

Raznolikost v farmakološkem odzivu na zdravljenje z metforminom

Variability in pharmacological response to metformin treatment

Vanja Ornik,¹ Polonca Ferk²

¹ Javni zdravstveni zavod, Lekarna Maribor, Lekarna Qlandia, Maribor

² Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Katedra za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, Maribor

Korespondenca/ Correspondence:

doc. dr. Polonca Ferk,
Univerza v Mariboru,
Medicinska fakulteta,
Katedra za farmakologijo
in eksperimentalno
toksikologijo, Slomškov
trg 15, 2000 Maribor;
E-pošta: polonca.ferk@
guest.arnes.si
Tel.: (02) 234 56 12
Fax: (02) 234 56 00

Ključne besede:

farmakogenetika,
sladkorna bolezen
tipa 2, sindrom
policističnih jajčnikov,
genetski polimorfizmi,
farmakoterapija

Key words:

pharmacogenetics, type
2 diabetes, polycystic
ovary syndrome,
genetic polymorphisms,
pharmacotherapy

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2013;
82: 487–496

Prispelo: 20. avg. 2012,
Sprejeto: 05. mar. 2013

Izvilleček

Izhodišča: Metformin je peroralni antidiabetik in je po slovenskih smernicah zdravilo prve izbire za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 (SB2). Svoje mesto si utira tudi pri zdravljenju sindroma policističnih jajčnikov (PCOS), čeprav PCOS (še) ni uradno med indikacijami za zdravljenje z metforminom. Študije kažejo, da metformin izboljša klinično in biokemično sliko PCOS ter zveča stopnjo ovulacije in s tem verjetnost za zanositev pri ženskah s tem sindromom. Farmakološki učinki metformina se ob enakem režimu odmerjanja med bolniki razlikujejo, kar poskušamo med drugim razložiti tudi z vplivom polimorfni različic v genih, povezanih s farmakodinamiko in farmakokinetiko metformina.

Zaključki: Rezultati raziskav kažejo, da polimorfne različice v genih, povezanih s farmakodinamiko in farmakokinetiko metformina, lahko prispevajo k raznolikosti v odzivu na zdravljenje z metforminom tako pri bolnikih s SB2 kot pri bolnicah s PCOS.

Abstract

Background: According to the Slovenian guidelines, metformin, an oral antidiabetic drug, is a drug of choice for the treatment of type 2 diabetes. Additionally, metformin is paving its way in polycystic ovary syndrome (PCOS) treatment, although the drug has not (yet) been officially indicated to treat PCOS. Studies have shown that metformin improves clinical and biochemical features of PCOS as well as the rate of ovulation and consequently the likelihood of conception in PCOS women. At the same dosage regimen, pharmacological effects of metformin show interindividual variability in metformin response; efforts have been made to at least partly explain the variability with polymorphic variants in genes related to metformin pharmacodynamics and pharmacokinetics.

Conclusions: The results of the current studies indicate that polymorphic variants in genes related to metformin pharmacodynamics and pharmacokinetics may contribute to the interindividual variability in pharmacological response to metformin treatment in diabetic as well as in PCOS patients.

1. Uvod

Farmakogenetika je interdisciplinarno področje, ki združuje znanja farmakologije in genetike. Njen osnovni namen je opredeliti, kako in v kolikšni meri posameznikov genetski zapis določa farmakološki odgovor na specifično zdravilo in zdravljenje. Namen vključitve farmakogenomskega pristopa v farmakoterapijo je izbrati že na začetku zdravljenja za bolnika najbolj učinkovito zdravljenje z minimalnimi neželenimi učinki glede na njegov genetski profil.¹

Pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 2 (SB2) in pri bolnicah s sindromom policističnih jajčnikov (PCOS) lahko opazimo precejšnjo raznolikost v odzivu na zdravljenje z metforminom, peroralnim antidiabetikom, ki spada v skupino bigvanidov. Medosebne razlike v učinkovitosti metformina in pri pojavu neželenih učinkov (prebavne težave, laktacidoza) pri enakem režimu odmerjanja lahko med drugim razložimo tudi na osnovi genetske raznolikosti med posamezniki. Doslej so proučevali vpliv genetskih polimorfizmov posameznih nukleotidov (*angl.* Single Nucleotide Polymorphism,

SNP; sprememba enega samega nukleotida v zaporedju DNK, ki se v populaciji pojavlja pri več kot 1 % posameznikov) na farmakološke lastnosti metformina pretežno na celičnih in živalskih modelih, v retrospektivnih kliničnih študijah ter v maloštevilnih prospektivnih kliničnih študijah. Doslej so preučili predvsem izbrane SNP-je v genih za molekule, ki sodelujejo v predvidenem mehanizmu delovanja metformina, ter SNP-je v genih za organske kationske prenašalce v jetrih in ledvicah. Poznavanje farmakogenetike metformina je osnova za možen razvoj genetskega testiranja pred odločanjem o izbiri posameznemu bolniku s SB2 oz. bolnici s PCOS prilagojene farmakoterapije, skladno s sodobnim konceptom osebne medicine.²

2. Farmakološke lastnosti metformina

2.1 Farmakodinamika metformina

Ključni mehanizem delovanja metformina je inhibicija glukoneogeneze, v manjši meri pa zavira tudi proces glikogenolize,³ povečuje tudi občutljivost perifernih tkiv, zlasti skeletnih mišic, za inzulin, s čimer izboljša izrabo glukoze v perifernih tkivih; upočasnjuje tudi absorpcijo glukoze iz črevesja.⁴ Vsi navedeni učinki so želeni pri antihiperглиkemičnem zdravljenju bolnikov s SB2. Pri ženskah s PCOS metformin zveča verjetnost za ovulacijo, verjetno zaradi zmanjšanja koncentracije inzulina v krvi in zato zaradi zmanjšanja njegovih učinkov na biosintezo androgenov v jajčnikih, na proliferacijo celic teke in na rast endometrija. Najverjetneje metformin tudi neposredno zavira glukoneogenezo v jajčnikih in tudi na ta način prispeva k zmanjšanju biosinteze androgenov v jajčnikih.⁵

Primarno mesto delovanja metformina je najverjetneje kompleks I mitohondrijske dihalne verige, tarčna molekula za metformin pa natančno še ni opredeljena. Blago in prehodno inhibicijo kompleksa I zaradi delovanja metformina vodi v zmanjšanje energijskega stanja celice (zmanjšanje koncentracije adenozin-trifosfata in sočasno povečanje koncentracije adenozin-mono-

fosfata v celici) ter zato zviša raven izražanja serin-treoninske kinaze 11 (STK11, tudi t. i. LKB1) in aktivacijo od adenozin-monofosfata odvisne proteinske kinaze (AMPK).^{6,7} Aktivacija AMPK je potrebno za zaviranje glukoneogeneze, stimulacijo oksidacije maščobnih kislin v hepatocitih ter za povečanje privzema glukoze v skeletne mišice. Predviden mehanizem delovanja metformina je predstavljen na Sliki 1. V nedavni študiji so ugotovili, da inhibiranje proteina ATM (*angl.* Ataxia Telangiectasia Mutated), ki spada v družino fosfatidilinozitol-3-kinaz/fosfatidilinozitol-4-kinaz (PI3K/PI4K), zmanjša fosforilacijo in s tem aktiviranje AMPK.⁸ Sklepamo, da inhibiranje proteina ATM preprečuje inhibiranje glukoneogeneze in s tem zmanjšuje farmakološki učinek metformina. Metformin ima najverjetneje tudi nekatere mitohondrijske učinke; ugotovili so namreč njegov učinek na metabolizem eritrocitov, ki nimajo mitohondrijev, in sicer naj bi metformin vplival na fluidnost celične membrane eritrocitov.⁹

2.2 Farmakokinetika metformina

Ker je molekula metformina pri fiziološkem pH pozitivno nabita, metformin celičnih membran ne more prehajati s pasivno difuzijo, temveč jih prehaja s pomočjo prenašalnih proteinov.¹⁰ Metformin se po peroralnem jemanju iz prebavne cevi absorbira v največji meri s plazmalemskim prenašalcem za monoamine (PMAT) in v manjši meri s prenašalcem za organske katione 3 (OCT3); slednji se med drugim nahaja tudi v skeletnih mišicah, v srcu, možganih, jetrih, maternici in posteljici.¹¹ Glavni organi porazdelitve metformina so prebavna cev, jetra in ledvice. Metformin se v človeškem telesu verjetno ne presnavlja ter se izloča skozi ledvice z glomerulno filtracijo in tubulno sekrecijo.⁴ Metformin je substrat za prenašalce za organske katione tako v jetrih kot v ledvicah. Pri ljudeh se prenašalec za organske katione 1 (OCT1) izraža na bazolateralni membrani hepatocitov in je glavni posrednik privzema metformina v jetra,¹⁰ ki so tudi glavno mesto delovanja tega zdravila. Delno se metformin privzema v hepatocite tudi s prenašalcem OCT3. Prenaša-

lec za organske katione 2 (OCT2) najdemo v glavnem v ledvicah in omogoča privzem metformina v celice proksimalnih ledvičnih tubulov.¹⁰ Poleg tega je metformin substrat za prenašalce MATE (*angl.* Multidrug And Toxin Extrusion), ki lahko pomembno vplivajo na izločanje metformina.¹² Antiporter MATE1 se v veliki meri izraža v jetrih, ledvicah in v skeletnih mišicah, medtem ko se protiprinašalec MATE2 nahaja predvsem na krtačasti membrani proksimalnih ledvičnih tubulov.¹⁰ Shematsko je umeščenost prenašalnih proteinov, ki igrajo v organizmu pomembno vlogo pri prehajanju metformina skozi celične membrane, prikazana na Sliki 2.

3. Uporaba metformina v klinični praksi

3.1 Zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 z metforminom

Metformin je za zdravljenje sladkorne bolezni v uporabi že več kot 50 let in je glede na slovenske smernice zdravilo prve izbire za zdravljenje SB2, zlasti pri diabetikih s čezmerno telesno težo.¹³ Učinkovit je pri zmanjševanju koncentracije glukoze v krvi pri bolnikih z inzulinsko rezistenco; posledica je zmanjšano tveganje za zaplete, povezane s SB2, med drugim za bolezni srca in žilja; v primerjavi s placebom in drugimi antidiabetiki metformin zmanjša tveganje za smrtnost zaradi srčno-žilnih zapletov, kar so potrdili v več kot 30 kliničnih raziskavah.⁹ Za razliko od sulfonilsečnin in inzulina pa metformin ne povzroča povečanja telesne teže ter ni povezan z velikim tveganjem za hipoglikemijo. Ugotovitve nedavnih kliničnih študij nakazujejo, da je metformin učinkovito zdravilo tudi pri diabetični nefropatiji, boleznih srca in žilja, PCOS, pri preprečenju SB2, pri zdravljenju raka ter celo pri uravnavanju cirkadianega ritma.⁹ Kontraindikacije za zdravljenje z metforminom so ledvična insuficienca, bolezni jeter in srčno popuščanje zaradi nevarnosti nastanka laktacidoze. Metformin bolniki večinoma dobro prenašajo; njegovi neželeni učinki so predvsem blage in prehodne

prebavne motnje, ki jih lahko ublažimo z jemanjem zdravila med obrokom hrane ter postopnim zvečevanjem odmerka. Zdravljenje je potrebno začasno prekiniti pred načrtovanimi preiskavami s kontrastnimi sredstvi, v času akutnih bolezni ter pred večjimi operacijami. Pri dolgotrajnem zdravljenju se priporoča nadomeščanje folne kisline in vitamina B12, saj metformin lahko zmanjša njuno absorpcijo iz črevesja.¹⁴

3.2 Zdravljenje sindroma policističnih jajčnikov z metforminom

Sindrom policističnih jajčnikov, najpogostejša endokrina motnja pri ženskah v rodnem obdobju,¹⁵ (še) ni uradna indikacija za zdravljenje z metforminom,⁴ čeprav v zadnjem času postaja metformin zdravilo prve izbire za vse bolnice s PCOS, ki imajo motnje menstruacijskega cikla, težave z zanositvijo in pri katerih želimo vplivati na kazalce presnove.¹⁴ Rezultati dosedanjih študij namreč kažejo, da jemanje metformina pri mnogih bolnicah s PCOS izboljša njihovo klinično in biokemično sliko, tj. njihove reproduktivne, presnovne in hormonske funkcije (zmanjša plazemske koncentracije androgenov in inzulina,¹⁶ zmanjša inzulinsko rezistenco, izboljša morfologijo policističnih jajčnikov,¹⁷ spodbuja ovulacijo,¹⁴ vzpostavlja reden menstruacijski cikel,¹⁸ zveča plodnost,¹⁹ v kombinaciji s spremembo življenjskega sloga zmanjšuje telesno težo¹⁹). Tako metformin pri mnogih bolnicah s PCOS verjetno tudi zmanjša tveganje za znane kasnejše zaplete tega sindroma, tj. zlasti za SB2, metabolni sindrom, za zvišan krvni tlak, aterosklerozo, bolezni srca in žilja.¹⁹

4. Farmakogenetika odziva pacientov na zdravljenje z metforminom

Rezultati dosedanjih farmakogenetskih študij so povzeti v Tabeli 1 ter ovrednoteni v nadaljevanju.

Tabela 1: Povzetek dosedanjih farmakogenetskih študij metformina.

Oznaka in ime gena	Oznaka genetskega polimorfizma	Vrsta študije (+ populacija)**	Št. preisk.**	Rezultat študije	Ref
STK11 (gen za STK11)	• rs8111699 (c.290+2512C>G)	klinična: bolnice s PCOS (ZDA, belke, Afroameričanke, Azijke)	312	Prisotnost alela C je povezana z značilno manjšo verjetnostjo za ovulacijo.	20
		klinična: deklice (8–12 let) z znaki hiperinsulinemije in hiperandrogenemije (Španija)	85	Prisotnost alela C je povezana s slabšim odzivom na zdravljenje z metforminom.	21
ATM (gen za ATM)	• rs11212617 (g.108283161C>A)	klinična; retrospektivna: bolniki s SB2 (študija GoDARTS, Škotska)	1024	Alel C je povezan z nižjimi vrednostmi HbA1c pri zdravljenju z metforminom.	8
		klinična; retrospektivna: bolniki s SB2 (GoDARTS in UKPDS)	1783 in 1113	Alel C je povezan z nižjimi vrednostmi HbA1c pri zdravljenju z metforminom.	8
		klinična: osebe s čezmerno telesno težo ali debele osebe z zmanjšano toleranco za glukozo (študija DPP, ZDA)	2994	Alel C ni povezan z boljšim odzivom na metformin.	22
		metaanaliza petih študij: CSA, Rotterdam, CARDS, GoDARTS, UKPDS	skupno 5285	Alel C je povezan z nižjimi vrednostmi HbA1c pri zdravljenju z metforminom (razen študija CARDS).	23
SLC22A1 (gen za prenašalec OCT1)	• rs12208357 (c.181C>T, p.61Arg>Cys) • rs34104736 (c.566C>T, p.189Ser>Leu) • rs36103319 (c.659G>T, p.220Gly>Val) • rs34130495 (c.1201G>A, p.401Gly>Ser) • rs34059508 (c.1393G>A, p.465Gly>Arg) • c.1256delATG, p.420del	<i>in vitro</i> : celični modeli <i>in vivo</i> : mišji modeli	/	Različice 181T, 566T, 659T, 1201A, 1393A ter 1256delATG imajo za posledico izražanje prenašalca OCT1 z zmanjšano funkcijo.	10
	• -c. -43T>G • rs628031 (c.1222A>G, p.Met408Val)	klinična: bolniki s SB2 (Japonska)	33	Različica -43G je verjetno pozitiven, različica 1222G pa negativen napovedni dejavnik učinkovitosti metformina.	10
	• rs12208357 (c.181C>T, p.61Arg>Cys)	<i>in vitro</i> : celična linija CHO-K1	/	Raven izražanja OCT1 je manjša pri različici 181T.	24
	• rs622342 (A>C)	klinična: bolniki s SB2 (študija Rotterdam; Nizozemska)	98	Pri homozigotih C/C so v primerjavi z divjim tipom vrednosti HbA1c značilno nižje.	28
	• rs12208357 (c.181C>T, p.61Arg>Cys) • rs34130495 (c.1201G>A, p.401Gly>Ser), • rs34059508 (c.1393G>A, p.465Gly>Arg) • c.1256delATG, p.420del	klinična: zdravi prostovoljci (moški; belci)	103	Genetske različice 181T, 1201A, 1393A ter 1256delATG v genu za prenašalec OCT1, ki vodijo do zmanjšane funkcije prenašalca, so povezane z večjim ledvičnim očistkom metformina.	25
	• rs628031 (c.1222A>G, p.408Met>Val) • rs36056065 (g.160560908 delinsGTAAAGTTG)	klinična: bolniki s SB2 (Latvija)	246	Različici 1222A in insercija 8bp (rs36056065) sta povezani z večjo pojavnostjo neželenih učinkov v GIT pri zdravljenju z metforminom.	30
	• c.596C>T, p.Thr199Ile • rs145450955 (c.602C>T, p.201Thr>Met) • rs316019 (c.808T>G, p.270Ser>Ala)	<i>in vitro</i> : celice HEK-293	/	Pri različicah 596T, 602T ter 808T je privzem metformina v celice v primerjavi z divjim tipom zmanjšan.	31
SLC22A2 (gen za prenašalec OCT2)	• c.596C>T, p.Thr199Ile • rs145450955 (c.602C>T, p.201Thr>Met) • rs316019 (c.808T>G, p.270Ser>Ala)	klinična: zdravi prostovoljci (Koreja)	26	Pri različicah 596T, 602T ter 808T je značilno zmanjšan očistek metformina v primerjavi z divjim tipom.	28
		<i>in vitro</i> : oociti	/	Pri različicah 596T, 602T ter 808T je prenašalna aktivnost za metformin zmanjšana.	35
		klinična: zdravi prostovoljci (Kitajska)	15	Heterozigoti 808G/T in homozigoti 808T/T imajo zmanjšan ledvični očistek metformina v primerjavi s homozigoti 808G/G (divji tip).	32
	• rs316019 (c.808T>G, p.270Ser>Ala)	klinična: bolniki s SB2 (Kitajska)	400	Pri homozigotih 808T/T je verjetnost za hiperlaktemijo večja.	32
		<i>in vitro</i> : celice HEK-293	/	V primeru genotipa 808T/T je zmogljivost prenosa metformina večja.	34
		klinična: zdravi prostovoljci (ZDA; Afroameričani in potomci Evropejcev)	23	Pri heterozigotih 808G/T je v primerjavi s homozigoti 808G/G očistek metformina večji.	34

Oznaka in ime gena	Oznaka genetskega polimorfizma	Vrsta študije (+ populacija)**	Št. preisk. **	Rezultat študije	Ref
SLC22A3 (gen za prenašalec OCT3)	- rs2292334 (c.1233G>A, p.411Ala=) - rs2048327 (intron 7, c.1289–261T>A) - rs1810126 (3'-UTR, c.*63C>T) - rs3088442 (3'-UTR, c.*564G>A)	<i>in vitro</i> : celična linija CHO-K1	/	Pri različicah 1233A, rs2048327 A, *63T ter *564A je raven izražanja mRNA za OCT3 zmanjšana.	24
	- rs8187725 (c.1199C>T, p.400Thr>Ile) - c.1267G>T, p.423Val>Phe	<i>in vitro</i> : celice HEK-293	/	Pri različici 1199T je privzem metformina v celice zmanjšan za približno 80 %, pri 1267T pa za približno 50 % v primerjavi z divjim tipom.	11
	rs8187715 (c.131C>T, p.44Thr>Met)	<i>in vitro</i> : celice HEK-293	/	Pri različici 131T je privzem metformina v celice povečan za okoli 60 % v primerjavi z divjim tipom.	11
SLC47A1 (gen za MATE1)	- rs35646404 (c.404T>C, p.159Thr>Met) - rs35790011 (c.1012G>A, p.338Val>Ala) - rs35395280 (c.1490G>T, p.497Cys>Phe)	<i>in vitro</i> : celice HeLa	/	Prenašalna aktivnost MATE1 za metformin je pri različicah 404C in 1012A značilno zmanjšana, različice rs35395280 pa na navedeno prenašalno aktivnost ne vplivajo.	36
	rs2252281 (g.-66T>C)	<i>in vitro</i> : HCT-116, ACHN, HEP-G2, HeLa	/	Aktivnost prenašalca MATE1 je značilno manjša pri različici g.-66C v primerjavi z g.-66T, kar ima za posledico značilno zmanjšanje izražanja mRNA za MATE1 pri heterozigotih C/T in homozigotih C/C v primerjavi s homozigoti T/T.	37
	rs2289669 (c.922–158G>A)	klinična: bolniki s SB2 (študija Rotterdam, Nizozemska)	116	Nosilci alela A imajo značilno manjše vrednosti HbA1c po zdravljenju z metforminom.	38
		klinična: bolniki s SB2 (študija Rotterdam, Nizozemska)	98	Vrednosti HbA1c so pri homozigotih A/A značilno manjše kot pri divjem tipu.	28

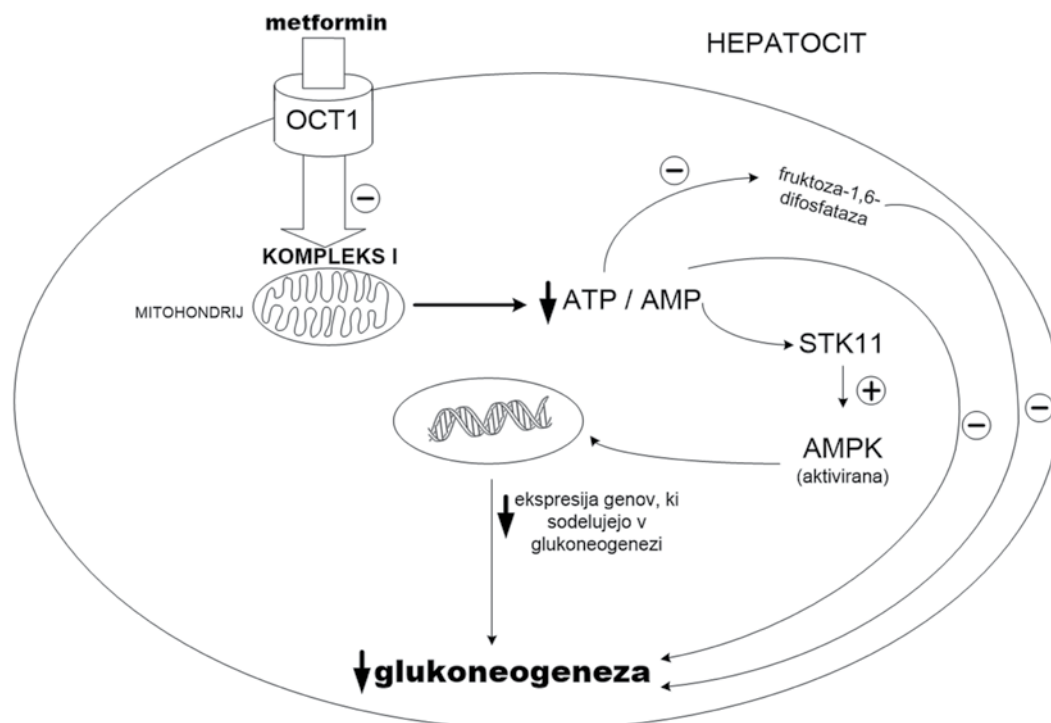
Legenda: Št. preisk. – število preiskovancev, Ref. – referenca, SLC22A1/2/3 – gen za prenašalec za organske katione 1/2/3, OCT1/2/3 – prenašalec za organske katione 1/2/3, SLC47A1 – gen za prenašalec MATE1, MATE1 – protiprenašalec Multidrug And Toxin Extrusion 1, STK11 – serin-treoninska kinaza 11, ATM – protein ATM (*angl.* Ataxia Telangiectasia Mutated), SB2 – sladkorna bolezen tipa 2, CHO-K1 – celice jajčnikov kitajskega hrčka, HEK-293 – humane zarodne ledvične celice, HeLa – humane rakave celice ustja materničnega vratu, HCT-116 – humane celice raka debelega črevesa, ACHN – humane celice raka ledvic, HEP-G2 – humane celice hepatoma, mRNA – informacijska RNA, GoDARTS – študija GoDARTS (*angl.* Genetics Of Diabetes Audit and Research Tayside Study), PCOS – sindrom policističnih jajčnikov, A – adenin, T – timin, G – gvanin, C – citozin, Ala – alanin, Cys – cistein, Phe – fenilalanin, Gly – glicin, Ile – izolevcin, Leu – levcin, Met – metionin, Arg – arginin, Ser – serin, Thr – treonin, Val – valin, GIT – prebavna cev/trakt, delins – delecija/insercija, bp – bazni par, c. – oznaka za spremembo nukleotida, p. – oznaka za spremembo aminokislinske, g. – polimorfizem v bližini gena, HbA1c – glikirani hemoglobin A1c, * – polimorfizem v regiji 3'UTR, = – ni spremembe v aminokislinskem zaporedju, ** – v primeru klinične študije.

