

METFORMINA E DIABETES MELITO TIPO 2: PASSADO, PRESENTE E FARMACOGÉTICA

METFORMIN AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS: PAST, PRESENT AND PHARMACOGENETICS

Diego Luiz Rovaris¹, Ramona Grohe², Bruna Santos³, Magda Susana Perassolo³,
Fabiana Michelsen de Andrade²

RESUMO

O diabetes melito tipo 2 (DM2) é uma desordem heterogênea caracterizada por resistência à insulina e diminuição progressiva de sua secreção, o que resulta em hiperglicemia. Inevitavelmente, pacientes com DM2 necessitam controlar seus níveis glicêmicos com mudanças no estilo de vida e terapia farmacológica. Entre os fármacos mais prescritos para o tratamento do DM2, encontra-se a metformina, um anti-hiperglicemiante oral pertencente à classe das biguanidas. A resposta terapêutica a este fármaco apresenta uma considerável variação interindividual e depende da atuação de produtos protéicos de vários genes. Por este motivo, a farmacogenética tem emergido como uma ciência capaz de explicar porque há tanta variabilidade na resposta farmacológica, como aquela relacionada à terapia com metformina. Alguns genes candidatos a predizerem a resposta a esse fármaco já tiveram variantes avaliadas. Entre eles, os genes *SLC22A1*, *SLC22A2* e *SLC47A1*, que codificam os transportadores de cátions orgânicos responsáveis pela entrada e saída da metformina no fígado e rins. Além destes, outros genes, como os que codificam as subunidades da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) tem emergido com importantes candidatos a predizerem a resposta à metformina. De qualquer forma, a farmacogenética desta droga está dando seus primeiros passos e serão necessários mais estudos, em diferentes populações, para elucidar outros fatores genéticos que estão envolvidos na sua resposta. Além disso, modelos poligênicos capazes de avaliar a eficácia da metformina em pacientes individuais devem ser criados.

Palavras-chave: Diabetes melito tipo 2; metformina, genes; farmacogenética

ABSTRACT

Diabetes mellitus type 2 (DM2) is a heterogeneous disorder characterized by insulin resistance and progressive decrease in secretion, resulting in hyperglycemia. Inevitably, patients with type 2 diabetes need to control their glucose levels with changes in lifestyle and pharmacologic therapy. Among the most prescribed drugs for the treatment of type 2 diabetes, is metformin, an oral anti-hyperglycaemic that belongs to biguanide class. Therapeutic response to this drug has considerable interindividual variation and depends on the activity of protein products of several genes. For this reason, pharmacogenetics has emerged as a science able to explain why there is so much variability in pharmacologic response, as that related to metformin therapy. Some candidate genes to predict the response to this drug had variants evaluated already. Among them, the genes *SLC22A1*, *SLC22A2* and *SLC47A1*, which encode the organic cation transporters responsible for the entry and exit of metformin in the liver and kidneys. In addition, other genes, such as those that encode the subunits of protein kinase activated by adenosine monophosphate (AMPK) have emerged as important candidates to predict the response to metformin. Anyway, the pharmacogenetics of this drug is in its firsts studies and will require further investigation in different populations, to elucidate other genetic factors involved in the response. In addition, polygenic models capable of evaluating the effectiveness of metformin in individual patients should be created.

Keywords: *Diabetes mellitus* type 2; metformin, genes; pharmacogenetics

Rev HCPA 2010;30(4):382-390

Agentes anti-hiperglicemiantes diferem daqueles denominados hipoglicemiantes por apresentarem pouco efeito sobre os níveis glicêmicos de pacientes com glicemia normal. Dentre estes medicamentos, encontra-se a metformina, que é um anti-hiperglicemiante oral amplamente utilizado no tratamento do *diabetes melito* tipo 2 (DM2) e está entre os 15 medicamentos mais vendidos nos EUA (1). Esse fármaco pertence à classe das biguanidas e foi introduzido no tratamento do DM2 no final da década de 50 na Europa e na metade da década de 90 nos EUA. Embora o algoritmo mais recente proposto pela *American Diabetes Association* (ADA) e pela

European Association for the Study of Diabetes (EASD) coloque a metformina como fármaco de primeira escolha para o tratamento do DM2 (2), existe uma considerável variabilidade interindividual na resposta glicêmica a essa droga (1,3). Isso pode ser atribuído, em parte, à herança genética, a qual tem um papel crucial na resposta farmacológica. Dessa forma, a farmacogenética, cujo objetivo central é explicar a resposta a um medicamento a partir do perfil genético, tem emergido como uma ciência promissora.

Assim, os objetivos desse artigo são fazer uma síntese dos mecanismos de absorção, distribuição, excreção e ação da metformina, suma-

1 Universidade Feevale.

2 Curso de Biomedicina, Universidade Feevale.

3 Curso de Farmácia, Universidade Feevale.

Contato: Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação. E-mail: fabiana.andrade@feevale.br (Novo Hamburgo, RS, Brasil).

rizar dados da literatura referentes à farmacogenética dessa droga e propor perspectivas para o estudo nesse campo.

