

Др Мира Вуковић,
Прим. мр сц. др Бранислав С.
Гвозденовић

Здравствени центар, Ваљево;
AbC.R.O. Inc. Београд

Кластери болесника са дијабетес мелитусом тип 2 лечених метформином

Кључне речи:

дијабетес мелитус,
гликолизирани хемоглобин,
метформин,
кластер анализа.

Сажетак

Увод. Познато је да је снижење гликолизованог хемоглобина (*HbA1c*) један од главних клиничких фактора у оцени терапије дијабетес мелитуса (ДМ) тип 2.

Циљ рада. Главни циљ студије је био да се утврди евентуално постојање субпопулација болесника са ДМ тип 2, који различито одговарају на метформин терапију ако се ефекти терапије прате преко нивоа *HbA1c* по поновљеним мерењима (пре терапије, после 6 и после 12 недеља терапије). Други циљ је био да се групе анализирају према осталим клиничким показатељима гликорегулације (гликемија наташте и постпрандијално), метаболичким показатељима (*BMI* и инсулинемија нашег срца и постпрандијално, триглицериди, *LDL* и *HDL* холестерол и гама *GT* у серуму), као и да се утврде потенцијалне разлике у поменутих показатељима између група по поновљеним мерењима.

Метод. Испитивање је спроведено као отворено, мултицентрично клиничко испитивање код 43 гојазна болесника са ДМ тип 2, који су 12 недеља били на терапији антихипергликемиком - метформином. За статистичку идентификацију кластера коришћена је хијерархијска кластер анализа. Мера одстојања између објеката била је квадрат Еуклидског одстојања, а групе су раздвојене методом просечног повезивања. Допринос *HbA1c* раздвајању група одређен је дискриминационом анализом. За реализацију последњег циља коришћени методи су двосмерна *ANOVA*, односно двосмерна *ANCOVA* и тест суме рангова између група за нехомогене параметарске податке.

Резултати су показали да се издвајају две групе (кластера) болесника који се високостатистички разликују у нивоима *HbA1c* и гликемије, која је идентификована као коваријанта како пре, тако и после терапије. Пре и после терапије у првом кластеру *HbA1c* је био знатно нижи (8,782% и 7,543%) у односу на други кластер (6,918% и 5,267%), где су вредности после терапије практично биле нормализоване. Допринос почетног нивоа *HbA1c* у раздвајању група је 83,7%. Постојала је разлика и у нивоу гликемије између кластера ($p < 0,01$). Такође је постојала разлика у вредностима гликемије између прегледа у кластерима ($p < 0,01$). У осталим метаболичким и биохемијским показатељима није било разлике између група.

Закључак. Монотерапија метформином у току три месеца је ефикаснија код болесника који имају бољу гликорегулацију пре терапије ($p < 0,01$) и припадају групи пацијената са стабилним ДМ тип 2, јер се код ових болесника вредности *HbA1c* нормализују, што није случај код болесника који су пре терапије имали лошу гликорегулацију ($HbA1c > 8\%$).

Увод

У проспективној студији дијабетес мелитуса у Великој Британији, пацијенти који су примали метформин имали су бољу контролу гликемије у односу на пацијенте којима је ординирана конвенционална терапија¹. Метформин је лек првог избора код гојазних пацијената са дијабетес мелитусом тип 2, међутим, тачан ефекат његовог деловања још није довољно разјашњен. Он изазива супресију ендогеног излучивања гликозе² и повећава периферну осетљивост према инсулину³. Метформин може да стимулише деловање инсулина и на пострецепторском нивоу подизањем нивоа калцијума, што је удружено са активацијом рецептора тирозин киназе⁴.

Гликолизирани хемоглобин (*HbA1c*) је показатељ дуготрајне контроле (3 и више месеци) метаболизма гликозе. Познато је да метформин нема хипогликемијски ефекат код здравих људи⁵, већ редукује гликемију и снижава ниво *HbA1c* код дијабетичара⁶.