4.1 Vpliv genetske raznolikosti na farmakodinamiko metformina

4.1.1 Gen za STK11

Na odziv na zdravljenje z metforminom verjetno vpliva polimorfizem rs811699 G > C (frekvenca manj pogostega alela v populaciji – MAF (*angl.* global Minor Allele Frequency); C = 0,359/785) v genu za kinazo STK11, pomembno molekulo v mehanizmu delovanja metformina. V študiji na 312 Američankah s PCOS, zdravljenih z metforminom, so ugotovili, da je prisotnost alela C značilno zmanjšala verjetnost za ovulacijo; v

skupini preiskovank je bila frekvenca alela C 50 %.²⁰ Učinek tega polimorfizma na odziv na zdravljenje z metforminom so opazovali tudi v skupini 85 deklic, starih med 8 in 12 let, z znaki hiperinzulinemije in hiperandrogenemije. Tudi v tej raziskavi so ugotovili, da je prisotnost alela C povezana s slabšim odzivom na zdravljenje z metforminom.²¹ Nam dostopni podatki ne navajajo testiranja polimorfizma rs811699 na celičnih in živalskih modelih oz. v kliničnih študijah na zdravih prostovoljcih.



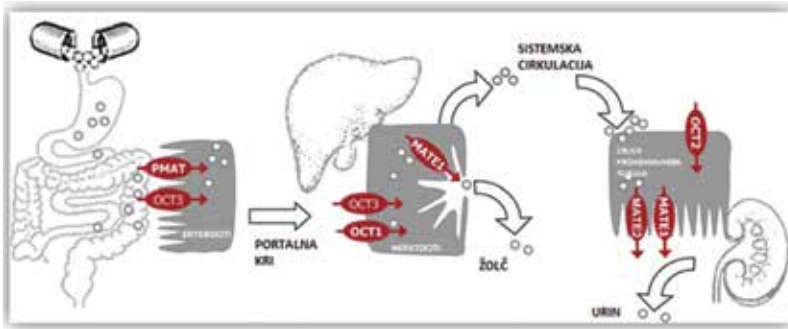
Slika 1: Predpostavljen molekularni mehanizem delovanja metformina na glukoneogenezo v jetrih. Po privzemu metformina v jetrno celico preko prenašalca OCT1 je primarna tarča metformina kompleks I mitohondrijske dihalne verige. Z inhibicijo kompleksa I pride do blagega znižanja energijskega statusa celice, kar povzroči akutno in prehodno inhibicijo poti, ki vodijo v glukoneogenezo. Metformin lahko preko od AMPK odvisnih in neodvisnih poti vodi do zmanjšanja ekspresije genov, ki sodelujejo pri glukoneogenezi, ter posledično do inhibicije sinteze glukoze v jetrih. Poleg tega lahko od STK11 odvisna aktivacija AMPK zmanjša lipogenezo v jetrih ter posredno vpliva na občutljivost jeter za inzulin in posledično izločanje glukoze iz jeter (prirejeno po Benoit ⁹).

Legenda: OCT1 – prenašalec za organske katione 1, ATP – adenzin-trifosfat, AMP – adenzin-monofosfat, STK11 – serin-treoninska kinaza 11, AMPK – od adenzin-monofosfata odvisna proteinska kinaza, + – aktivacija poti, – – inhibicija poti, ↓ – zmanjšanje.

4.1.2 Gen ATM

Protein ATM spodbuja aktivacijo AMPK (in s tem posledično vpliva na učinkovitost metformina), igra pa tudi pomembno vlogo pri popravljanju DNK ter v uravnavanju celičnega cikla. V asociacijski genetski študiji GoDARTS (*angl.* the Genetics of Diabetes Audit and Research Tayside Study), v katero so bili vključeni škotski bolniki s SB2, zdravljeni z metforminom, so v skupini 1024 bolnikov med številnimi testiranimi genetskimi polimorfizmi, za polimorfizem rs11212617 C > A (MAF; A = 0,471/1030) v genu *ATM* ugotovili, da značilno vpliva na odziv na zdravljenje z metforminom, in sicer prisotnost alela C značilno napoveduje manjše vrednosti HbA_{1c}.⁸ V preiskovani skupini je bila frekvenca manj pogoste različice navedenega polimorfizma 44 %.⁸ V dveh ponovi-

tvenih skupinah (neodvisna GoDARTS skupina 1783 bolnikov in skupina UKPDS (*angl.* United Kingdom Prospective Diabetes Study; 1113 bolnikov s SB2) so dobili enak rezultat.⁸ Glede na dostopno aktualno literaturo navedenega polimorfizma niso predhodno testirali na celičnih in živalskih modelih oz. v kliničnih študijah na zdravih prostovoljcih. V nedavni študiji DPP (*angl.* Diabetes Prevention Program) na 2994 bolnikih s čezmerno telesno težo oz. na debelih bolnikih z zmanjšano toleranco za glukozo, ki so jemali metformin, niso uspeli potrditi povezave med alelom C polimorfizma rs11212617 v genu *ATM* in odzivnostjo na metformin.²² V metaanalizi različnih skupin preiskovancev iz petih študij – DCS (929 preiskovancev), Rotterdam (182 preiskovancev), CARDS (254 preiskovancev) ter GoDARTS



Slika 2: Lokacija ključnih prenašalnih proteinov, udeleženih v farmakokinetiki metformina.

V glavno pot absorpcije, porazdelitve in eliminacije metformina pri človeku so vključeni prenašalci PMAT, OCT1, OCT2, OCT3, MATE1 in MATE2 (prirejeno po Zolk¹⁰).

Legenda: OCT–prenašalec za organske katione, MATE–antiporter MATE (angl. Multidrug And Toxin Extrusion), PMAT–plazmalemski prenašalec za monoamine.

in UKPDS (skupno 3920 preiskovancev), ki so bili zdravljeni z metforminom, so v vseh, razen v skupini CARDS, ugotovili, da je prisotnost alela C povezana z nižjimi vrednostmi HbA_{1c}.²³ Nasprotujoči si rezultati študij so lahko posledica različnih opredelitev uspešnega odziva na zdravljenje z metforminom. Študije so bile narejene na različnih etničnih populacijah, kar je prav tako lahko eden od razlogov za nasprotujoče si rezultate. Poleg tega se bolniki z višjimi vrednostmi HbA_{1c} verjetno bolje odzivajo na zdravljenje z metforminom (diabetiki npr. bolje kot bolniki z zmanjšano toleranco za glukozo). Eden od razlogov za raznolike rezultate je lahko tudi ta, da npr. študiji GoDARTS in UKPDS temeljita na retrospektivni oceni kliničnih zapisov, ki jih je težje relevantno preverjati kakor pa vrednotiti klinično sliko v prospektivno zasnovani klinični študiji, kot je bila npr. prej navedena študija DPP.

4.2 Vpliv genetske raznolikosti na nekatere farmakokinetične lastnosti metformina

4.2.1 Gen *SLC22A1*

V večini študij na celičnih in mišjih modelih so potrdili, da ima prisotnost nekaterih polimorfnihih različic v genu *SLC22A1* (gen za prenašalec OCT1) za posledico izražanje proteina s spremenjeno aktivnostjo,¹⁰ npr. v primeru manj pogostega alela 181T polimor-

fizma rs12208357 (c.181C > T, p.61Arg > Cys, MAF; T = 0,0265/58) je izražanje prenašalca OCT1 zmanjšano.²⁴ V raziskavi na 103 zdravih prostovoljcih so ugotovili, da genetske različice 181T, 1201A, 1393A ter 1256delATG v genu *SLC22A1*, ki vodijo do zmanjšanja funkcije prenašalca OCT1, zvečajo ledvični očistek metformina.²⁵ Skladno s tem so v kliničnih študijah na zdravih posameznikih ugotovili, da imajo nosilci alelov 181T, 1201A, 1393A, 1256delATG zmanjšano toleranco za glukozo,¹⁰ česar pa v študijah na bolnikih, zdravljenih z metforminom, doslej niso uspeli potrditi.^{10,26} Vzrok za take rezultate so morda vplivi okolja, razlike v starosti in spolu v raziskave vključenih bolnikov ter sočasna prisotnost drugih bolezni, kar bi lahko zakrilo vlogo posameznega genetskega dejavnika.²⁷ Glede na rezultate dosedanjih študij na bolnikih s SB2, zdravljenih z metforminom, se vrednosti HbA_{1c} v največji meri znižajo homozigotom C/C polimorfizma rs622342 A > C (MAF; C = 0,272/596) v genu *SLC22A1*.²⁸ Tudi pri mladih ženskah s PCOS genotip *SLC22A1* verjetno pomembno določa odziv na zdravljenje z metforminom, zlasti lipidni in inzulinski profil pri takih bolnicah.²⁹

V prvi študiji, pri kateri so poskušali najti povezavo med genetskimi polimorfizmi v prenašalcih OCT1, OCT2 in MATE1 ter pojavom neželenih učinkov pri zdravljenju z metforminom, je bilo vključenih 246 bolnikov s SB2 iz Latvije. Ugotovili so, da lahko dva od sedmih analiziranih polimorfizmov vplivata na pojav motenj v prebavni cevi pri zdravljenju z metforminom; oba polimorfizma, rs628031 (c.1222A > G, p.408Met > Val, MAF; A = 0,302/660) in rs36056065 (g.160560908delGinsGTAAGTTG), se nahajata v genu *SLC22A1*.³⁰

4.2.2 Gen *SLC22A2*

V genu *SLC22A2* (gen za prenašalec OCT2) so doslej odkrili 13 polimorfizmov oz. mutacij, ki imajo za posledico spremembo v aminokislinskem zaporedju proteina OCT2, vendar se jih večina v populaciji pojavlja s pogostostjo < 1 %, zato njihov vpliv na raznolikost odziva na zdravljenje z metforminom verjetno ni ključen.¹⁰ Po pogostosti najbolj izstopa polimorfizem rs316019 (c.808G > T,

p.270Ala > Ser, MAF; A = 0,123/268). Rezultati dveh kliničnih študij na zdravih prostovoljcih so pokazali značilno zmanjšanje očistka metformina pri homozigotih T/T.^{31,32} V nedavni študiji na kitajski populaciji so ugotovili večjo pogostost hiperlaktemije pri bolnikih s SB2 s homozigotnim genotipom T/T.³³ V nasprotju z rezultati prejšnjih študij so v ameriški raziskavi odkrili, da so imele celice HEK-293 z genotipom T/T večjo zmogljivost prenosa metformina v primerjavi s kontrolno skupino celic, kar so delno potrdili tudi v študiji na zdravih prostovoljcih kavkazijskega in afroameriškega porekla; posamezniki s heterozigotnim genotipom G/T so imeli večji očistek metformina v primerjavi s posamezniki z genotipom G/G.³⁴ Nasprotujoče si rezultate študij lahko razložimo z dejstvom, da na ledvični očistek metformina poleg prenašalca OCT2 pomembno vplivajo tudi drugi dejavniki, med njimi aktivnost prenašalcev MATE1 in MATE2. Na celičnih modelih je potekala še ena študija vpliva genetskih polimorfizmov na ledvični očistek metformina. Poleg polimorfizma rs316019 so odkrili še dva druga polimorfizma, in sicer c.596C > T (T199I) in rs145450955 (c.602C > T, p.201Thr > Met), pri katerih sta bili različici 596T oz. 602T povezani z manjšo sposobnostjo za prenos metformina v primerjavi z divjim tipom (596C oz. 602C).³⁵ Slednja študija je bila narejena *in vitro* na človeških oocitih. Različici 596C oz. 602C se v splošni populaciji pojavljata s frekvenco manj kot 1 % in le v azijski populaciji, zato je njun klinični vpliv verjetno zanemarljiv.¹⁰

4.2.3 Gen *SLC22A3*

V študijah na celičnih modelih CHO-K1 so ugotovili, da imajo manj pogosti aleli polimorfizmov rs2292334 (MAF; A = 0,343/751), rs2048327 (MAF; C = 0,322/705), rs1810126 (MAF; T = 0,328/717) in rs3088442 (MAF; A = 0,321/703) v genu *SLC22A3* (gen za protein OCT3) za posledico zmanjšano raven izražanja tega prenašalca.²⁴ V študiji *in vitro* na celicah HEK293 so glede na dobljene rezultate predpostavili, da polimorfne različice rs8187725 (c.1267G > T, p.423Val > Phe; MAF-ni podatka) in rs8187715 (c.131C > T, p.Thr44Met; MAF-ni podatka) v genu *SLC22A3* verjetno pomembno vplivajo na odziv na zdravljenje z metforminom. Pri različici 1267G je bil privzem metformina v celice značilno zmanjšan, v primeru genetske različice c.131T pa zvečan za več kot 60 % v primerjavi s celicami s prisotnim alelom divjega tipa.¹¹ Zmanjšan privzem metformina v celice HEK293 napoveduje zmanjšano absorpcijo in zato biološko uporabnost metformina ter zmanjšan privzem metformina v jetra. Oboje bi lahko imelo za posledico zmanjšan odziv na zdravljenje z metforminom. Študija nakazuje vpliv prenašalca OCT3 na terapevtski odziv bolnikov s SB2 oz. s PCOS na metformin, vendar bodo za potrditev tega rezultata potrebne klinične študije na zdravih prostovoljcih in nato še na bolnikih s SB2 oz. s PCOS.

4.2.4 Gen *SLC47A1*

Dva nesinonimna polimorfizma v genu *SLC47A1*, ki nosi zapis za protein MATE1, in sicer rs35646404 (c.404T > C, p.159Thr > Met, MAF-ni podatka) ter rs35790011 (c.1012G > A, p.338Val > Ala, MAF; A = 0,021/45), *in vitro* (celice HeLa) značilno vplivata na prenašalno aktivnost MATE1.³⁶ Pri različicah 404C in 1012A je prenašalna aktivnost MATE1 značilno zmanjšana v primerjavi z divjim tipom (404T oz. 1012G). Podobno različica -66C (rs2252281, g.-66T > C, MAF; C = 0,325/711) v promotorju gena *SLC47A1* značilno spremeni izražanje mRNA za MATE1.³⁷ Vpliv teh polimorfizmov na farmakokinetiko metformina še niso proučili niti pri zdravih posameznikih niti pri bolnikih.

4.2.4 Gen *SLC47A1*

V nedavni študiji na 116 bolnikih s SB2 kavkazijskega porekla iz okolice Rotterdama, starih nad 55 let, so ugotovili, da imajo nosilci alela A polimorfizma rs2289669 G > A v intronu gena *SLC47A1* kot odziv na zdravljenje z metforminom značilno manjše vrednosti HbA1c v primerjavi z nosilci alela G; vzrok je verjetno v različni aktivnosti prenašalca MATE1 v primeru različnih genotipov.³⁸ Leto kasneje so v študiji na 98 bolnikih s SB2 kavkazijskega porekla iz okolice Rotterdama, starih nad 55 let in zdravljenih z metforminom, potrdili vpliv polimorfizma rs2289669 G > A (MAF; A = 0,347/760) v genu *SLC47A1* na vrednosti HbA1c; po zdra-

vljenju z metforminom se vrednosti HbA_{1c} v največji meri znižajo homozigotom A/A polimorfizma rs2289669.²⁸

5. Sklep

Čeprav se je metformin izkazal kot učinkovito in varno zdravilo za zdravljenje SB₂ in se uporablja tudi za zdravljenje PCOS, se približno tretjina bolnikov na zdravljenje z metforminom ne odzove ustrezno. Za optimalno prilagoditev zdravljenja posamezniku je že na samem začetku smiselno odkriti vzroke za razlike v odzivu na metformin. Pri tem je potrebno ovrednotiti vplive iz okolja (prehrana, gibanje, stres), starost in spol, odločilne klinične in biokemijske parametre ter genetske dejavnike. Medtem ko se na celičnih modelih sorazmerno enostavno dokaže vpliv posameznih polimorfizmov v genih za proteine, ki se vključujejo v farmakokinetiko in farmakodinamiko metformina, je enak vpliv na živalskih modelih in še bolj v kliničnih študijah težko opredeliti zaradi vpliva dejavnikov iz okolja, zaradi kompleksnosti organizma kot celote ter zaradi številnih drugih dejavnikov. To nakazuje tudi pregled rezultatov dosedanjih farmakogenetskih študij metformina, pripravljen v tem članku. Dosedanje raziskave so večinoma zasnovane kot asociacijske študije vpliva posameznih genetskih različic na farmakološki odziv na zdravljenje z metforminom. Da bi lahko na osnovi genetskega profila posameznika dejansko predvideli njegov odziv na zdravljenje z metforminom, bi bila optimalna analiza posameznikovih polimorfničnih različic v smislu asociacijske študije celotnega genoma–GWAS (*angl.* Genome Wide Association Study). Pot do osebnega pristopa k zdravljenju SB₂ in PCOS na osnovi posameznikove genetske predispozicije je možna in smiselna, a nas do pomembnih rezultatov ter do uvedbe tega pristopa v klinično prakso čaka še veliko izzivov.

Literatura

1. Ferk P. Farmakogenomika selektivnih zaviralcev privzema serotonina. *Farm Vestn* 2010; 61: 289–94.
2. Distefano JK, Watanabe RM. Pharmacogenetics of anti-diabetes drugs. *Pharmaceuticals* 2010; 3: 2610–46.
3. Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M, Andoljšek D et al. *Interna medicina*. 4 ed. Ljubljana: Littera Picta; 2011. p. 769–811.
4. Baza podatkov o zdravilih. Povzetek glavnih značilnosti zdravila (metformin). Dosegljivo 25. 2. 2013 na: <http://www.zdravila.net>.
5. Badawy A, Elnashar A. Treatment options for polycystic ovary syndrome. *Int J Womens Health* 2011; 3: 25–35.
6. Foretz M, Hébrard S, Leclerc J, Zarrinpashneh E, Soty M, Mithieux G, et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest* 2010; 120: 2355–69.
7. Xie Z, Dong Y, Scholz R, Neumann D, Zou MH. Phosphorylation of LKB1 at serine 428 by protein kinase C- ζ is required for metformin-enhanced activation of the AMP-activated protein kinase in endothelial cells. *Circulation* 2008; 117: 952–62.
8. Zhou K, Bellenguez C, Spencer CC, Bennett AJ, Coleman RL, Tavendale R, et al. GoDARTS and UKPDS Diabetes Pharmacogenetics Study Group; Wellcome Trust Case Control Consortium 2. Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. *Nat Genet* 2011; 43: 117–20.
9. Benoit V, Guigas B, Garcia NS, Leclerc J, Foretz M, Fabrizio Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci* 2012; 122: 253–70.
10. Zolk O. Disposition of metformin: Variability due to polymorphisms of organic cation transporters. *Ann Med* 2011; 44: 119–29.
11. Chen L, Pawlikowski B, Schlessinger A, More SS, Stryke D, Johns SJ, et al. Role of organic transporter 3 (SLC22A3) and its missense variants in the pharmacologic action of metformin. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20: 687–99.
12. Masuda S, Terada T, Yonezawa A, Tanihara Y, Kishimoto K, Katsura T, et al. Identification and functional characterization of a new human kidney-specific H⁺/organic cation antiporter, kidney-specific multidrug and toxin extrusion 2. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2127–35.
13. Slovenske smernice za klinično obravnavo sladkorne bolezni tipa 2 pri odraslih osebah. Ljubljana: Diabetološko združenje Slovenije. Dosegljivo na <http://www.endodiab.si/dotAsset/7154.pdf>.
14. Jensterle M, Janež A, Kocjan T, Pfeifer M. Sindrom policističnih ovarijev–metabolični vidik. *Zdrav Vestn* 2007; 76: 109–16.
15. Bargiota A, Diamanti-Kandarakis E. The effects of old, new and emerging medicines on metabolic aberrations in PCOS. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2012; 3: 27–47.
16. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18: 774–800.

17. Palomba S, Falbo A, Russo T, Orio F, Tolino A, Zullo F. Systemic and local effects of metformin administration in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): relationship to the ovulatory response. *Hum Reprod* 2010; 25: 1005–13.
18. Košir-Pogačnik R, Meden-Vrtovec H. Vloga metformina pri obravnavi bolnic s sindromom polističnih jajčnikov. *Zdrav Vestn* 2009; 78: 137–41.
19. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2012.
20. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 792–800.
21. López-Bermejo A, Díaz M, Morán E, de Zegher F, Ibáñez L. A single nucleotide polymorphism in STK11 influences insulin sensitivity and metformin efficacy in hyperinsulinemic girls with androgen excess. *Diabetes Care* 2010; 33: 1544–8.
22. Florez JC, Jablonski KA, Taylor A, Mather K, Horton E, White NH, et al. The C Allele of ATM rs11212617 Does Not Associate With Metformin Response in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care* 2012; 35: 1864–7.
23. van Leeuwen N, Nijpels G, Becker ML, Deshmukh H, Zhou K, Stricker BHC, et al. A gene variant near ATM is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: a replication and meta-analysis of five cohorts. *Diabetologia* 2012; 55: 1971–7.
24. Nies AT, Koepsell H, Winter S, Burk O, Klein K, Kerb R, et al. Expression of organic cation transporters OCT1 (SLC22A1) and OCT3 (SLC22A3) is affected by genetic factors and cholestasis in human liver. *Hepatology* 2009; 50: 1227–40.
25. Tzvetkov MV, Vormfelde SV, Balen D, Meineke I, Schmidt T, Sehnert D, et al. The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters OCT1, OCT2, and OCT3 on the renal clearance of metformin. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86: 299–306.
26. Zhou K, Donnelly LA, Kimber CH, Donnan PT, Doney AS, Leese G, et al. Reduced-function SLC22A1 polymorphisms encoding organic cation transporter 1 and glycemic response to metformin: a GoDARTS study. *Diabetes* 2009; 58: 1434–9.
27. Takane H, Shikata E, Otsubo K, Higuchi S, Ieiri I. Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 415–22.
28. Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Interaction between polymorphisms in the OCT1 and MATE1 transporter and metformin response. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20: 38–44.
29. Gambineri A, Tomassoni F, Gasparini DI, Di Rocco A, Mantovani V, Pagotto U, et al. Organic cation transporter 1 polymorphisms predict the metabolic response to metformin in women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 204–8.
30. Tarasova L, Kalnina I, Geldnere K, Bumbure A, Ritenberga R, Nikitina-Zake L, et al. Association of genetic variation in the organic cation transporters OCT1, OCT2 and multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein genes with the gastrointestinal side effects and lower BMI in metformin-treated type 2 diabetes patients. *Pharmacogenet Genomics* 2012; 22: 659–66.
31. Song IS, Shin HJ, Shim EJ, Jung IS, Kim WY, Shon JH, et al. Genetic variants of the organic cation transporter 2 influence the disposition of metformin. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 84: 559–62.
32. Wang ZJ, Yin OQ, Tomlinson B, Chow MS. OCT2 polymorphisms and in-vivo renal functional consequence: studies with metformin and cimetidine. *Pharmacogenet Genomics* 2008; 18: 637–45.
33. Li Q, Liu F, Zheng TS, Tang JL, Lu HJ, Jia WP. SLC22A2 gene 808 G/T variant is related to plasma lactate concentration in Chinese type 2 diabetics treated with metformin. *Acta Pharmacol Sin* 2010; 31: 184–90.
34. Chen Y, Li S, Brown C, Cheatham S, Castro RA, Leabman MK, et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 2 on the renal elimination of metformin. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 497–504.
35. Song IS, Shin HJ, Shin JG. Genetic variants of organic cation transporter 2 (OCT2) significantly reduce metformin uptake in oocytes. *Xenobiotica* 2008; 38: 1252–62.
36. Meyer zu Schwabedissen HE, Verstuyft C, Kroemer HK, Becquemont L, Kim RB. Human multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter: functional characterization, interaction with OCT2 (SLC22A2), and single nucleotide polymorphisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298: 997–1005.
37. Ha Choi J, Wah Yee S, Kim MJ, Nguyen L, Ho Lee J, Kang JO, et al. Identification and characterization of novel polymorphisms in the basal promoter of the human transporter, MATE1. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 770–80.
38. Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Genetic variation in the multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein influences the glucose-lowering effect of metformin in patients with diabetes: a preliminary study. *Diabetes* 2009; 58: 745–9.