METFORMINA E SEUS TRANSPORTADORES

A metformina não sofre metabolização e é excretada inalterada pelos rins (1,4). A absorção é incompleta, pois aproximadamente 30% da dose oral é eliminada diretamente nas fezes (5). No epitélio intestinal, a metformina é absorvida na borda em escova e é um importante substrato da proteína PMAT (*plasma membrane monoamine transporter*) (figura 1) (6-7). Os transportadores de cátions orgânicos OCT1 e OCT2 estão envolvidos com a entrada da metformina no fígado e rins, respectivamente (6). Em humanos, a proteína OCT1 é expressa, principalmente, na membrana basolateral dos hepatócitos enquanto a OCT2, na membrana basolateral dos túbulos renais proximais (8-11).

As proteínas MATE1 e MATE2-K (*human multidrug and toxin extrusion – K = kidney*) estão envolvidas com a excreção de metformina dos hepatócitos e túbulos renais (12). A primeira é amplamente expressa no fígado (canalículos biliares), rins (borda em escova) e músculo esquelético (13). Já a segunda é predominantemente expressa na membrana da borda em escova dos túbulos renais proximais (14). A proteína PMAT, também expressa na membrana apical do epitélio renal, pode estar envolvida na reabsorção da metformina (15).

MECANISMO DE AÇÃO MOLECULAR DA METFORMINA

O principal efeito anti-hiperglicemiante da metformina consiste na redução da gliconeogênese hepática (16-17). Além disso, ela diminui a absorção gastrointestinal de glicose, aumenta a sensibilidade à insulina nos tecidos muscular e adiposo, e melhora indiretamente a resposta da célula β à glicose por reduzir a glicotoxicidade e os níveis de ácidos graxos livres (18). Nos tecidos periféricos, a metformina facilita o transporte de glicose por aumentar a atividade da tirosina quinase nos receptores de insulina (19) e a translocação de transportadores de glicose para a membrana celular (20-21). Em adição, um efeito protetor nas células β tem sido demonstrado em ensaios *in vitro* (22).

Em nível molecular, a metformina gera muitos dos seus efeitos a partir da ativação (exceto no hipotálamo) da *proteína quinase ativada por adenosina monofosfato* (AMPK) (23-28) (figura 1). A AMPK tem uma importante função na regulação do metabolismo e controla tanto o gasto de energia, como o apetite (29). O mecanismo pelo qual a metformina ativa essa enzima não é totalmente conhecido; entretanto, foi demonstrado que as biguanidas ativam a AMPK indire-

tamente via inibição do complexo I da cadeia respiratória, o que resulta em um aumento da relação AMP/ATP (30). De qualquer forma, isso é controverso, já que alguns experimentos *in vitro* não encontraram grandes mudanças nas concentrações desses nucleotídeos (26-27). Além disso, Zou et al. (25) propuseram um caminho diferente, no qual a AMPK é ativada via aumento de espécies reativas ao nitrogênio (RNS). A serina-treonina quinase (LKB1), uma enzima que tem sua atividade aumentada pela metformina, também é requerida na ativação da AMPK (31) e sua atividade parece ser modulada por RNS (25).

No fígado, a ativação da AMPK inibe a transcrição das enzimas fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) e glicose-6-fosfatase (G6Pase), consequentemente reduzindo a gliconeogênese (32-33). Ensaios *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a fosforilação da AMPK provocada pela metformina é modulada pela atividade do OCT1, sugerindo que esse transportador tem uma função chave na cascata de eventos que resulta na diminuição da gliconeogênese hepática (34).

Em adição, a AMPK também é responsável pela melhora do metabolismo lipídico durante o tratamento com metformina. A ativação dessa enzima inibe a acetil-CoA carboxilase (ACC) e a 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzimas chaves na síntese de triglicerídeos e colesterol, respectivamente (28,35-36). Além disto, a ativação da AMPK no fígado também suprime a expressão dos genes *SREBP-1* e *SREBP-1c*, os quais são implicados na patogênese da resistência à insulina, dislipidemia e DM2 (28).

No músculo, a ativação da AMPK pela metformina promove a utilização de glicose (28). O aumento da atividade da AMPK é associado com maior translocação do transportador GLUT4 para a membrana plasmática, e aumento da atividade da hexoquinase e conteúdo de glicogênio nas células musculares. Além disso, ocorre diminuição da síntese e aumento da oxidação de ácidos graxos (29).

No hipotálamo, a metformina tem efeitos anoréticos, já que neste local inibe a fosforilação da AMPK, consequentemente, diminuindo a expressão do NPY (neuropeptídio-Y) (37) e AgRP (*agouti-related protein*) (38).

Embora a metformina atue em vários tecidos, há uma variabilidade muito grande na resposta glicêmica a essa droga. Hermann et al. (3) mostraram que 38% dos pacientes que utilizam metformina falham em alcançar os níveis de glicose de jejum desejáveis, além disso, efeitos adversos reversíveis como diarreia e náusea são frequentes.

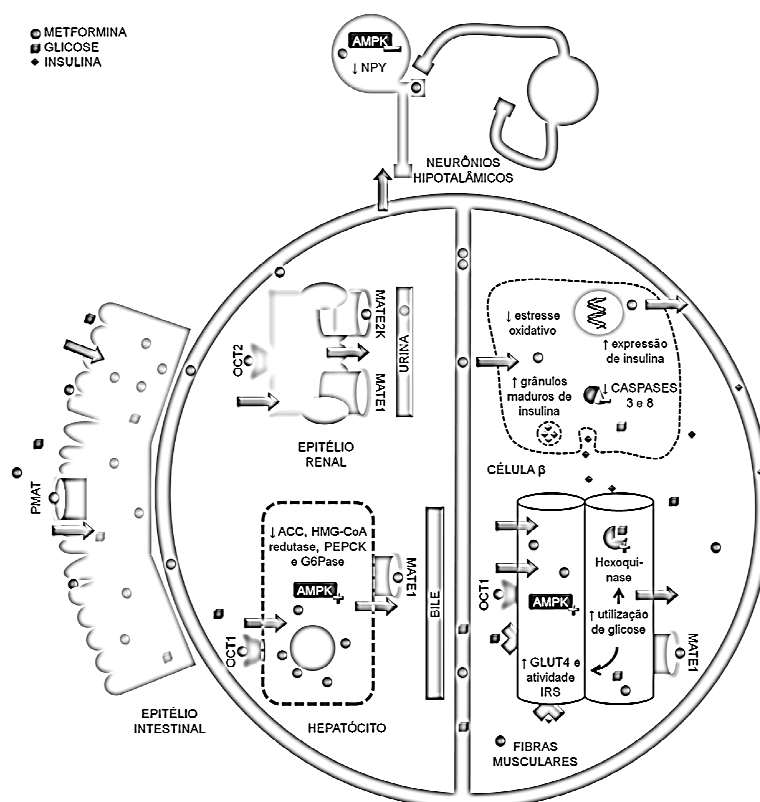


Figura 1 - Representação esquemática do mecanismo de ação da metformina em diferentes sítios ilustrando as funções dos transportadores de cátions orgânicos e da enzima AMPK. A metformina é absorvida na borda em escova do epitélio intestinal, onde é um importante substrato da proteína PMAT. Após entrar na circulação sanguínea, a metformina atravessa as membranas celulares dos diferentes tecidos (via transportadores de cátions orgânicos) e modula a atividade da AMPK (fígado, músculo e sistema nervoso central). Adicionalmente, Marchetti et al. (22) demonstraram que, na célula β, a metformina diminui o estresse oxidativo e atividades das caspases 3 e 8, consequentemente diminuindo a apoptose, além de aumentar a formação de grânulos maduros de insulina. A excreção de metformina na urina e bile envolve, principalmente, as proteínas MATE1 e MATE2-K.

FARMACOGENÉTICA: DE ONDE VEM E PARA ONDE VAI?

Garrod (39) no início do século XX foi pioneiro ao propor que medicamentos sofrem biotransformação da mesma maneira que substratos endógenos e que defeitos nestas rotas poderiam alterar sua concentração e ação. Entretanto, somente em 1957 foi documentado pela primeira vez o conceito de que defeitos herdados no metabolismo de fármacos podiam explicar as diferenças individuais na resposta farmacológica (40). Dois anos depois, Friedrich Vogel cunhou o termo 'farmacogenética'.

A partir da década de 90, com o desenvolvimento do Projeto Genoma Humano, maiores subsídios começaram a ser fornecidos para o estabelecimento desta nova área. Hoje, 23 milhões de *Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs) são estimados no nosso genoma [dbSNP Build 131 (acesso em agosto de 2010): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_summary.cgi>], além de milhares de inserções, deleções, e VNTRs (*variable number of tandem repeat polymorphisms*) (41). A ideia de que muitos desses podem estar envolvidos com a res-

posta a medicamentos tem resultado em várias associações entre polimorfismos em genes que codificam enzimas metabolizadoras, proteínas transportadoras, ou receptores com diferenças na resposta a muitos fármacos (42-44).

De um modo geral, a farmacogenética representa o estudo da resposta farmacológica do indivíduo segundo o genótipo, tanto no que diz respeito à eficácia como a efeitos adversos (45). Essa abordagem envolve a análise de genes individuais denominados 'candidatos' (46-47), os quais são selecionados para estudo a partir do conhecimento prévio de alvos ou caminhos metabólicos do fármaco utilizado (48). Como o efeito de um medicamento é determinado pela ação de vários genes, a farmacogenética ultimamente tem se empenhado em desenvolver modelos poligênicos capazes de prever a resposta farmacológica e toxicidade em pacientes individuais (49). No futuro, a farmacogenética, aliada às ferramentas de biologia molecular, bioinformática e bioestatística, poderá mudar de forma significativa a conduta terapêutica para várias doenças. O tratamento do DM2 com metformina é um bom exemplo de aplicação clínica para essa área.

FARMACOGENÉTICA DA METFORMINA

A resposta terapêutica à metformina é determinada pela atuação de produtos proteicos de vários genes e, devido a isso, a farmacogenética dessa droga ainda está dando os primeiros passos. Cabe ressaltar que o número de trabalhos que avaliaram o papel de genes candidatos sobre a eficácia terapêutica da metformina é pequeno na literatura mundial e que não há, até o momento, resultados publicados de investigações que avaliaram populações do continente latino-americano. A seguir, alguns exemplos de genes que tiveram SNPs avaliados. Os dados estão resumidos na tabela 1.

O gene *SLC22A1* (codificante da proteína OCT1)

O gene *SLC22A1* (geneID: 6580) está localizado no cromossomo 6q26 e codifica a proteína OCT1, a qual tem 544 aminoácidos (acesso no GenBank: NM_003057.2; NP_003048.1). Em humanos, o transportador OCT1 é expresso primariamente no fígado, onde é responsável pela entrada de cátions orgânicos no hepatócito (1). Shikata et al. (50) avaliaram variações no gene *SLC22A1* em 24 respondedores e 9 não respondedores ao tratamento crônico com metformina. Nenhuma diferença notável nas frequências das variações genéticas foi observada entre os dois grupos. Já Shu et al. (34) mostraram que as trocas de aminoácidos R61C, G401S e G465R e a variação M420del são associadas com significativa diminuição na resposta à metformina em indivíduos saudáveis submetidos a um teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Essas variantes também influenciam na concentração plasmática de metformina (51).

Becker et al. (4) avaliaram o efeito de 11 SNPs nesse gene sobre a resposta à metformina em holandeses diabéticos, entretanto, somente para o polimorfismo rs622342 (a/c) foram encontradas diferenças entre os genótipos. Uma interação entre esse SNP e a variante rs2289669 do gene *SLC47A2*, o qual codifica a proteína MATE1 também já foi observada (52). Tzvetkov et al. (53) avaliaram a influência de SNPs nesse gene em 103 indivíduos sem diabetes. As variantes M420del, R61C, G401S e G465R foram significativamente associadas com diferenças na depuração renal de metformina após uma análise do efeito combinado dos alelos de risco. Já Zhou et al. (54) recentemente mostraram que as variantes R61C e M420del não afetam a redução da HbA1c, a chance de alcançar o alvo de tratamento (HbA1c <7%) ou o risco de falha da monoterapia com metformina.

O gene *SLC22A2* (codificante da proteína OCT2)

O gene *SLC22A2* (geneID: 6582) está localizado no cromossomo 6q26 e codifica o transportador OCT2 (NM_003058.3; NP_003049.2). O OCT2 é uma proteína integral de membrana, encontrada primariamente nos rins, e está envolvida na excreção de cátions orgânicos, como a metformina (12). Shikata et al. (50) avaliaram variações no gene *SLC22A2* entre respondedores e não respondedores ao tratamento crônico com metformina. Nenhuma diferença significativa nas frequências das variações genéticas entre os dois grupos foi detectada. Tzvetkov et al. (53) também avaliaram a influência de SNPs nesse gene em indivíduos não diabéticos. Nenhuma diferença significativa na depuração renal de metformina foi detectada entre os genótipos para os 14 polimorfismos avaliados. Por outro lado, Wang et al. (55) mostraram que o SNP A270S, além de influenciar o *clearance* de metformina, interage com a cimetidina, um fármaco que altera a excreção de metformina, pois também é substrato do OCT2 (11).

O gene *SLC47A1* (codificante da proteína MATE1)

O gene *SLC47A1* (geneID:55244) está localizado no cromossomo 17p11.2 e codifica a proteína MATE1, a qual possui 570 aminoácidos (NM_018242.2; NP_060712.2). Essa proteína está localizada na membrana biliar dos hepatócitos e na borda em escova do epitélio renal e está envolvida na etapa final da excreção de metformina na bile e urina (14). Becker et al. (52) encontraram uma associação entre o polimorfismo rs2289669 (g/a) e o efeito anti-hiperglicemiante da metformina somente quando avaliaram a interação com o polimorfismo rs622342 (a/c) do gene *SLC22A1*. Já Tzvetkov et al. (53) não detectaram diferenças significativas na depuração renal de metformina entre os genótipos desses polimorfismos.

O gene *TCF7L2* (codificante da proteína TCF4)

O gene *TCF7L2* (geneID: 6934) está localizado no cromossomo 10q25.3 e consiste de 14 exons e 13 introns, o qual codifica uma proteína com 602 aminoácidos (NM_001146274.1; NP_001139746.1). O produto desse gene é um fator de transcrição que tem uma função chave na via de sinalização Wnt (Wingless-type), e está envolvido na patogênese do DM2 (56). Pearson et al. (57) avaliaram os efeitos dos polimorfismos rs1255372 e rs7903146 no tratamento com metformina. Nenhuma diferença significativa entre genótipos foi encontrada.

O gene *ABCC8*
(codificante da proteína SUR1)

O gene *ABCC8* (geneID: 6833) está localizado no cromossomo 11p15.1 e codifica uma proteína com 1.581 aminoácidos (NM_000352.3, NP_000343.2). O *ABCC8* tem 39 exons espalhados por 100kb de DNA genômico e o seu produto protéico, a subunidade SUR1 dos canais de K⁺ ATP-sensíveis (K_{ATP}), é essencial para o processo de secreção de insulina. A proteína SUR1 é um membro da superfamília ABC (*ATP-binding cassette*) e da subfamília MRP (*multidrug resistance-associated protein subfamily*) e polimorfismos no seu gene têm sido associados com DM2 (58-60). Em relação à metformina, Florez et al. (61) mostraram que indivíduos com tolerância reduzida à glicose portadores do alelo 1369A (variação A1369S) foram menos protegidos contra a progressão para DM2 durante o tratamento de um ano com esse fármaco.

O gene *KCNJ11*
(codificante da proteína Kir6.2)

O gene *KCNJ11* (geneID: 3767) também está localizado no cromossomo 11p15.1 e consiste em um único exon que codifica uma proteína integral de membrana com 390 aminoácidos (NM_000525.3, NP_000516.3), que pertence à família *inwardly rectifying potassium channel*. Essa proteína se encontra associada com o receptor de sulfonilureia 1 (SUR1), formando o poro do canal K_{ATP}. Florez et al. (61) mostraram que indivíduos com tolerância reduzida à glicose portadores do alelo K (variante E23K) estão menos protegidos contra a progressão para DM2 durante o tratamento de um ano com metformina. Esses resultados foram idênticos para os portadores do alelo 1369A no gene *ABCC8* devido ao forte desequilíbrio de ligação entre os dois polimorfismos.

Tabela 1 – Influência de variações em genes candidatos na resposta à metformina.

Gene/Variação	País (amostra)	Associação com presença do alelo variante	Referência
<i>SLC22A1</i>			
screening de todo o gene	Japão (DM)	NS	50
R61C, G401S, M420del e G465R	EUA (ND)	↑ na AUC e glicemia durante um TOTG	34
R61C, G401S, M420del e G465R	EUA (ND)	↑ na AUC e C _{max} , e ↓ V/F de metformina	51
rs622342 a/c	Holanda (DM)	↓ HbA1c	4
420del e R61C	Escócia (DM)	NS	54
M420del, R61C, G401S e G465R	Alemanha (ND)	↑ CL de metformina	53
rs622342 a/c	Holanda (DM)	↓ HbA1c (em combinação com a/a, rs2289669 do gene <i>SLC47A1</i>)	52
<i>SLC22A2</i>			
screening de todo o gene	Japão (DM)	NS	50
A270S	China (ND)	↓ depuração renal ou tubular de metformina	55
14 SNPs com frequência >0,05	Alemanha (ND)	NS	53
<i>SLC47A1</i>			
rs2289669 g/a	Alemanha (ND)	NS	53
	Holanda (DM)	↓ HbA1c (em combinação com a/a, rs622342 do gene <i>SLC22A1</i>)	52
<i>TCF7L2</i>			
IVS4g/t e c53341t	Escócia (DM)	NS	57
<i>ABCC8</i>			
S1369A	EUA (TDG)	↓ efeito protetor contra progressão para DM2	61
<i>KCNJ11</i>			
E23K	EUA (TDG)	↓ efeito protetor da metformina contra progressão para DM2	61

DM2 = Diabetes Mellito tipo 2; ND = voluntários saudáveis; TDG = pacientes com tolerância diminuída à glicose; TOTG = teste oral de tolerância à glicose; NS = influência não significativa; AUC= área sob a curva; C_{max} = concentração plasmática máxima; V/F = volume de distribuição/biodisponibilidade oral.

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os poucos trabalhos publicados referentes à farmacogenética da metformina envolvem um pequeno número de genes e SNPs. Entretanto, quando uma medicação é administrada, ocorre uma série de processos farmacocinéticos e farmacodinâmicos, que envolvem um grande número de genes codificadores de enzimas, proteínas transportadoras ou alvos de fármacos. Recentemente, Jablonski et al. (62) publicaram um estudo de associação por varredura genômica (*Genome-wide Association Study* - GWA) envolvendo a análise de mais de 1500 polimorfismos em 40 genes possivelmente envolvidos com a resposta à metformina. Quase 3000 pacientes com diabetes foram avaliados e alguns resultados já encontrados anteriormente se repetiram, tais como associações com variantes nos genes

SLC22A1 e *SLC47A1*, e dados novos foram obtidos, como a influência de SNPs nos genes *STK11*, *PRKAA1*, *PRKAA2* e *PRKAG2*.

O gene *STK11* (geneID: 6794) codifica a proteína LKB1, um membro da família serina/treonina quinase, que está envolvido na regulação da AMPK (35). Já os genes *PRKAA1*, *PRKAA2* e *PRKAG2* codificam as subunidades $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\gamma 2$, respectivamente, da AMPK (tabela 2). Como mostrado anteriormente, essa enzima é um sensor energético celular que regula muitos pontos-chaves do metabolismo intermediário, e é alvo indireto da metformina. Dessa forma, esses genes são importantes candidatos a predizerem a resposta a esse fármaco. Assim, o estudo de Jablonski et al. (62) abre caminho para que esses dados novos sejam testados e confirmados em diferentes populações.

Tabela 2 – Estrutura da proteína quinase ativada por AMP (AMPK).

	Função	Gene / cromossomo	geneID	RNA _m	Proteína
$\alpha 1$	Subunidade catalítica	<i>PRKAA1</i> / 5p12	5562	006251.5	006242.5
$\alpha 2$	Subunidade catalítica	<i>PRKAA2</i> / 1p31	5563	006252.3	006243.2
$\beta 1$	Subunidade regulatória	<i>PRKAB1</i> / 12q24.1	5564	006253.4	006244.2
$\beta 2$	Subunidade regulatória	<i>PRKAB2</i> / 1q21.1	5565	005399.3	005390.1
$\gamma 1$	Formação do heterotrímero	<i>PRKAG1</i> / 12q12q-14	5571	002733.3	002724.1
$\gamma 2$	Formação do heterotrímero	<i>PRKAG2</i> / 7q36.1	51422	016203.3	057287.2
$\gamma 3$	Formação do heterotrímero	<i>PRKAG3</i> / 2q35	53632	017431.2	059127.2

A farmacogenética, como já salientado, tem se preocupado em determinar modelos poligênicos capazes de prever a resposta a um fármaco. O conhecimento dos efeitos isolados de cada variação genética geralmente não é suficiente para prever a efetividade de uma terapia farmacológica. A partir disso, antes de aplicar essas informações na prática clínica, seria interessante utilizar análises estatísticas mais sofisticadas para definir possíveis interações entre alelos de risco *versus* alelos de referência. Outro fato importante a ser considerado, diz respeito à importância de inserir nesses modelos estatísticos fatores ambientais, como a influência do consumo de álcool, tabagismo, atividade física e concentração plasmática do fármaco, e outros dados metabólicos, tais como índice de massa corpórea, circunferência da cintura, idade, e etc., já que interações gene/ambiente ou com outros fatores fisiológicos podem acontecer. Nosso grupo tem trabalhado neste sentido, e algumas influências conjuntas com o consumo de álcool, atividade física e concentração plasmática de metformina, por exemplo, têm sido detectadas (dados ainda não publicados).

Grande parte dos estudos farmacogenéticos tem utilizado delineamento longitudinal para avaliar a resposta a um determinado medicamento. No entanto, na impossibilidade de realizar um projeto de pesquisa com este tipo de desenho, análises transversais também têm papel importante na pesquisa envolvendo farmacogenética. A caracterização de frequências alélicas de SNPs de interesse entre “respondedores” e “não respondedores” ao tratamento crônico com um determinado fármaco pode ajudar a criar hipóteses passíveis de serem confirmadas em análises longitudinais.

Além disso, a identificação de novas variações a partir de *screening* de éxons, e posterior avaliação de seus efeitos funcionais nas proteínas em estudos *in vitro*, pode gerar ideias sobre como elas interferem na farmacocinética ou farmacodinâmica de um medicamento. Em relação à metformina, alguns resultados com os genes *SLC22A1* e *SLC47A1* já estão disponíveis nos trabalhos de Chen et al. (63-64). Esses pesquisadores identificaram variações nesses genes e, posteriormente, caracterizaram seus efeitos funcionais por estudos envolvendo linhagens celulares geneticamente modificadas. A partir de

ensaios em células HEK-293, eles demonstram que as mutações e polimorfismos não-sinônimos encontrados nesses genes alteram a capacidade das proteínas de transportar metformina.

Muitos avanços têm ocorrido no campo da farmacogenética, como pode ser observado no *The Pharmacogenomics Knowledge Base* (PHARMGKB: <<http://www.pharmgkb.org>>), um grande banco de informações nessa área que cresce a cada dia. De qualquer forma, cada população representa um *pool* gênico distinto, e dificilmente os resultados dos estudos obtidos em uma população podem ser utilizados para a personalização da farmacoterapia em outra. Por isso, mais investigações são necessárias para avaliar melhor o impacto de polimorfismos em genes candidatos na resposta ao tratamento, e especialmente são necessárias investigações na população brasileira para que se possa aplicar este conhecimento na medicina personalizada. A farmacogenética da metformina está dando seus primeiros passos e estudos futuros são necessários para elucidar quais fatores genéticos estão envolvidos com a resposta desse fármaco. Dessa forma, os resultados dos trabalhos publicados até o momento iniciaram a formação de um corpo de evidências que poderá, nos próximos anos, levar à melhora do tratamento de pacientes diabéticos tipo 2.