Циљ рада

Имајући у виду ограничену интринзичку активност метформина (само код болесника са хипергликемијом) у остваривању хипогликемијског ефекта, циљ ове студије је утврђивање скривене структуре података и идентификација евентуалних кластера пацијената са дијабетес мелитусом (ДМ) тип 2, према нивоима *HbA1c* у поновљеним мерењима у току тромесечне терапије метформином. Други циљ је био описивање идентификованих кластера и њихова анализа према другим биохемијским обележјима.

Метод

Испитивање је спроведено као контролисано, отворено, мултицентрично клиничко испитивање код 43 гојазна болесника са ДМ тип 2 који су узимали метформин у току четири месеца. Испитивање је обављено по принципима *Добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације*. Студија је одобрена од стране локалних Етичких комитета. У испитивање су укључени болесници који су добровољно приступили испитивању, мушкарци и жене од 40 до 60 година старости, са новодијагностикованим дијабетес мелитусом тип 2, гликемијом $<12 \text{ mmol/l}$, а чији је *Body Mass Index* – *BMI* $>30 \text{ kg/m}^2$. У испитивање нису били укључени: болесници са тешким оштећењем јетре, плућа, срца или крвних судова, болесници са оштећеном функцијом бубрега (вредности креатинина $>150 \text{ mmol/l}$), болесници са тешком анемијом, болесници са малигним обољењем, алкохоличари,

наркомани и особе са психичким обољењем, болесници који узимају кумаринске препарате, труднице и дојиље, жене у генеративном периоду које не примењују адекватну заштиту од трудноће. Испитивање је спроведено у три клиничко-болничке установе: Клинички центар Србије, Институт за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма Медицински факултет Београд; Институт за интерне болести, Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма Медицински факултет Нови Сад и Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма Медицински факултет Ниш.

Предвиђено је да током испитивања пацијенти посете лекара 6 пута. У току прве посете, пре терапије, болесницима су урађене биохемијске анализе крви, утврђена је гликемија наташте и постпрандијално, вредности гликолизираног хемоглобина (*HbA1c*), инсулинемије наташте и постпрандијално, ниво липида у крви (укупни холестерол, укупни триглицериди, *HDL* холестерол и *LDL* холестерол) и ниво гама глутарил-трансферазе (ГГТ). Такође је одређен и *BMI*. У току терапије (после 42 дана) и на крају терапије (после 12 недеља) болесницима су ови налази поновљени.

Испитивани лек је метформин у облику таблета од 500 mg (*Tefor*,[®] *ICN Canada*). Сви болесници су започели испитивање применом једне таблете дневно. Једном седмично у прве три недеље, а потом на три недеље, био је контролни преглед због евентуалне корекције дозе препарата, која је повећавана индивидуално, у складу с вредношћу гликемије за сваког болесника. Од првог дана испитивања, односно терапије испитивани болесници били су и на одговарајућој дијети уз програмирану физичку активност.

За издвајање кластера по поновљеним мерењима *HbA1c* коришћена је хијерархијска, кластер анализа. Мера блискости између објеката била је квадрат Еуклидског одстојања, а групе су раздвојене методом просечног повезивања. Од статистичких метода коришћени су и релевантни дескриптивни методи (утврђивање мера централне тенденције и мера варијабилитета). Анализа сагласности расподеле података са нормалном расподелом по кластерима пре, за време и после тромесечне терапије, урађена је применом теста сагласности Колмогоров - Смирнов. Анализа биохемијских параметара између кластера, обављена је применом метода *ANOVA II*, а идентификација евентуалних коваријата методом *ANCOVA*. Подаци који нису нормално распоређени пре и после терапије, ради утврђивања потенцијалних разлика између кластера, анализирани су методом *Mann-Whitney*. За утврђивање доприноса почетних вредности *HbA1c* раздвајању група (кластера) коришћена је дискриминациона анализа. У свим анализама нулта хипотеза одбачена је при грешци алфа мањој од 0,05.

Резултати

Хијерархијском кластер анализом *HbA1c* по поновљеним мерењима, код 43 испитивана болесника добијена су два кластера. Дескриптивни статистички параметри за *HbA1c* по прегледима и кластерима дати су у табели 1.

Табела 1. Дескриптивни статистици за *HbA1c* (%), по прегледима и кластерима

Посета	Кластер	Н	Х	СД	СЕ	95% интервал поверења			
						Доња граница	Горња граница	min	max
1	I	21	8.0	1.2	0.3	8.4	9.5	7.3	11.3
	II	22	6.7	1.2	0.3	6.2	7.3	4.3	9.0
	I, II	43	7.8	1.7	0.2	7.3	8.3	4.3	11.3
2	I	21	8.2	0.9	0.2	7.8	8.6	7.0	10.6
	II	22	5.4	0.9	0.2	5.0	5.8	3.5	7.0
	I, II	43	9.8	1.7	0.2	6.2	7.3	3.5	10.6
3	I	21	7.8	1.0	0.2	7.3	8.2	5.4	9.8
	II	22	5.0	1.0	0.2	4.6	5.5	3.4	6.8
	I, II	43	6.4	1.7	0.2	5.8	6.9	3.4	9.8

Н - број пацијената; Х - аритметичка средина; СД - стандардна девијација; СЕ - стандардна грешка.

Бисеријални коефицијент корелације за две групе износио је 0,0042, за три групе 0,0017, а за четири 0,0027. Бисеријални коефицијент је највећи за две групе, те се број од два кластера може сматрати оптималним.

Применом *ANCOVA II* у анализи *HbA1c*, идентификован је утицај коваријате гликемија наташте пре терапије, па је извршена корекција вредности *HbA1c* по посетама и кластерима (табела 2). Постојала је разлика у вредностима *HbA1c* између кластера ($F=75,844$; $df=1$; $p<0,01$).

Табела 2. Вредности *HbA1c* подешене на просечну вредност значајне коваријате гликемија наташте
- 1. преглед = 8,9907(*mmol/l*)

Кластер	Посета	Х	СЕ	95% интервал поверења	
				Доња граница	Горња граница
I Н=21	1	8.8	0.265	8.2	9.3
	2	8.0	0.181	7.6	8.3
	3	7.5	0.206	7.1	8.0
II Н=22	1	6.9	0.259	6.4	7.4
	2	5.7	0.176	5.3	6.0
	3	5.3	0.201	4.9	5.7

Н - број пацијената; Х - аритметичка средина; СЕ - стандардна грешка

Дискриминационом анализом показано је да обележје *HbA1c* пре терапије има допринос у раздвајању болесника у две групе (кластера) од 83,7% ($w=0,529$; $X^2=25,759$; $df=1$; $p<0,01$).

Постојала је разлика и у нивоу гликемије између кластера ($F=7,257$; $df=1$; $p=0,01$). Такође је постојала разлика у вредностима гликемије између прегледа у кластерима ($F=22,960$; $df=2$; $p<0,01$) (табела 3).

Табела 3. Просечне вредности гликемије наташте по прегледима и кластерима

Кластер	Посета	Х	СЕ	95% интервал поверења	
				Доња граница	Горња граница
I n=21	1	9.8	0.375	9.0	10.5
	2	8.4	0.351	7.7	9.1
	3	8.1	0.382	7.3	8.8
II n=22	1	8.2	0.366	7.5	9.0
	2	7.6	0.343	6.9	8.2
	3	6.9	0.374	6.1	7.6

Н - број пацијената; Х - аритметичка средина; СЕ - стандардна грешка

У осталим вредностима биохемијских параметара није било статистички значајне разлике између кластера. Просечна дневна примењена доза метформина у првом кластеру била је 1.375 *mg*, а у другом 1.042 *mg*. Дескриптивни параметри по осталим метаболичким и биохемијским параметрима пре и после терапије дати су у табели 4.

Табела 4. Дескриптивни статистици за биохемијске налазе пре и после терапије по кластерима

	Кластер	Н	Пре терапије		После терапије	
			X_1	$СД_1$	X_2	$СД_2$
Гликемија постпрандијално (<i>mmol/l</i>)	I	21	11.06	2.05	8.93	1.90
	II	22	9.70	2.42	8.25	1.96
GGT (<i>U/l</i>)	I	21	24.10	10.0	22.90	10.10
	II	22	22.83	5.57	22.70	7.12
Инсулинемија наташте (<i>mU/l</i>)	I	21	26.23	13.6	22.40	10.70
	II	22	27.92	8.30	29.20	14.40
Инсулинемија постпрандијално (<i>mU/l</i>)	I	21	50.67	29.60	37.30	15.20
	II	22	52.41	23.30	44.10	18.90
Укупни холестерол (<i>mmol/l</i>)	I	21	5.44	1.23	5.37	1.12
	II	22	5.80	1.94	5.66	0.95
Триглицериди (<i>mmol/l</i>)	I	21	3.18	3.49	2.65	2.32
	II	22	3.03	3.52	2.44	1.45
HDL (<i>mmol/l</i>)	I	21	1.00	0.31	0.99	0.36
	II	22	0.90	0.21	0.92	0.16
LDL (<i>mmol/l</i>)	I	21	3.41	1.00	3.47	0.89
	II	22	3.78	1.34	3.60	0.79
<i>HbA1c</i> (%)	I	21	8.99	1.22	7.76	1.03
	II	22	6.71	1.25	5.06	0.99
BMI (kg/m^2)	I	21	34.45	5.06	32.40	4.57
	II	22	35.09	4.66	33.00	4.49

Н - број пацијената; X_1 и X_2 - аритметичке средине; $СД_1$ и $СД_2$ - стандардне девијације

Дискусија

И поред релативно великог броја лекова који се користе у терапији ДМ тип 2, још увек постоје контроверзе у погледу одређивања терапије првог избора код ових болесника^{7,8}. Утицај оралних антидијабетика на опадање нивоа *HbA1c* и његово својење у физиолошке границе за што краће време код болесника са ДМ тип 2, јесте и биће један од главних арбитрарних критеријума који би могли да одреде терапију првог избора код болесника са ДМ тип 2⁹. Познато је да гликолизирани протеини играју улогу у патогенези дијабетесне васкулопатије¹⁰ а постоје и студије које показују да веће вредности *HbA1c* доводе до бржег развоја компликација код дијабетес мелитуса¹¹. Показана је удруженост између атеросклерозе, микроваскулопатије

и серумских концентрација *HbA1c* код болесника са ДМ тип 2¹². Процеси гликолизације и гликооксидације липопротеина доводе до стварања модификованог *LDL* холестерола, који је такође важан патогенетски фактор у развоју микроваскулопатија код дијабетичара¹³.

Такође и други фактори, гојазност и хиперлипидемије и фактори коморбидитета, изискују детаљна разматрања у смислу предикције исхода терапијског третмана код болесника са ДМ тип 2. Имајући претходно у виду, логично је поставити за циљ дефинисање алгорита којим би се на основу метаболичких профила и других значајних карактеристика болесника са ДМ тип 2, одредила терапија⁸.

С друге стране, будући да не изазива хипогликемију, сугерише се да је метформин лек избора у превенцији ДМ тип 2 код особа са умереном (недијабетском) хипергликемијом¹⁴.

У овој студији су хијерархијском кластер анализом издвојене две групе болесника које се разликују у нивоима *HbA1c* пре, за време и после терапије (табела 1 и 2). Резултати указују да је метформин високостатистички значајно ефикаснији у снижавању гликолизираног хемоглобина у другом кластеру, чије су почетне просечне вредности *HbA1c* биле ниже 6,918%, насупрот вредностима пре терапије у I кластеру 8,782% (табела 1). На основу анализе доприноса почетних вредности *HbA1c* раздвајању група, вероватноћа исправне класификације је 0,837.

Према лабораторијским стандардима вредности *HbA1c* веће од 6,5 а мање од 7,5% представљају макроваскуларни ризик. Када је *HbA1c* преко 7,5% постоји микроваскуларни ризик и указују да код болесника са дијабетес мелитусом у последња три месеца није успостављена добра гликемијска контрола. Вредности *HbA1c* ниже или једнаке 6,5% указују да је болесницима са ДМ тип 2 успостављена добра гликорегулација као код здравих особа, односно да имају низак васкуларни ризик¹⁵.

Види се да су се вредности гликолизираног хемоглобина за три месеца терапије у другом кластеру снизиле у оквиру физиолошких граница, што није био случај код болесника у првом кластеру. При анализи разлика у нивоу гликолизираног хемоглобина, по поновљеним мерењима идентификована је коваријата гликемија наташте, па су исказане вредности гликолизираног хемоглобина кориговане за утицај коваријате (табела 2).

Болесници из првог кластера, који су имали више вредности за *HbA1c* из категорије нестабилног, нерегулисаног дијабетес мелитуса, за три месеца терапије метформином прешли су у категорију регулисаног дијабетес мелитуса. У осталим лабораторијским вредностима за *BMI* није било разлике између кластера (табела 4).

Добијени резултати потврђују да је метформин антихипергликемик, као и да има малу интринзичку хипогликемијску активност. Због тога болесници са бољом гликорегулацијом пре терапије, боље одговарају на терапију метформином. Болесници са вредностима *HbA1c* преко 7% захтевају обавезно фармаколошко лечење дијабетеса, док се болесницима чији је *HbA1c* испод 7% ординира само дијета уз програмирану физичку активност⁹.

Закључак

У терапији метформином вредност *HbA1c* пре терапије је свакако један од кључних биохемијских параметара за предвиђање успеха терапије код болесника са ДМ тип 2; *HbA1c* може да се нормализује за три месеца терапије метформином код болесника који према вредностима *HbA1c* пре терапије припадају категорији болесника са стабилним дијабетес мелитусом; *HbA1c* пре терапије може да буде критеријумска варијабла за статистичко моделовање и предвиђање исхода терапије метформином.

Mira Vuković, Pharm. Mgr.¹;
Branislav S. Gvozdenović,
M.D. PhD²

¹ Health Center, Valjevo

² AbC.R.O. Inc. Serbia, Belgrade

Clusters of patients with Diabetes Mellitus type 2 treated with Metformin

Abstract

Key words:

diabetes mellitus,
glycolysated hemoglobin,
metformin,
cluster analysis.

Introduction. It is well known that the reduction of glycolysated hemoglobin (HbA1c) level is one of the main clinical factors in the assessment of treatment of diabetes mellitus (DM) type 2.

Aim. The principal goal of the study was to establish the potential existence of subpopulations of patients with DM type 2 who respond differently to metformin therapy, if the effects of therapy are monitored via the level of HbA1c by

repeated measurements (before therapy, after 6, and after 12 weeks of therapy). The secondary goal was to analyze groups for differences pertaining to other clinical indicators of glycoregulation (fasting and postprandial glycemia), metabolic indicators (BMI and fasting and postprandial insulinemia, triglycerides, LDL and HDL cholesterol, and serum gamma GT), as well as to establish potential differences for mentioned indicators between groups by repeated measurements.

Method. The investigation was carried out as an open, multicentric clinical investigation on 43 obese patients suffering from DM type 2, treated with the ant hyperglycemic agent – metformin during 12 weeks. Statistical identification of clusters was done using hierarchical cluster analysis. The measure of distance between objects was the square of the Euclid distance, while groups were distinguished using the average link method. The contribution of HbA1c in distinguishing groups was established using discrimination analysis. To realize the second goal, the methods used were two-way ANOVA, i.e. two-way ANCOVA, and Test of sum of ranks between groups for nonhomogenous parametric data.

