±2,2 (12)
«антинеопластическому» ответу	Э	29,8±2,0 (8)	0,84±0,02 (8)	5,90±0,41 (8)	1,85±0,13 ²⁾ (8)	6,18±0,27 (8)	3,84±0,59 (4)	114,3±66,6 (8)	54,5±1,5 (8)
	Н	31,9±1,0 (14)	0,87±0,01 (14)	5,49±0,13 (14)	1,39±0,06 ²⁾ (14)	6,88±0,35 (14)	2,94±0,54 (7)	64,7±27,7 (11)	59,6±2,2 (14)

Примечания: См. дополнительно секции «Оценка метаболического и «антинеопластического» эффекта метформина» и «Изучение гормонально-метаболического статуса» в разделе «Материалы и методы». В скобках – число обследованных; расшифровку сокращений см. в табл. 1.

¹⁾ различие между подгруппами «Э» и «Н» достоверно ($p < 0,05$); ²⁾ различие между подгруппами «Э» и «Н» достоверно ($p < 0,02$)

отметить, что величина индекса массы тела и соотношения Т/Б у женщин, вошедших в Э-группу по «антинеопластическому» ответу, продемонстрировала – в противоположность ситуации с «метаболическим» ответом – тенденцию к снижению в сравнении с Н-группой, табл. 2.

При другом варианте сопоставления подгрупп женщин, ответивших и не ответивших на прием метформина, принимались во внимание результаты генотипирования. Хотя в этом случае достоверных отличий между женщинами, вошедшими в подгруппы Э или Н, обнаружить не удалось, тенденция к менее частому и «метаболическому», и «антинеопластическому» ответу на применение метформина отмечалась у носительниц генотипов AA+AC гена *OCT1_rs622342*, к менее частому «антинеопластическому» ответу – у носительниц генотипа GG *LKB1/STK11_rs8111699*, а к более частому «метаболическому» ответу – у носительниц генотипов GA гена *SHBG_rs6259*, CG гена *OGG1_rs1052134* и AA гена *BRAP_rs11065987* (табл. 3). Когда подобный анализ проводился лишь в отношении постменопаузальных женщин, страдавших СД2 (35 из 45 человек, упоминаемых в табл. 3), наибольшего внимания заслуживало, как оказалось, увеличение степени статистической связи между частотой позитивного ответа на метформин и носительством генотипа GA гена *SHBG_rs6259* ($\chi^2=3,32$, $p=0,07$).

Кратко резюмируя представленные данные, можно отметить, что они представляются значимыми и, в то же время, не всегда однозначными в нескольких отношениях, из которых к основным относятся такие, как: отличаются ли под обсуждавшимся углом зрения больные СД2 от женщин, не страдающих диабетом; имеются ли отличия между «метаболическим» и «антинеопластическим» ответом на метформин; и, наконец, отличается ли предиктивная оценка потенциальной реакции на метформин от выявившихся реалий?

Отвечая на первый вопрос, есть основания прийти, прежде всего, к выводу о том, что постменопаузальные больные СД2 – носительницы различных генетических маркеров предположительно позитивного ответа

на метформин, не имея единого гормонально-метаболического фенотипа, все же тяготеют к изменениям показателей, ассоциированных и с инсулинорезистентностью (НОМА-IR), и со стероидным компонентом (уровнем эстрадиола в крови). Своеобразие проявилось здесь в отношении генотипов *C11orf65*, *OGG1* и *BRAP* (тенденция к снижению НОМА-IR по сравнению с носительницами маркеров, указывающих на возможность ослабления ответа на препарат), а также генотипа GA гена половые гормоны связывающего глобулина, *SHBG_D356N* (достоверное снижение индекса массы тела и уровня гликированного гемоглобина) (табл. 1, рис. 1). В последнем случае это может быть объяснено тем обстоятельством, что хотя только что упомянутый генотип GA был отнесен нами на основании некоторых косвенных данных к маркерам МФ+ ответа [9], носительство этого полиморфного варианта одновременно сопряжено со снижением риска развития СД2 [15].

Как отмечалось выше, хотя и «метаболический», и условный «антинеопластический» ответ были более эффективными при более высокой липидемии и тенденции к гиперэстрогемии (табл. 2), второй из них (т.е. «антинеопластический») при избранных нами условиях проявлялся реже, чем «метаболический». Возможно, здесь следует учитывать, что, несмотря на более выраженную антипролиферативную и проапоптотическую реакцию на дооперационное назначение метформина у больных раком молочной железы, имевших признаки инсулинорезистентности [20], по другим недавним сведениям, в стабильных клеточных линиях маммарных карцином влияние метформина на пролиферацию и апоптоз было более заметным при нормальной, а не повышенной концентрации глюкозы в крови [21].