REFERÊNCIAS

- Zolk O. Current understanding of the pharmacogenomics of metformin. *Clin Pharmacol Ther.* 2009;86:595-8.
- Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32:193-203.
- Hermann LS, Schersten B, Bitzen PO, Kjellstrom T, Lindgarde F, Melander A. Therapeutic comparison of metformin and sulfonylurea, alone and in various combinations. A double-blind controlled study. *Diabetes Care.* 1994;17:1100-9.
- Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Genetic variation in the organic cation transporter 1 is associated with metformin response in patients with diabetes mellitus. *Pharmacogenomics J.* 2009;9:242-7.
- Tucker GT, Casey C, Phillips PJ, Connor H, Ward JD, Woods HF. Metformin kinetics in healthy subjects and in patients with diabetes mellitus. *Br J Clin Pharmacol.* 1981;12:235-46.
- Takane H, Shikata E, Otsubo K, Higuchi S, Ieiri I. Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action. *Pharmacogenomics.* 2008;9:415-22.
- Zhou M, Xia L, Wang J. Metformin transport by a newly cloned proton-stimulated organic cation transporter (plasma membrane monoamine transporter) expressed in human intestine. *Drug Metab Dispos.* 2007;35:1956-62.
- Kimura N, Okuda M, Inui K. Metformin transport by renal basolateral organic cation transporter hOCT2. *Pharm Res.* 2005;22:255-9.
- Kimura N, Masuda S, Tanihara Y, Ueo H, Okuda M, Katsura T, et al. Metformin is a superior substrate for renal organic cation transporter OCT2 rather than hepatic OCT1. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005;20:379-86.
- Dresser MJ, Xiao G, Leabman MK, Gray AT, Giacomini KM. Interactions of n-tetraalkylammonium compounds and biguanides with a human renal organic cation transporter (hOCT2). *Pharm Res.* 2002;19:1244-7.
- Motohashi H, Sakurai Y, Saito H, Masuda S, Urakami Y, Goto M, et al. Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:866-74.
- Tanihara Y, Masuda S, Sato T, Katsura T, Ogawa O, Inui K. Substrate specificity of MATE1 and MATE2-K, human multidrug and toxin extrusions/H(+)-organic cation antiporters. *Biochem Pharmacol.* 2007;74:359-71.
- Otsuka M, Matsumoto T, Morimoto R, Arioka S, Omote H, Moriyama Y. A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:17923-8.
- 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.
- Xia L, Engel K, Zhou M, Wang J. Membrane localization and pH-dependent transport of a newly cloned organic cation transporter (PMAT) in kidney cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292:682-90.
- Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, et al. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2000;49:2063-9.
- Bosi E. Metformin--the gold standard in type 2 diabetes: what does the evidence tell us? *Diabetes Obes Metab.* 2009;11:3-8.
- Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med.* 2002;137:25-33.
- Dominguez LJ, Davidoff AJ, Srinivas PR, Standley PR, Walsh MF, Sowers JR. Effects of metformin on tyrosine kinase activity, glucose transport, and intracellular calcium in rat vascular smooth muscle. *Endocrinology.* 1996;137:113-21.
- Matthaei S, Hamann A, Klein HH, Benecke H, Kreyman G, Flier JS, et al. Association of Metformin's effect to increase insulin-stimulated

- glucose transport with potentiation of insulin-induced translocation of glucose transporters from intracellular pool to plasma membrane in rat adipocytes. *Diabetes*. 1991;40:850-7.
21. Hundal HS, Ramlal T, Reyes R, Leiter LA, Klip A. Cellular mechanism of metformin action involves glucose transporter translocation from an intracellular pool to the plasma membrane in L6 muscle cells. *Endocrinology*. 1992;131:1165-73.
22. Marchetti P, Del Guerra S, Marselli L, Lupi R, Masini M, Pollera M, et al. Pancreatic islets from type 2 diabetic patients have functional defects and increased apoptosis that are ameliorated by metformin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5535-41.
23. Lim CT, Kola B, Korbonits M. AMPK as a mediator of hormonal signalling. *J Mol Endocrinol*. 2010;44:87-97.
24. Zang M, Zuccollo A, Hou X, Nagata D, Walsh K, Herscovitz H, et al. AMP-activated protein kinase is required for the lipid-lowering effect of metformin in insulin-resistant human HepG2 cells. *J Biol Chem*. 2004;279:47898-905.
25. Zou MH, Kirkpatrick SS, Davis BJ, Nelson JS, Wiles WGT, Schlattner U, et al. Activation of the AMP-activated protein kinase by the anti-diabetic drug metformin in vivo. Role of mitochondrial reactive nitrogen species. *J Biol Chem*. 2004;279:43940-51.
26. Fryer LG, Parbu-Patel A, Carling D. The Anti-diabetic drugs rosiglitazone and metformin stimulate AMP-activated protein kinase through distinct signaling pathways. *J Biol Chem*. 2002;277:25226-32.
27. Musi N, Hirshman MF, Nygren J, Svanfeldt M, Bavenholm P, Rooyackers O, et al. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51:2074-81.
28. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*. 2001;108:1167-74.
29. Dзамко NL, Steinberg GR. AMPK-dependent hormonal regulation of whole-body energy metabolism. *Acta Physiol (Oxf)*. 2009;196:115-27.
30. Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J*. 2000;348:607-14.
31. Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo SH, Bardeesy N, Depinho RA, et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science*. 2005;310:1642-6.
32. Cool B, Zinker B, Chiou W, Kifle L, Cao N, Perham M, et al. Identification and characterization of a small molecule AMPK activator that treats key components of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab*. 2006;3:403-16.
33. Lochhead PA, Salt IP, Walker KS, Hardie DG, Sutherland C. 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCK and glucose-6-phosphatase. *Diabetes*. 2000;49:896-903.
34. Shu Y, Sheardown SA, Brown C, Owen RP, Zhang S, Castro RA, et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J Clin Invest*. 2007;117:1422-31.
35. Viollet B, Guigas B, Leclerc J, Hebrard S, Lantier L, Mounier R, et al. AMP-activated protein kinase in the regulation of hepatic energy metabolism: from physiology to therapeutic perspectives. *Acta Physiol (Oxf)*. 2009;196:81-98.
36. Henin N, Vincent MF, Gruber HE, Van den Berghe G. Inhibition of fatty acid and cholesterol synthesis by stimulation of AMP-activated protein kinase. *FASEB J*. 1995;9:541-6.
37. Chau-Van C, Gamba M, Salvi R, Gaillard RC, Pralong FP. Metformin inhibits adenosine 5'-monophosphate-activated kinase activation and prevents increases in neuropeptide Y expression in cultured hypothalamic neurons. *Endocrinology*. 2007;148:507-11.
38. Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim YB, Lee A, Xue B, et al. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*. 2004;428:569-74.
39. Garrod AE. The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality. 1902 [classical article]. *Yale J Biol Med*. 2002;75:221-31.
40. Motulsky AG. Drug reactions enzymes, and biochemical genetics. *J Am Med Assoc*. 1957;165:835-7.
41. Brockmoller J, Tzvetkov MV. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008;64:133-57.
42. Verde Z, Ruiz JR, Santiago C, Valle B, Bandres F, Calvo E, et al. A novel, single algorithm approach to predict acenocoumarol dose based on CYP2C9 and VKORC1 allele variants. *PLoS One*. 2010;5:11210.
43. Manolopoulos VG, Ragia G, Tavidou A. Pharmacogenetics of coumarinic oral anticoagulants. *Pharmacogenomics*. 2010;11:493-6.
44. Johnson JA. Pharmacogenomics of antihypertensive drugs: past, present and future. *Pharmacogenomics*. 2010;11:487-91.
45. Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):529-37.
46. Belle DJ, Singh H. Genetic factors in drug metabolism. *Am Fam Physician*. 2008;77:1553-60.
47. Reitman ML, Schadt EE. Pharmacogenetics of metformin response: a step in the path toward personalized medicine. *J Clin Invest*. 2007;117:1226-9.
48. Davies SM. Pharmacogenetics, pharmacogenomics and personalized medicine: are we

- there yet? Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2006;111-7.
49. Cheok MH, Pottier N, Kager L, Evans WE. Pharmacogenetics in acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol*. 2009;46:39-51.
 50. Shikata E, Yamamoto R, Takane H, Shigemasa C, Ikeda T, Otsubo K, et al. Human organic cation transporter (OCT1 and OCT2) gene polymorphisms and therapeutic effects of metformin. *J Hum Genet*. 2007;52:117-22.
 51. Shu Y, Brown C, Castro RA, Shi RJ, Lin ET, Owen RP, et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1, OCT1, on metformin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther*. 2008;83:273-80.
 52. 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.
 53. Tzvetkov MV, Vormfelde SV, Balen D, Meineke I, Schmidt T, Sehrt 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.
 54. 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.
 55. 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.
 56. Lee SH, Demeterco C, Geron I, Abrahamsson A, Levine F, Itkin-Ansari P. Islet specific Wnt activation in human type II diabetes. *Exp Diabetes Res*. 2008;2008:728763.
 57. Pearson ER, Donnelly LA, Kimber C, Whitley A, Doney AS, McCarthy MI, et al. Variation in TCF7L2 influences therapeutic response to sulfonylureas: a GoDARTs study. *Diabetes*. 2007;56:2178-82.
 58. Meirhaeghe A, Helbecque N, Cotel D, Arveiler D, Ruidavets JB, Haas B, et al. Impact of sulfonylurea receptor 1 genetic variability on non-insulin-dependent diabetes mellitus prevalence and treatment: a population study. *Am J Med Genet*. 2001;101:4-8.
 59. Hansen T, Echwald SM, Hansen L, Moller AM, Almind K, Clausen JO, et al. Decreased tolbutamide-stimulated insulin secretion in healthy subjects with sequence variants in the high-affinity sulfonylurea receptor gene. *Diabetes*. 1998;47:598-605.
 60. Barroso I, Luan J, Middelberg RP, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, et al. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in beta-cell function as well as insulin action. *PLoS Biol*. 2003;1:20.
 61. Florez JC, Jablonski KA, Kahn SE, Franks PW, Dabelea D, Hamman RF, et al. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms KCNJ11 E23K and ABCC8 A1369S influence progression to diabetes and response to interventions in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*. 2007;56:531-6.
 62. Jablonski KA, McAteer JB, de Bakker PI, Franks PW, Pollin TI, Hanson RL, et al. Common variants in 40 genes assessed for diabetes incidence and response to metformin and lifestyle intervention in the diabetes prevention program. *Diabetes*. 2010;59:2672-81.
 63. Chen Y, Teranishi K, Li S, Yee SW, Hesselson S, Stryke D, et al. Genetic variants in multidrug and toxic compound extrusion-1, hMATE1, alter transport function. *Pharmacogenomics J*. 2009;9:127-36.
 64. Chen L, Takizawa M, Chen E, Schlessinger A, Segenthel J, Choi JH, et al. Genetic polymorphisms in organic cation transporter 1 (OCT1) in Chinese and Japanese populations exhibit altered function. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;335:42-50.

Recebido: 09/10/2010

Aceito: 11/12/2010