Results. Results demonstrated that two groups (clusters) of patients could be distinguished, which with high statistical significance differ for levels of HbA1c and glycemia, identified as a covariant, both before and after therapy. Before and after therapy, HbA1c was significantly lower in Cluster 1, (8.782% and 7.543%), compared to Cluster 2 (6.918% and 5.267%), where values after therapy were virtually normal. The contribution of the initial level of HbA1c for distinguishing between groups is 83.7%. There was also a difference for the level of glycemia between clusters ($p < 0.01$). A difference was also noted for values for glycemia between visits by clusters ($p < 0.01$). There were no differences between groups for other metabolic and biochemical indicators.

Conclusion. It can be concluded that monotherapy with metformin during three months is more efficient in patients who have better glycoregulation before therapy ($p < 0.01$), and who belong to the group of patients with stable type 2 diabetes, since in these patients values of HbA1c are normalized, which is not the case in patients who had bad glycoregulation before treatment (HbA1c above 8%).

.....

Литература

1. UK Prospective Diabetes Study Group. *Effect of intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patients with Type 2 diabetes* (UKPDS 34). *Lancet* 1998; 352:854-65.
2. Stumvoll M et al. *Metabolic effects of metformin in Type 2 diabetes*. *N Engl J Med* 1995; 333:550-4.
3. Fery F, Plat L, Balasse EO. *Effects of metformin on the pathways of glucose utilization after oral glucose in patients with Type 2 diabetes*. *Metabolism* 1997; 46:227-33.
4. Stith BJ et al. *The antidiabetic drug metformin elevates receptor tyrosine kinase activity and inositol 1,4,5 - trisphosphate mass in xenopus oocytes*. *Endocrinology* 1996; 137:2990-9.
5. Glucophage product monograph (Nordic-Canada), Rev 6/82, Rec 7/93.
6. Hermann LS et al. *Antihyperglycemic efficacy, response prediction and dose response relations of treatment with metformin and sulphonylurea, alone and in primary combination*. *Diabet Med* 1994; 11:953-60.
7. Rendell MS, Kirchain WR. *Pharmacotherapy of type 2 diabetes mellitus*. *Ann Pharmacother* 2000 Jul-Aug; 34(7-8):878-95.
8. Garber AJ. *Strategies for better diabetes control in the US*. *Drugs* 1999; 58(1):61-9.
9. Peters AL, Davidson MB, Schriger DL, Hasselblad V.A *Clinical approach for the diagnosis of diabetes mellitus: an analysis using glycosylated hemoglobin levels*. Meta-analysis Research Group on the Diagnosis of Diabetes Using Glycated Hemoglobin Levels. *JAMA* 1996 Oct 16; 276(15):1246-52.
10. Jennings EP. *Glycosilation and diabetic vascular disease*. *Diabetes Review* 1992; 1(2): 121-6.
11. Klein R et al. *Glycosylated hemoglobin predicts the incidence and progression of diabetic retinopathy*. *JAMA* 1988 Nov 18; 260(19):2864-71.
12. Aso Y, Inukai T, Tayama K, Takemura Y. *Serum concentrations of advanced glycation endproducts are associated with the development of atherosclerosis as well as diabetic microangiopathy in patients with type 2 diabetes*. *Acta Diabetol* 2000; 37(2):87-92.
13. Actis Dato SM, Rebolledo OR. *Lipoprotein glycation and glycooxidation: their importance in diabetes mellitus*. *Medicina (B Aires)* 2000; 60(5 Pt 1):645-56.
14. Charles MA, Eschwege E. *Prevention of type 2 diabetes: role of metformin*. *Drugs* 1999; 58 Suppl 1:71-3.
15. Лалић Н и сар. *Диабетес мелитус*. Национални комитет за израду Водича клиничке праксе у Србији. Београд, 2002.