Наконец, сравнивая маркеры направленности предположительного и реального ответа на метформин, приоритет здесь следует отдать генотипу CC транспортера органических катионов 1 (*OCT1_R61C*) в силу того, что значительная часть его носительниц продемонстрировала чувствительность к метформину при оценке и по «метабо-

Таблица 3

Сопоставление метаболического и «антинеопластического» эффекта на прием метформина в зависимости от носительства исследованных генетических полиморфизмов

Оценка по	Ответ на прием метформина	Полиморфные варианты генов, частота генотипов							
		OCT1R61C rs12208357 CC	OCT1 rs622342 AA+AC	C11orf65 rs11212617 CC	LKB1/STK11 rs8111699 GG	SHBG rs6259 GA	LEPR rs1137101 AG	OGG1 rs1052134 CG	BRAP rs11065987 AA
«метаболическому» ответу	Э (28)	89,3%	67,9%	25,0%	10,7%	25,0%	46,4%	39,3%	46,4%
	Н (17)	100,0% χ^2 1,95	88,2% χ^2 2,38	17,6% χ^2 0,33	11,8% χ^2 0,01	5,9% χ^2 2,64	64,7% χ^2 1,42	17,6% χ^2 2,31	23,5% χ^2 2,36
«антинеопластическому» ответу	Э (8)	87,5%	62,5%	25,0%	0%	25,0%	37,5%	25,0%	50,0%
	Н (14)	100,0% χ^2 1,83	92,9% χ^2 3,15	21,4% χ^2 0,04	21,4% χ^2 1,98	28,6% χ^2 0,03	57,1% χ^2 0,79	21,4% χ^2 0,19	42,9% χ^2 0,10

Примечания: Э – благоприятный ответ на метформин; Н – отсутствие ответа на метформин

(см. также секцию «Оценка метаболического и «антинеопластического» эффекта метформина» в разделе «Материалы и методы»)

лическому», и по «антинеопластическому» ответу (табл. 3) и параллельно – способность к потенциальной реакции на препарат в случае большей выраженности инсулинорезистентности (только у больных СД2, табл. 1). В отношении носителей полиморфных вариантов *OCT1_rs622342* оказалось, что хотя возможный ответ на метформин был ассоциирован у них с более высоким индексом НОМА-IR как у страдающих, так и не страдающих диабетом женщин (табл. 1), те же полиморфизмы сочетались с более редким и «метаболическим», и «антинеопластическим» ответом на реальное использование метформина (табл. 3). В то же время, более четкая «метаболическая» реакция на прием метформина у носительниц определенных полиморфных вариантов генов *SHBG_D356N*, *OGG1_rs1052134* и *BRAP_rs11065987* не сочеталась у них, как уже отме-

чалось, с аналогичной тенденцией в отношении «антинеопластического» ответа (табл. 3) и не подтверждалась принадлежностью к гормонально-метаболическому фенотипу, казалось бы, характерному для потенциального ответа на бигуанид (табл. 1, рис. 1).

В совокупности приведенные в работе результаты указывают на оправданность избранного подхода, целесообразность его дальнейшего совершенствования и проверки за счет увеличения числа пациенток, получавших метформин в лечебных или исследовательских целях.

Исследование выполнено при частичной поддержке грантов РФФИ (12-04-00084) и Министерства образования и науки РФ (14.512.11.0041).

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов при написании данной статьи.

Список литературы

- The Use of Medicines in the United States: Review of 2012. IMS Institute for Healthcare Informatics. May 2013, 50 pp. <http://www.imshealth.com>
- Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ*. 2005; 330(7503):1304-1305. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.38415.708634.F7>
- Del Barco S, Vazquez-Martin A, Cufi S, Oliveras-Ferreras C, Bosch-Barrera J, Joven J, et al. Metformin: Multi-faceted protection against cancer 2011.
- Шестакова МВ, Зилов АВ. Выбор оптимальной сахароснижающей терапии у пациентов с сахарным диабетом в дебюте заболевания. *Consilium medicum*. 2010; 12(12):5–10. [Shestakova MV, Zilov AV. Optimization antidiabetic therapy in patients with type 2 diabetes in the disease onset. *Consilium medicum*. 2010; 12(12):5–10.]
- Берштейн ЛМ. Диабет, ожирение и онкологическая заболеваемость: риски и антириски. *Diabetes mellitus*. 2012;(4):81–88 [Berstein LM. Diabetes, obesity and cancer: risk and anti-risk factors. *Diabetes mellitus*. 2012;(4):81–88. DOI: <http://dx.doi.org/10.14341/2072-0351-5543>]
- Scheen A, Lefebvre P. Oral Antidiabetic Agents. *Drugs*. 1998;55(2):225-236. DOI: <http://dx.doi.org/10.2165/00003495-199855020-00004>
- Ong CR, Molyneaux LM, Constantino MI, Twigg SM, Yue DK. Long-Term Efficacy of Metformin Therapy in Nonobese Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(11):2361–2364. DOI: <http://dx.doi.org/10.2337/dc06-0827>
- Christensen MH, Brasch-Andersen C, Green H, Nielsen F, Damkier P, Beck-Nielsen H, et al. The pharmacogenetics of metformin and its impact on plasma metformin steady-state levels and glycosylated hemoglobin A1c. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2011;21(12):837-850. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834c0010>
- Berstein LM, Iyevleva AG, Vasilyev D, Poroshina TE, Imyanitov EN. Genetic polymorphisms potentially associated with response to metformin in postmenopausal diabetics suffering and not suffering with cancer. *Cell Cycle*. 2013;12:3681-3688. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/cc.26868>
- Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M, Pruneri G, Serrano D, Guerrieri-Gonzaga A, et al. Dual Effect of Metformin on Breast Cancer Proliferation in a Randomized Presurgical Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(21):2593-2600. DOI: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2011.39.3769>
- Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, et al. Ovulatory Response to Treatment of Polycystic Ovary Syndrome Is Associated with a Polymorphism in the STK11 Gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(3):792-800. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1210/jc.2007-1736>
- GoDARTS and UKPDS Diabetes Pharmacogenetics Study Group 1; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Zhou K, Bellenguez C, Spencer CC, Bennett AJ, et al. Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. *Nature Genetics*. 2011;43(2): 117–120. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.735>.

13. Thameem F, Puppala S, Lehman DM, Stern MP, Blangero J, Aboud HE, et al. The Ser(326)Cys Polymorphism of 8-Oxoguanine Glycosylase 1 (OGG1) Is Associated with Type 2 Diabetes in Mexican Americans. *Human Heredity*. 2010; 70(2):97–101. doi: <http://dx.doi.org/10.1159/000291964>
14. Ulybina YM, Imyanitov EN, Vasilyev DA, Berstein LM. Polymorphic markers associated with genes responsible for lipid and carbohydrate metabolism disorders and insulin resistance in cancer patients. *Molecular Biology*. 2008;42(6):843–851. DOI: <http://dx.doi.org/10.1134/S0026893308060034>
15. Le TN, Nestler JE, Strauss JF, Wickham EP. Sex hormone-binding globulin and type 2 diabetes mellitus. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2012;23(1):32–40.
16. Avery CL, He Q, North KE, Ambite JL, Boerwinkle E, Forrage M, et al. A phenomics-based strategy identifies loci on APOC1, BRAP, and PLCG1 associated with metabolic syndrome phenotype domains. *PLoS Genetics*. 2011;7(10):e1002322. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002322>
17. Boyd NF, Martin LJ, Yaffe MJ, Minkin S. Mammographic density and breast cancer risk: current understanding and future prospects. *Breast Cancer Research*. 2011;(13):223–225. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/bcr2942>.
18. Берштейн ЛМ, Васильев ДА, Коваленко ИГ, Порошина ТЕ, Кисельников КС, Бояркина МП, и соавт. Влияние метформина и N-ацетилцистеина на маммографическую плотность молочных желез у женщин постменопаузального возраста. *Вопросы онкологии*. 2012; 58(1):45–49 [Bershtein LM, Vasil'ev DA, Kovalenko IG, Poroshina TE, Kisel'nikov KS, Boiarkina MP, et al. The influence of metformin and n-acetylcysteine on mammographic density in postmenopausal women. *Problems in Oncology*. 2012; 58 (1):45–49.]
19. Берштейн ЛМ, Максимов СЯ, Данилова МА, Гершфельд ЭД, Бояркина МП, Хаджимба АС, и соавт. Сравнение эффектов ингибиторов ароматазы и метформина при их неoadъювантном применении у больных раком эндометрия. *Вопросы онкологии*. 2011; 57 (6):737–741 [Bershtein LM, Maksimov SA, Danilova MA, Gershfel'd ED, Boiarkina MP, Khadzhimba AS, et al. Efficacy of aromatase inhibitors in comparison with metformin for neoadjuvant treatment in patients with endometrial cancer. *Problems in Oncology*. 2011; 57 (6):737–741].
20. Cazzaniga M, DeCensi A, Pruneri G, Puntoni M, Bottiglieri L, Varricchio C, et al. The effect of metformin on apoptosis in a breast cancer presurgical trial. *British Journal of Cancer*. 2013;109(11):2792–2797. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2013.657>
21. Wahdan-Alaswad R, Fan Z, Edgerton SM, Liu B, Deng XS, Arnadottir SS, et al. Glucose promotes breast cancer aggression and reduces metformin efficacy. *Cell Cycle*. 2013;12(24):3759–3769. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/cc.26641>.

Берштейн Лев Михайлович

д.м.н., проф., руководитель лаборатории онкоэндокринологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург
E-mail: levmb@endocrin.spb.ru

Васильев Дмитрий Алексеевич

к.м.н., с.н.с. лаборатории онкоэндокринологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург

Иевлева Аглая Геннадиевна

к.м.н., н.с. лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург

Порошина Татьяна Евгеньевна

врач клинко-лабораторной диагностики лаборатории эндокринологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург

Имянитов Евгений Наумович

д.м.н., проф., руководитель отдела биологии опухолевого роста, ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург