



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Distribución del polimorfismo Val408Met en el gen  
SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con diabetes  
mellitus tipo 2 en tratamiento de primera línea-  
metformina y comparación con muestras poblacionales**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Para optar al Grado Académico de Bachiller en Farmacia y  
Bioquímica

**AUTORA**

Aracely Paola SALAZAR EUSEBIO

**ASESOR**

Mg. Oscar ACOSTA CONCHUCOS

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Salazar A. Distribución del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento de primera línea metformina y comparación con muestras poblacionales [Trabajo de investigación de bachiller]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2021.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Aracely Paola Salazar Eusebio
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72704449
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0001-6261-5412">https://orcid.org/0000-0001-6261-5412</a>
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Oscar Acosta Conchucos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09456570
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-1912-0251">https://orcid.org/0000-0002-1912-0251</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Víctor Crispín Pérez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07363013
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Christian Solis Calero
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10373255
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Carlos Arturo Castañeda Altamirano
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09873222
<b>Miembro del jurado 3</b>	
Nombres y apellidos	Celia Bertha Vargas de la Cruz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42354741

<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	B.2.5.1. Bases moleculares de enfermedades multifactorial y emergentes
Grupo de investigación	Grupo de investigación de Genética, Ómicas, Bioinformática y Desarrollo Computacional aplicado a Biomedicina, Farmacia, Toxicología y Alimentos - GENOBIDC
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Trabajo de Investigación para optar el grado de Bachiller. A20040020a.
Ubicación geográfica de la investigación	<p>Edificio: Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM  País: Perú  Departamento: Lima  Provincia: Lima  Distrito: Cercado de Lima  Calle: Jr. Puno N°1002  Latitud: -12.05572  Longitud: -77.02324</p> <p>Edificio: Hospital Nacional Dos de Mayo  País: Perú  Departamento: Lima  Provincia: Lima  Distrito: Cercado de Lima  Calle: Parque "Historia de la Medicina Peruana", S/N, Av. Miguel Grau 13  Latitud: -12.0559577  Longitud: -77.0156729</p>
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Junio 2020 – diciembre 2021
URL de disciplinas OCDE	Genética humana <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.02">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.02</a> Farmacología, Farmacia <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador del Trabajo de Investigación titulado:

**Distribución del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento de primera línea-metformina y comparación con muestras poblacionales**

Que presenta la alumna de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica:

### **ARACELY PAOLA SALAZAR EUSEBIO**

Que reunidos en la fecha, se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN del TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

**16 (Dieciséis) Aprobado con Mención Honrosa**

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica.

#### **JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR (R.D. N.º 000830-2021-D-FFB/UNMSM)**

- Dr. Víctor Crispín Pérez
- Dr. Christian Solís Calero
- Mg. Carlos Arturo Castañeda Altamirano
- Mg. Celia Bertha Vargas de la Cruz

Lima, 28 de diciembre de 2021.

**Dr. Víctor Crispín Pérez**  
**Presidente**

## **Dedicatoria**

A mis padres María y Edgar y mi hermana Larissa.

A mis abuelos, mis tíos y primos.

## **Agradecimientos**

A mi asesor Mg. Oscar Acosta por todo su apoyo y el tiempo brindado para realizar este trabajo de investigación.

A Renzo Cortez por su apoyo en la parte experimental.

Al Vicerrectorado de Investigación y Postgrado de la UNMSM por subvencionar este proyecto para la obtención del grado de Bachiller (código A20040020a).

<b>ÍNDICE</b>	
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 Introducción	1
I.2. Planteamiento del problema	2
I.3. Objetivos	4
I.4. Importancia y alcance	4
I.5 Limitaciones	5
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	6
II.1 Marco teórico	6
II.1.1 Diabetes mellitus tipo 2	6
II.1.1.2 Diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)	6
II.1.1.3 Complicaciones de la DMT2	6
II.1.2 Tratamiento farmacológico	6
II.1.2.1 Metformina	7
II.1.2.1.1 Características fisicoquímicas	7
II.1.2.1.2 Beneficios secundarios	8
II.1.2.1.3 Efectos secundarios	8
II.1.2.1.4 Contraindicaciones	8
II.1.2.1.5 Farmacocinética	8
II.1.3 Familia SLC22	10
II.1.3.1 Transportadores de Cationes Orgánicos (OCTs)	10
II.1.3.1.1 Transportador catiónico orgánico 1 humano (hOCT1)	11
II.1.4 Gen SC22A1	12
II.1.5 Farmacogenética	12
II.2. Antecedentes	13
II.3 Bases teóricas	15
II.3.1 Fisiopatología de DMT2	15
II.3.2 Mecanismo de acción de la metformina	16
II.3.3 Variaciones genéticas de SLC22A1 (OCT1) y su relación con la farmacocinética, respuesta y efectos secundarios de metformina	18
II.4 Glosario	19
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES	20
III.1. Hipótesis	20

III.2. Variables	20
III.3 Operacionalización	21
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	23
IV.1. Área de estudio	23
IV.2. Diseño	23
IV.3 Población de estudio. Muestra	23
IV.4.Procedimientos, técnicas, instrumentos de recolección	24
IV.4.1 Muestras de epitelio bucal	24
IV.4.3 Detección del polimorfismo Val408Met	25
IV.4.3.2 Restricción con enzima MscI	26
IV.5. Análisis estadístico.	27
V. RESULTADOS	28
V.1 Presentación, análisis de resultados	28
V.1.1 Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo Val408Met	28
V.1.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W)	28
V.1.3 Análisis de las frecuencias alélicas del polimorfismo Val408Met en pacientes diabéticos en tratamiento de primera línea-metformina y poblaciones peruanas	29
V.1.4 Análisis de las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val408Met en pacientes diabéticos en tratamiento de primera línea-metformina y poblaciones peruanas	30
VI. DISCUSIÓN	32
VII. CONCLUSIONES	40
VIII. RECOMENDACIONES	41
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
IX. ANEXOS	48
IX.1 Anexo. Consentimiento informado, aprobado por Comité de Ética en Investigación Médica del hospital Dos de Mayo	48

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros de farmacocinética de la metformina durante regímenes de dosis múltiples (850 mg tres veces al día) en individuos sanos y pacientes con DMT2.....	9
Tabla 2. Condiciones de la PCR.....	26
Tabla 3. Frecuencia de genotipos, alelos Val408Met en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina.....	28
Tabla 4. Equilibrio de Hardy-Weinberg en los pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina .....	28
Tabla 5. Comparación de la frecuencia de los alelos Val408Met en el gen SLC22A1 en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina y poblaciones peruanas.....	29
Tabla 6. Comparación de la frecuencia de los genotipos Val408Met en el gen SLC22A1 en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina y poblaciones peruanas.....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Estructura química de metformina (1,1 dimetilbiguanidina).....	7
Fig. 2 Miembros de la familia SLC22 involucrados en el transporte de fármacos y xenobióticos.....	10
Fig. 3 Modelo de la topología de membrana predicha de OCT1 humano.....	11
Fig. 4 Modelo 3D predicho de hOCT1.....	12
Fig. 5 Mecanismo de acción de metformina.....	17
Fig. 6 Electroforesis de los genotipos del polimorfismo Val408Met.....	27

## **ABREVIATURAS**

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2

OCT: Transportador catiónico orgánico

OCT1: Transportador catiónico orgánico1

OCT2: Transportador catiónico orgánico2

OCT3: Transportador catiónico orgánico3

PMAT: Transportador de las monoaminas plasmáticas

MATE1: Proteína de extrusión multiantimicrobiana 1

MATE2: Proteína de extrusión multiantimicrobiana 2

AMP: Adenosina monofosfato

AMPK: Proteína quinasa activada por el AMP

AMPc: Adenosina monofosfato cíclico

ADP: Adenosina difosfato

ATP: Adenosina trifosfato

ACC1: Acetil-CoA carboxilasa 1

ACC2: Acetil-CoA carboxilasa 2

SLC22: Transportador de solutos familia 22

SLC22A1: Transportador solutos, familia 22, sub-familia A, miembro1

PCR: Reacción en cadena de polimerasa

A1C: Hemoglobina glicosilada

GPP: Glucosa plasmática preprandial

TMDs: Dominios transmembrana

RFLP: Polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción

INSR: Receptor de insulina

PKA: Proteína quinasa A

GLUT-4: Transportador de glucosa tipo 4

## RESUMEN

El tratamiento de primera línea para la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es el fármaco metformina. El transportador catiónico 1 (OCT1), codificado por el gen SLC22A1, transporta metformina al hígado donde ejerce su efecto farmacológico. El polimorfismo Val408Met ha sido asociado a la baja respuesta de pacientes diabéticos a la metformina y la presencia de efectos secundarios. El gen se asocia a diferentes condiciones en poblaciones del mundo y la distribución diferencial de las frecuencias alélicas del polimorfismo Val408Met entre grupos étnicos, incluyendo al Perú, puede influir en la farmacogenética de la DMT2. El objetivo fue determinar las frecuencias del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con DMT2 en tratamiento de primera línea y compararlas con muestras poblacionales (sin DMT2). Se aisló ADN de muestras de epitelio bucal de 65 pacientes con DMT2 en tratamiento con metformina, con la técnica PCR-RFLP se evaluó el polimorfismo Val408Met en el gen OCT1. Resultados: Las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos fueron GG=76.92%, GA=18.46%, AA=4.62%, y las frecuencias alélicas fueron G=86.15%, A=13.85%. Comparadas con muestras de Lima-ciudad, Lima-PEL (proyecto 1000 genomas), Puno-Uros, Puno-Taquile y Puno-Amantani, muestran diferencias significativas con genotipos de Taquile (modelo codominante,  $p=0.035$ ; modelo dominante,  $p=0.008$ ) y con los alelos de Uros ( $p=0.047$ ) y Taquile ( $p=0.004$ ). En conclusión, las frecuencias genotípicas y alélicas de polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en los pacientes diabéticos en tratamiento con metformina presentan diferencias con las muestras de Puno, lo cual aporta al conocimiento y a la Farmacogenética de la DMT2 en el país.

**Palabras clave:** Gen SLC22A1, OCT1, polimorfismo Val408Met, diabetes mellitus tipo 2, metformina.

## **ABSTRACT**

The first-line treatment for type 2 diabetes mellitus (T2DM) is the drug metformin. The cationic transporter 1 (OCT1), encoded by the SLC22A1 gene, transports metformin to the liver where it exerts its pharmacological effect. The Val408Met polymorphism has been associated with the low response of diabetic patients to metformin and the presence of side effects. The gene is associated with different conditions in world populations and the differential distribution of allelic frequencies of the Val408 polymorphism. The objective was to determine the variation in the frequencies of the Val408Met polymorphism in the SLC22A1 (OCT1) gene among Peruvian patients with DMT2 in first-class treatment. line and population samples (without DMT2). DNA was isolated from buccal epithelium samples of 65 patients with T2DM treated with metformin, with the PCR-RFLP technique the Val408Met polymorphism in the OCT1 gene was evaluated. Results: The genotype frequencies of the diabetic patients were GG = 76.92%, GA = 18.46%, AA = 4.62%, and the allele frequencies were G = 86.15%, A = 13.85%. Compared with samples from Lima-city, Lima-PEL (1000 genomes project), Puno-Uros, Puno-Taquile and Puno-Amantaní, they show significant differences with Taquile genotypes (codominant model,  $p = 0.035$ ; dominant model,  $p = 0.008$ ) and with the alleles of Uros ( $p = 0.047$ ) and Taquile ( $p = 0.004$ ). In conclusion, the genotypic and allelic frequencies of the Val408Met polymorphism in the SLC22A1 (OCT1) gene in diabetic patients in first-line treatment-metformin present differences with the population samples from Puno, which contributes to the knowledge and Pharmacogenetics of T2DM in the country.

**Key words:** SLC22A1 gene, OCT1, Val408Met polymorphism, type 2 diabetes mellitus, metformin.

# I. INTRODUCCIÓN

## I.1 Introducción

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es un trastorno metabólico que resulta de la interacción de factores ambientales (obesidad, sedentarismo, dieta no saludable) y predisposición genética<sup>1,2</sup>. Se caracteriza por la presencia de hiperglucemia causada por la resistencia de los tejidos a la acción de la insulina, la alteración de la secreción de insulina en las células- $\beta$  pancreáticas y el aumento de la síntesis de glucosa en el hígado<sup>2</sup>.

Según los datos de la Federación Internacional de Diabetes, en el año 2019, a nivel mundial hubo 463 millones de adultos (20-79 años) con diabetes, de los cuales 32 millones pertenecen a América del Sur y Central. Además, se estima que en el año 2025, a nivel mundial la cifra aumentará hasta los 700 millones, es decir, un incremento del 51% respecto al año 2019<sup>3</sup>.

En el Perú, durante el año 2019, 1 de cada 15 adultos (20-79 años) tuvo diabetes. Además, hubo 1 millón 385 mil adultos diabéticos (20-79 años) y 9,161 muertes relacionadas a diabetes<sup>3</sup>.

El fármaco de primera elección para tratar la DMT2 es la metformina que disminuye las concentraciones de glucosa reduciendo la producción hepática de glucosa y aumentando la utilización de glucosa en el músculo esquelético. Además, disminuye la absorción de carbohidratos en el intestino, disminuye el LDL y VLDL, aumenta la oxidación de ácidos grasos y no induce hipoglucemia incluso a dosis altas<sup>4</sup>.

La metformina se administra por vía oral y se absorbe en los enterocitos del duodeno a través de los transportadores OCT3 y PMAT ubicados en la membrana apical, luego se transporta vía sistémica mediante el transportador OCT1, ubicado en la región basolateral de la membrana del enterocito. Posteriormente la metformina llega e ingresa al hepatocito, mediante el OCT1 y OCT3, para ejercer su efecto farmacológico<sup>5</sup>.

Los polimorfismos genéticos del gen SLC22A1 (también llamado OCT1), que codifica al transportador OCT1, están asociados con la alteración de la farmacocinética, la seguridad y la eficacia de la metformina. Por ejemplo,

algunas variantes genéticas de OCT1 muestran un transporte deteriorado de metformina en células hepáticas y como consecuencia una disminución en la respuesta de los pacientes diabéticos a este fármaco<sup>6</sup>. Se han reportado numerosos polimorfismos en este gen, como el polimorfismo Val408Met que ha sido asociado a una menor respuesta de los pacientes diabéticos a la metformina y la presencia de efectos secundarios gastrointestinales durante el tratamiento, sin embargo, en otros estudios no se ha encontrado asociación e incluso en un estudio fue considerado un predictor positivo para el tratamiento con metformina<sup>7,8,9,10,11</sup>. Esto es debido a que este polimorfismo tiene diferentes efectos en las poblaciones del mundo, además, se han indicado variaciones en las frecuencias alélicas del polimorfismo Val408Met entre los diferentes grupos étnicos. En Perú, solo se ha determinado la distribución del polimorfismo Val408Met en personas de Lima y Puno, pero aún no hay estudios sobre su frecuencia en pacientes con DMT2 en tratamiento con metformina (primera línea). Es decir, aún no se conoce si la frecuencia de este polimorfismo varía entre diabéticos y muestras poblacionales.

Además, los resultados de este trabajo de investigación pueden contribuir para que en futuras investigaciones se determine, si realmente existe o no, una asociación entre el polimorfismo Val408Met con la baja respuesta al tratamiento con metformina o a la aparición de efectos secundarios gastrointestinales en pacientes diabéticos peruanos.

Es por ello que el objetivo general del presente trabajo de investigación fue determinar las frecuencias del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con DMT2 en tratamiento de primera línea y compararlas con muestras poblacionales (sin DMT2).

## **I.2.Planteamiento del problema.**

La metformina es considerado el fármaco para el tratamiento de primera línea en la DMT2, sin embargo, existe una variación interindividual en la respuesta que incluye la mejora en el porcentaje de A1C hasta 4 %, el aumento considerable de los valores de A1C después del tratamiento y una tasa de fracaso de la monoterapia aproximadamente del 35 %<sup>12</sup>. Además, el 25 % de

los pacientes tratados con metformina desarrollan efectos secundarios gastrointestinales que conducen a la interrupción de la terapia en el 5% de los casos<sup>13</sup>.

Se ha reportado que varios polimorfismos en el gen SLC22A1 (OCT1) influyen en la farmacocinética de metformina originando una baja respuesta y también la presencia de efectos secundarios. El polimorfismo Val408Met se ha relacionado con la aparición de efectos secundarios gastrointestinales, la baja respuesta de metformina y, en algunos estudios, no se encontró relación con la disminución en la respuesta, mientras que en un solo estudio fue considerado un predictor positivo para el tratamiento con metformina<sup>7,8,9,10,11</sup>. Esto se debe a que este polimorfismo tiene diferentes efectos entre las diversas poblaciones del mundo y, además, su frecuencia varía según la población étnica<sup>14</sup>.

En Perú, en un estudio anterior solo se ha determinado la distribución del polimorfismo Val408Met en personas sanas de Lima y Puno<sup>15</sup>, pero aún no hay estudios sobre la frecuencia del polimorfismo en pacientes con DMT2 en primera línea de tratamiento. Es decir, aún no se conoce si la frecuencia de este polimorfismo varía entre pacientes diabéticos y muestras poblacionales.

En perspectiva, existe la necesidad de conocer las distribuciones genotípicas y alélicas Val408Met en el gen OCT1 en diabéticos peruanos, compararlas con datos poblacionales y aportar en el futuro con estudios relacionados con la baja respuesta o aparición de efectos secundarios de la metformina en el país.

**Pregunta de investigación:**

¿Las frecuencias alélicas y genotípicas Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con DMT2 en primera línea de tratamiento serán diferentes a muestras poblacionales (sin DMT2)?

### **I.3. Objetivos**

#### **Objetivo general**

Determinar las frecuencias del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes peruanos con DMT2 en tratamiento de primera línea y compararlas con muestras poblacionales (sin DMT2).

#### **Objetivos específicos**

1. Determinar las frecuencias genotípicas (G/G, G/A, A/A) Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea.
2. Determinar las frecuencias alélicas (G y A) Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea.
3. Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) entre pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea y muestras de otras poblaciones del Perú (sin DMT2).

### **I.4. Importancia y alcance de la investigación (justificación)**

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad altamente prevalente en el mundo y en el Perú se encuentra entre las primeras causas de morbilidad y mortalidad, con un alto costo económico y social para el país. Durante el año 2019, 1 de cada 15 adultos (20-79 años) tuvo diabetes. Además, hubo 1 millón 385 mil adultos diabéticos y 9,161 muertes relacionadas a diabetes<sup>13</sup>.

Existe un alarmante aumento de la prevalencia de la diabetes en los últimos años con registros de edad de inicio de la enfermedad más tempranos (menores de 30 años), lo que significa que el Estado peruano destina más recursos económicos para el tratamiento de primera línea de la enfermedad, y considerando que parte de los pacientes no responde apropiadamente a la terapia, es esencial investigar sobre la farmacogenética de esta enfermedad.

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad compleja debido a la respuesta diferencial y la aparición de efectos secundarios a los fármacos antidiabéticos

de primera línea-metformina, por ello, es necesario implementar estrategias técnico-científicas como las herramientas genéticas (perfiles farmacogenéticos) que permitan mejorar la toma de decisiones en el tratamiento y optimizar el costo-beneficio de la enfermedad en el país.

En relación a lo mencionado, los resultados de este trabajo permitirán contar con una base de datos de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Val408Met en los pacientes diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea-metformina que puede contribuir para que en futuras investigaciones se determine si existe una relación entre el polimorfismo Val408Met del gen SLC22A1 (OCT1) con una baja respuesta de los pacientes diabéticos a metformina y/o la presencia de efectos secundarios gastrointestinales durante el tratamiento, ya que si se conociera con anticipación que los pacientes diabéticos que presentan este polimorfismo no responderán al tratamiento con metformina o presentarán efectos secundarios gastrointestinales, la mejor alternativa sería que reciban tratamiento con otros fármacos antidiabéticos en vez de recibir el fármaco de primera línea-metformina con el cual lo más probable los pacientes obtengan más riesgos que beneficios y con el paso del tiempo la enfermedad podría ir agravándose y se pueden presentar complicaciones que deteriorarían más la salud del paciente. Además de ello, se reducirían costos ya que no se gastaría dinero innecesariamente en la compra del medicamento metformina para pacientes que no responderán favorablemente al tratamiento.

### **I.5 Limitaciones de la investigación**

En este trabajo de investigación se han estudiado las frecuencias Val408Met en el gen SLC22A en diabéticos en tratamiento de primera línea-metformina, sin embargo, el diseño sólo incluye la comparación con datos poblacionales pues posteriores estudios considerarán los datos de respuesta diferencial al tratamiento según frecuencias genotípicas y alélicas de ambos grupos.

## **II. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **II.1 Marco teórico**

#### **II.1.1 Diabetes mellitus tipo 2**

La DMT2 se caracteriza por la hiperglucemia relacionada a una insuficiencia de la hormona insulina, es causada por anomalías metabólicas como la resistencia insulínica, el aumento de la glucosa hepática y anomalías secretoras en las células beta pancreáticas, este tipo representa el 90 al 95% de los casos de diabetes. La DMT2 más frecuente es la poligénica, que es el resultado del efecto de varios polimorfismos en ciertos genes donde cada uno de ellos ejerce un efecto parcial y solo determinadas combinaciones y en presencia de factores de riesgo, como obesidad o sedentarismo, se desarrollará la enfermedad diabética<sup>1,16</sup>.

##### **II.1.1.2 Diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2**

Se realizan pruebas bioquímicas y los valores que confirman el diagnóstico de son los siguientes<sup>16</sup>:

- Glucosa plasmática preprandial (GPP):  $\geq 126$  mg/dL ( $\geq 7.0$  mmol/L)
- Cuantificación de glucosa plasmática:  $\geq 200$  mg/dL ( $\geq 11$  mmol/L)
- Prueba oral de tolerancia a la glucosa:  $\geq 200$  mg/dL ( $\geq 11$  mmol/L)
- Hemoglobina glucosilada (A1C):  $\geq 6.5\%$  ( $\geq 40$  mmol/L)

Además, los signos y síntomas de la diabetes mellitus incluyen polidipsia (sed excesiva), polifagia (apetito excesivo) y poliuria (micción excesiva)<sup>16,17</sup>.

##### **II.1.1.3 Complicaciones de diabetes mellitus tipo 2**

La complicación aguda más frecuente de la DMT2 es el estado hiperosmolar hiperglucémico (EHH)<sup>15</sup>. Las complicaciones crónicas incluyen los cambios microvasculares (neuropatía, nefropatía, retinopatía), complicaciones macrovasculares (enfermedad arterial coronaria, cerebrovascular y vascular periférica), trastornos de la motilidad gastrointestinal y úlceras en el pie<sup>16</sup>.

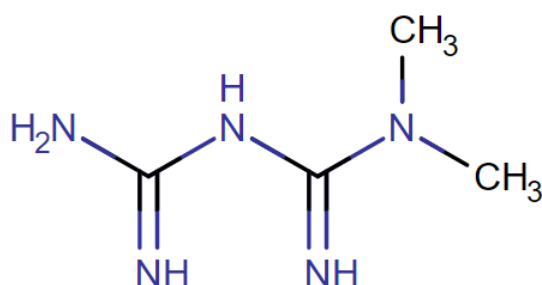
##### **II.1.2 Tratamiento farmacológico**

El objetivo del tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 es que normalicen sus valores de glucemia y prevenir las complicaciones<sup>16</sup>. El

tratamiento inicial es con antidiabéticos orales ya sea en monoterapia o combinados y finalmente con insulina cuando no se puede controlar la glucemia y aparecen las complicaciones<sup>16,18</sup>.

### II.1.2.1 Metformina

La metformina es el fármaco elegido para el tratamiento inicial de la DMT2, su nombre químico es 1,1-dimetilbiguanidina y se encuentra dentro del grupo químico de las biguanidas<sup>18</sup>. Se administra por vía oral y en la forma farmacéutica de tableta se encuentra como clorhidrato de metformina<sup>18</sup>. La dosis oral de metformina (500mg, 850mg, 1g) se considera como sal de clorhidrato, pero todas las concentraciones en los fluidos biológicos se expresan como base libre<sup>19</sup>.



**Fig. 1** Metformina. Estructura química (1,1 dimetilbiguanidina).

Fuente: DrugBank<sup>20</sup>.

#### II.1.2.1.1 Características fisicoquímicas

Debido a su estructura de guanidina muy polar, la metformina es una base fuerte hidrofílica que tiene un pka de 11.5 y es por ello que a pH fisiológico se encuentra en forma de especies hidrofílicas catiónicas (> 99,9%) y la baja lipofilidad de las especies no ionizadas se debe a que tiene un bajo valor de logP de -1.43<sup>19,19,21,22,23</sup>. Debido a estas propiedades fisicoquímicas, la metformina no se transporta por difusión pasiva a través de las membranas, sino, es transportada por difusión facilitada por proteínas membranales. Además, la metformina está clasificada como un fármaco de clase III con alta solubilidad y baja permeabilidad de acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica<sup>24,25,26,27,28</sup>.

### **II.1.2.1.2 Beneficios secundarios**

La reducción entre el 10 y 20% de los triglicéridos plasmáticos, ya que disminuye la síntesis hepática de lipoproteínas VLDL y además aumenta el HDL. La metformina también disminuye la concentración de ácidos grasos libres y el colesterol total entre 5 y 10%. En pacientes obesos o con sobrepeso disminuye el tejido adiposo y promueve la pérdida de peso<sup>1,29</sup>.

### **II.1.2.1.3 Efectos secundarios**

Los efectos secundarios más comunes que aparecen en el 25-30% de los pacientes son los gastrointestinales que incluyen diarrea, dolor abdominal, náuseas y vómitos que suelen aparecer al inicio del tratamiento y generalmente son transitorios, se tratan de aminorar empezando el tratamiento con bajas dosis de metformina y tomándola junto a las comidas, sin embargo, un 5% de los pacientes los continúan presentando por lo que deben interrumpir el tratamiento<sup>30</sup>. También puede aparecer cefalea, pérdida de apetito, sabor metálico, malabsorción de vitamina B<sub>12</sub> que rara vez tiene significancia clínica y la acidosis láctica que es la más infrecuente (3 casos por 100 000 pacientes/año) y la más grave<sup>1,31</sup>.

### **II.1.2.1.4 Contraindicaciones**

La metformina está contraindicada en pacientes con insuficiencia renal (creatinina > 1.5 mg/dl en hombres y > 1.4 mg/dl en mujeres), hepática, respiratoria o cardíaca crónicas, en infecciones graves, cualquier condición hipoxémica, durante el embarazo, lactancia y alcoholismo<sup>1,31</sup>.

### **II.1.2.1.5 Farmacocinética**

- **Absorción**

Después que metformina ingresa por vía oral, se absorbe por los enterocitos del intestino delgado, ingresando por los transportadores PMAT y OCT3 ubicados en la membrana apical y luego a través de la OCT1 ubicada en la región basolateral de la membrana, se transporta hacia el torrente sanguíneo<sup>5,18</sup>. La absorción de metformina es de forma lenta e incompleta, siendo su biodisponibilidad oral de  $55 \pm 16\%$ <sup>18,23</sup>.

- **Distribución**

La metformina no se une a proteínas plasmáticas y se distribuye rápidamente a los tejidos principalmente al hígado, intestino, riñones y lentamente en el músculo. La captación hepática de metformina está mediada principalmente por OCT1 y también por OCT3 que se expresan en la membrana basolateral de los hepatocitos. En el músculo es captada por el transportador OCT3<sup>5</sup>.

- **Metabolismo**

La metformina no es metabolizada por el hígado ni por los riñones<sup>5</sup>.

- **Eliminación**

En el riñón la metformina ingresa por el transportador OCT2 ubicado en la membrana basolateral de células epiteliales renales de los túbulos proximales y, por las proteínas MATE 1 y MATE 2 es transportada hacia la orina<sup>5</sup>. El 90% es eliminado en 12 horas y el aclaramiento renal de metformina es mayor a 400 ml/min, lo que indica que su eliminación es por filtración glomerular y secreción tubular. La excreción del fármaco inalterado en la orina es la forma más importante de su eliminación y no se han encontrado metabolitos de metformina en orina<sup>5,13</sup>.

Además, la metformina no absorbida en el intestino delgado luego de la administración oral, se dirige al colon y finalmente se elimina en las heces (aproximadamente se recupera un 30% de la dosis de metformina inalterada en las heces)<sup>26,32,33,34</sup>.

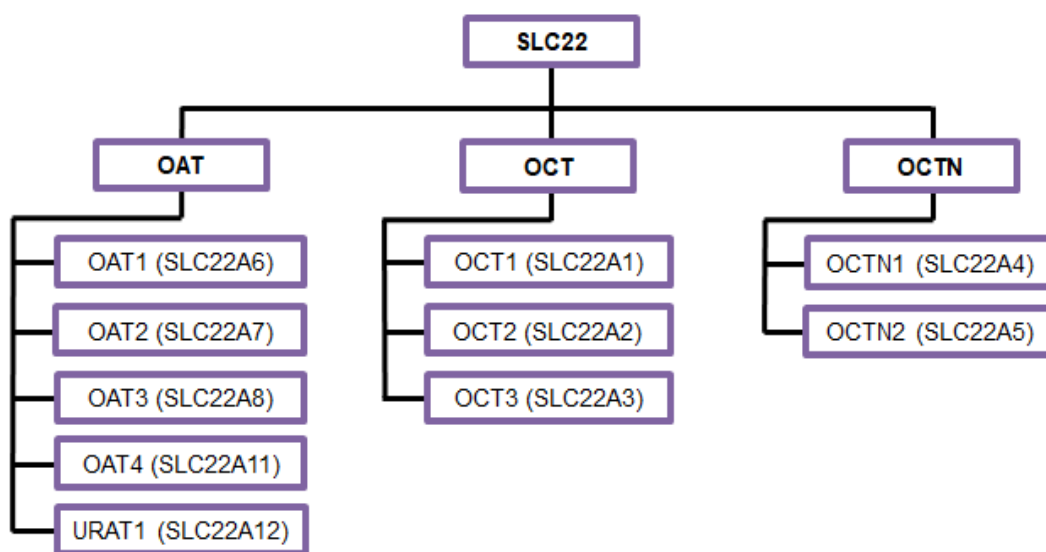
**Tabla 1. Parámetros de farmacocinética de la metformina durante regímenes de dosis múltiples (850 mg tres veces al día) en individuos saludables y en pacientes con diabetes mellitus tipo 2**

Parámetros farmacocinéticos	Individuos sanos	Pacientes con DMT2
Volumen distribución (Vd/F)	1211 ± 230 L	1951.7 ± 506.4 L
Aclaramiento renal (CIR)	641.7 ± 57.8 mL/min	550.0 ± 53.3 mL/min
Tiempo de vida media (t1/2)	13.0 ± 2.6 h	19.8 ± 5.3 h
Concentración máxima (Cmáx)	2.01 ± 0.14 mg/L	1.90 ± 0.21 mg/L
Tiempo máximo (Tmáx)	1.79 ± 0.31 h	2.0 ± 0.4 h
Área bajo la curva (AUC <sub>0---&gt;∞</sub> )	10.73 ± 0.93 µg.hr/mL	10.83 ± 1.34 µg.hr/mL

Fuente: Sambol, et al<sup>35</sup>.

### II.1.3 Familia SLC22

Los transportadores de la familia SLC22 cumplen un rol fundamental en el transporte de metabolitos endógenos, fármacos y xenobióticos entre los tejidos y los fluidos corporales<sup>32,33</sup>. La familia SLC22 está conformada por 23 proteínas transportadoras que se clasifican según su especificidad de sustrato y el mecanismo de transporte en los siguientes tres subgrupos: transportadores de aniones orgánicos (OATs), transportadores de cationes orgánicos (OCTs), y transportadores de cationes/zwitteriones orgánicos (OCTNs)<sup>34</sup>.



**Fig. 2** Miembros de la familia SLC22 involucrados en el transporte de fármacos y xenobióticos. Fuente: Nigam<sup>32</sup>.

#### II.1.3.1 Transportadores de Cationes Orgánicos (OCTs)

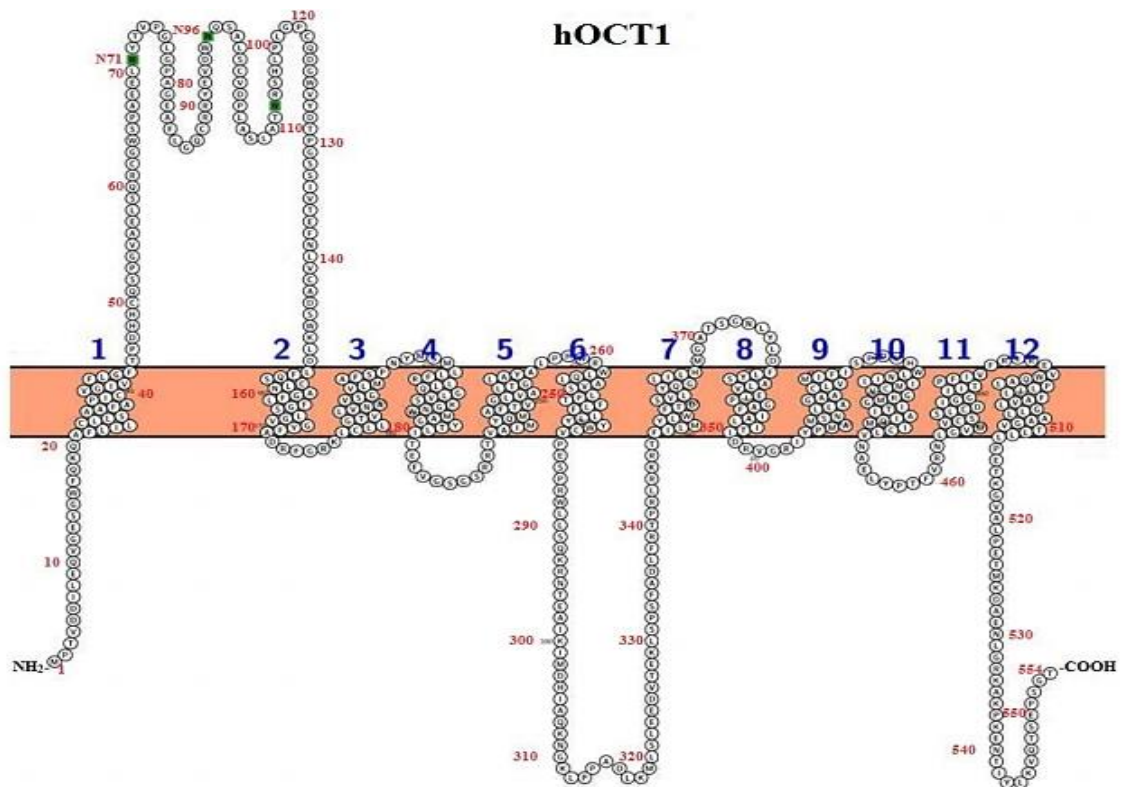
Los OCTs incluyen a OCT1, OCT2 y OCT3 que presentan similar estructura, especificidad de sustrato y mecanismo de transporte, además, tienen como función transportar predominantemente cationes orgánicos hidrofílicos de bajo peso molecular, endógenos y exógenos<sup>35,36,37</sup>.

El transporte mediado por los OCTs es independiente de los iones sodio y cloruro. Además, funcionan como transportadores electrogénicos y facilitadores, siendo la dirección del transporte dependiente del gradiente electroquímico de los cationes orgánicos transportados<sup>38</sup>.

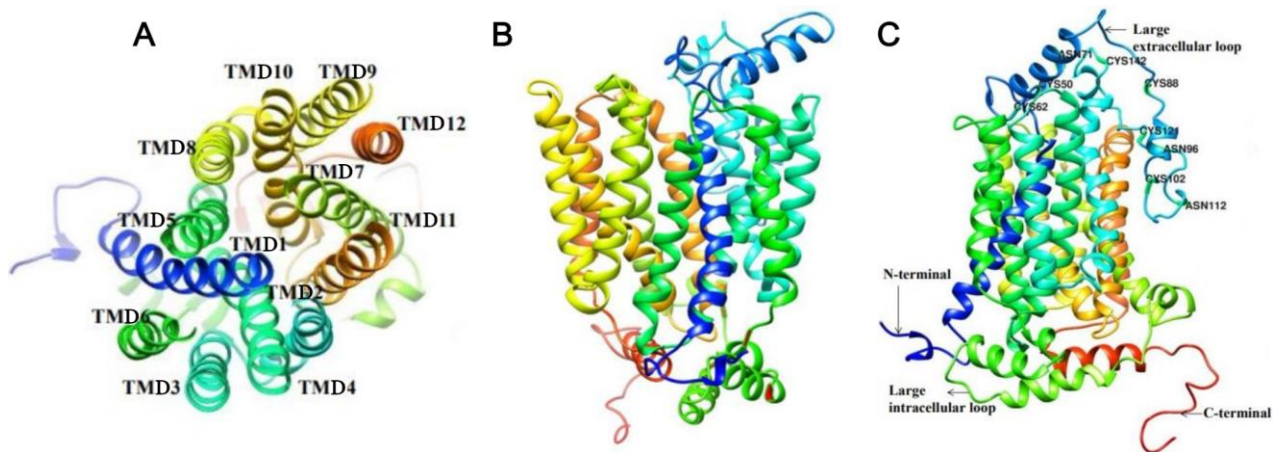
### II.1.3.1.1 Transportador catiónico orgánico 1 humano (hOCT1)

La proteína hOCT1 tiene 554 aminoácidos, 12- $\alpha$ -helicoidales dominios transmembrana (TMDs), un extremo amino (-NH<sub>2</sub> o N-terminal) y un extremo carboxilo (-COOH o C-terminal) intracelulares, un gran bucle extracelular N-glicosilado entre los TMDs 1 y 2 y un gran bucle intracelular con sitios de fosforilación entre los TMDs 6 y 7<sup>39,40,41</sup>.

La proteína hOCT1 se expresa sobre todo en el hígado y tiene menor expresión en el intestino delgado, colon, riñón, pulmón, cerebro, corazón, músculo esquelético, leucocitos periféricos, glándula suprarrenal, glándula mamaria, células inmunitarias y tejido adiposo<sup>41</sup>.



**Fig. 3** Modelo de la topología de membrana predicha de OCT1 humano. Tomado de Dakal, *et al*<sup>42</sup>.



**Fig. 4 Modelo 3D predicho de hOCT1. A) Vista exoplasmática de la proteína hOCT1.** Se observan las 12- $\alpha$ -hélices transmembrana (TMD). **B) Conformación de hOCT1.** La conformación abierta hacia el exterior de la proteína hOCT1. **C) Vista frontal de hOCT1.** Se representan con flechas el gran bucle extracelular, el gran bucle intracelular, el N-terminal y C-terminal. Tomado de Dakal, *et al*<sup>42</sup>.

#### II.1.4 Gen SC22A1

El gen SLC22A1 humano también conocido como gen OCT1 o HOCT1. Se ubica en el brazo largo del cromosoma 6, región 2, banda 5 y sub-banda 3 (6q25.3). Se extiende por aproximadamente 38,783 bases, tiene 11 exones codificantes y 10 intrones. El gen SLC22A1 codifica la proteína transportadora OCT1<sup>42</sup>.

#### II.1.5 Farmacogenética

La farmacogenética estudia la influencia de la variabilidad genética en los resultados del tratamiento farmacológico, centrándose en la influencia de genes individuales en la respuesta a los fármacos<sup>43,44</sup>. La farmacogenética puede influir en la farmacocinética y la farmacodinamia de los medicamentos, por lo que tiene un rol importante en la dosificación, la probabilidad de efectos secundarios y el riesgo de reacciones de hipersensibilidad de los pacientes durante el tratamiento farmacológico<sup>43</sup>.

Los transportadores de membrana son importantes para la farmacocinética y la respuesta farmacológica ya que regulan la distribución en los tejidos, absorción y eliminación de los fármacos<sup>45</sup>. Existen polimorfismos en genes que codifican los transportadores de fármacos que pueden afectar la absorción, distribución,

metabolismo y excreción. Además, estos polimorfismos contribuyen a la heterogeneidad étnica en la respuesta a los fármacos<sup>46</sup>.

## II.2. Antecedentes

Los efectos de los diversos polimorfismos en el gen SLC22A1 en la respuesta de diabéticos al tratamiento con metformina son específicos según la población estudiada<sup>14,47</sup>.

Se ha demostrado la asociación del alelo A del polimorfismo Val408Met con la presencia de efectos secundarios gastrointestinales en pacientes diabéticos letones en tratamiento con metformina. En los pacientes con efectos secundarios gastrointestinales, la frecuencia del alelo A fue de 0.275, siendo significativamente menor, comparada con el grupo control, donde fue de 0.42<sup>11,14</sup>.

Según Zhou, *et al.*, 2015, en pacientes diabéticos chinos Han de Shanghai en tratamiento con metformina (grupo DM), las frecuencias alélicas del polimorfismo Val408Met fueron 72.0% (G) y 28.0% (A). Mientras que en el grupo de pacientes resistentes a metformina, las frecuencias alélicas fueron 90% (G) y 10% (A), siendo significativamente diferentes a las frecuencias alélicas del grupo DM ( $p=0,003$ ) y a las del grupo control (sin diabetes). Los pacientes diabéticos chinos con el genotipo GG evidenciaron una reducción significativamente mayor en la glucosa plasmática en ayunas después de tratamiento con metformina, y aquellos con el genotipo AA mostraron una reducción significativamente mayor en los valores de A1C<sup>8,14</sup>.

Asimismo, se ha estudiado el polimorfismo en diabéticos japoneses en tratamiento con metformina y la frecuencia del alelo A fue de 0.15<sup>6,14</sup>.

En individuos sanos de India del Sur (tamil) las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val408Met fueron para GG=60.7%, GA=39.3% y AA=0.0%, mientras que la frecuencia del alelo A fue 19.7% y la frecuencia del alelo G fue 80.3%<sup>14,48</sup>. Mientras que en otro estudio, en personas sanas de India del Sur las frecuencias genotípicas fueron GG=66.66%, GA= 2.08% y AA=31.25%<sup>49</sup>.

En individuos caucásicos sanos, las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val408Met fueron 17.7% homocigotos tipo salvaje de tipo salvaje (GG), 45.2% heterocigoto (GA) y 37.1% homocigotos mutantes (AA)<sup>14,50</sup>.

En un estudio con pacientes caucásicos con diabetes mellitus tipo 2 en la primera línea de tratamiento-metformina, las frecuencias genotípicas de Val408Met fueron para GG=0.34, GA=0.52 y AA=0.14. La frecuencia del alelo A fue de 0.4 y la del alelo G fue de 0.6. Además, se encontró que no hubo asociación entre este polimorfismo y la respuesta a metformina<sup>9,14</sup>.

Según Shokri, *et al.*, 2016, se determinó que la frecuencia del alelo A no fue significativamente diferente entre pacientes diabéticos iraníes respondedores (68.25%) y no respondedores (66.88%) al tratamiento con metformina. Además, no se encontró asociación significativa entre el polimorfismo Val408Met y la respuesta al tratamiento<sup>10,14,51</sup>.

Según Reséndiz, *et al.*, 2019, en pacientes mexicanos con diabetes mellitus tipo 2 en monoterapia con metformina, las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val408Met fueron las siguientes: GG=0.7, GA=0.25 y AA=0.05. Se encontró una asociación significativa entre el genotipo AA y el aumento de los niveles de A1C<sup>7,51</sup>.

En Perú, se ha estudiado la distribución del polimorfismo Val408Met del referido gen en muestras de Lima y Puno (Uros, Taquile y Amantaní). Las frecuencias de los genotipos de la población total fueron de GG=0.87, GA=0.12 y AA=0. La frecuencia del alelo A fue de 0.096, 0.083, 0.025 y 0 en las poblaciones de Lima, Amantaní, Uros y Taquile, respectivamente<sup>15</sup>.

A diferencia de otras poblaciones del mundo, en Perú solo se han realizado estudios de la distribución del polimorfismo Val408Met en muestras poblacionales y aún no se conoce su distribución en pacientes diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea-metformina<sup>15</sup>. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue determinar las frecuencias del polimorfismo Val408Met en pacientes peruanos con DMT2 en tratamiento de primera línea y compararlas con muestras poblacionales (sin DMT2).

## **II.3 Bases teóricas**

### **II.3.1 Fisiopatología de diabetes mellitus tipo 2**

La diabetes mellitus tipo 2 es un trastorno metabólico resultante de la interacción de factores ambientales (sedentarismo, dieta no saludable, obesidad) y predisposición genética, que se caracteriza por la presencia de hiperglucemia causada por la resistencia de los tejidos a la acción de la insulina, la alteración de la secreción de insulina en las células- $\beta$  pancreáticas y el aumento de la síntesis de glucosa en el hígado<sup>1,2</sup>.

La insulina es una hormona peptídica que mantiene los niveles de glucosa sanguínea al promover que ésta sea captada, principalmente en el músculo para ser almacenada como glucógeno, y también en el tejido adiposo, donde estimula la síntesis de triglicéridos e inhibe su degradación. La insulina en el hígado inhibe la gluconeogénesis, la glucogenólisis y la cetogénesis, y promueve la síntesis de proteínas principalmente en el músculo<sup>16</sup>.

La resistencia a la insulina, es la pérdida de sensibilidad o respuesta de los tejidos periféricos a la acción de la insulina, es el evento primario para el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2. Entre los factores que generan la resistencia a la insulina en el músculo esquelético se encuentran las mutaciones que reducen la expresión del receptor de insulina (INSR) o del receptor GLUT-4 y los defectos en la vía de señalización ascendente o descendente, que reducen la captación de glucosa muscular y por consiguiente un estado hiperglicémico. La unión de la insulina a la subunidad  $\alpha$ -del INSR provoca la fosforilación de la subunidad- $\beta$  en múltiples residuos de tirosina y permite la señalización mediada por insulina. Por lo tanto, las mutaciones en cualquiera de los principales sitios de fosforilación pueden alterar la actividad de la tirosina quinasa INSR, lo que altera la acción de la insulina en el músculo esquelético. Las mutaciones en proteínas clave de la vía de señalización descendente como IRS-1 e IRS-2 o fosfoinositido 3-quinasa (PI3K) también alteran la acción de la insulina en el músculo<sup>52,31</sup>.

La resistencia a la insulina en el tejido adiposo conduce a una alteración de la supresión de la lipólisis, alteración de la captación de glucosa y una mayor liberación de ácidos grasos en el plasma. La acumulación de ácidos grasos

libres en el hígado produce una señalización deficiente de la insulina que promueve la gluconeogénesis hepática y altera la respuesta de la insulina estimulada por glucosa, lo que induce el desarrollo de DMT2<sup>52</sup>.

Inicialmente, la resistencia a la insulina promueve un aumento de la secreción de insulina, por las células- $\beta$  pancreáticas, hasta niveles de hiperinsulinemia para lograr mantener los niveles normales de glucemia, pero con el paso del tiempo la resistencia a la insulina se vuelve más marcada y ya no se logra controlar la homeostasis de glucosa<sup>53</sup>. Al existir una mayor demanda de secreción de insulina, esto provoca que se agoten y fallen las células  $\beta$ , por lo que disminuye la síntesis de insulina y se elevan las concentraciones de glucosa<sup>16,52</sup>.

Entre los factores asociados a la disfunción de estas células, se encuentran la disminución de la masa celular, posiblemente por factores genéticos; incremento de la apoptosis o disminución de la regeneración de células- $\beta$ , agotamiento de las células- $\beta$  por resistencia crónica a la insulina, y la glucotoxicidad y lipotoxicidad inducen estrés metabólico y oxidativo que dañan las células- $\beta$ <sup>16,52</sup>.

El aumento de la gluconeogénesis se asocia a una desregulación de la vía, ya sea por una pérdida de sensibilidad a la señalización por insulina, o a una exacerbación de la señalización por glucagón<sup>54</sup>. Siendo el aumento de la producción de glucosa hepática basal la causa principal de la hiperglucemia en ayunas, mientras que luego de una comida, la supresión deficiente de la producción de glucosa hepática por la insulina y la disminución de la captación de glucosa por el músculo contribuyen igualmente a la hiperglucemia posprandial<sup>31</sup>.

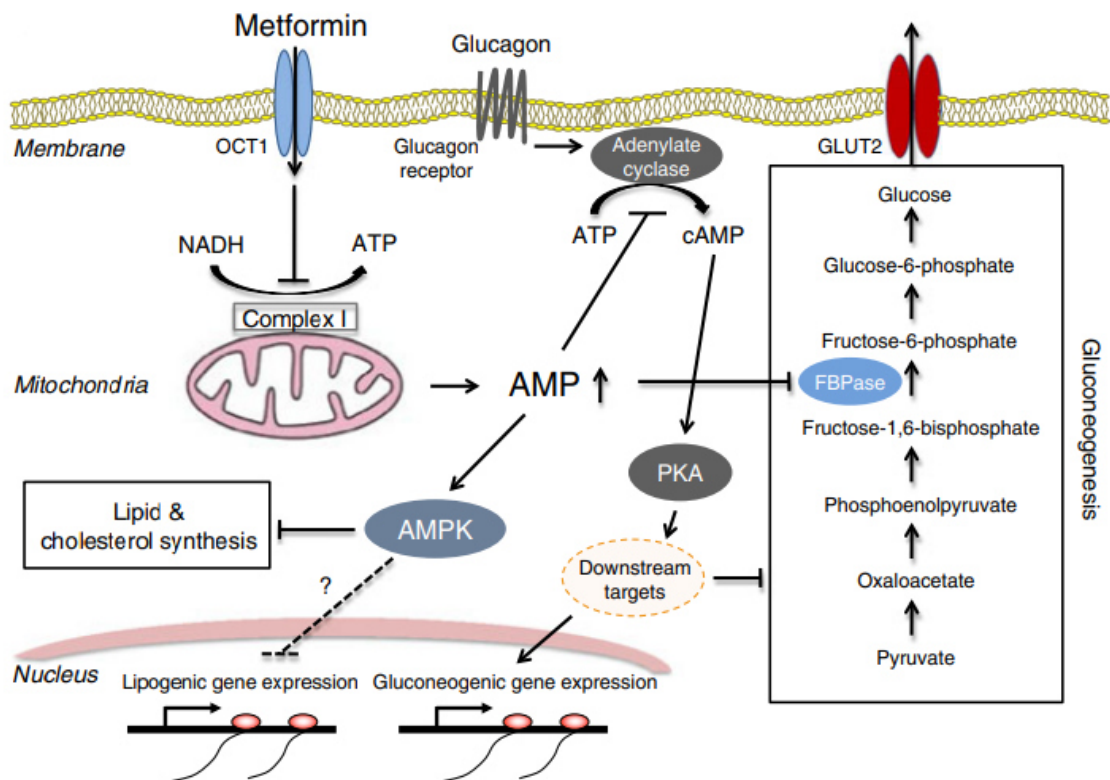
### **II.3.2 Mecanismo de acción de la metformina**

La acción antihiper glucémica de la metformina es principalmente una consecuencia de la reducción de la producción de glucosa debido a la inhibición de la gluconeogénesis hepática y en menor grado, a nivel del músculo esquelético, al incremento de la captación de glucosa lo que aumenta la sensibilidad a la acción de la insulina. Además, disminuye la absorción intestinal de glucosa, lo que reduce los niveles postprandiales de glucemia. La

metformina, ni estimula la secreción de la insulina y tampoco provoca hipoglucemia como evento secundario, siendo considerada antihyperglucemiante y no un hipoglucemiante<sup>1</sup>.

Luego de que metformina ingresa al hepatocito a través de OCT1, la mitocondria es su objetivo principal en donde inhibe el complejo I de la cadena respiratoria (NADH: ubiquinona oxidoreductasa), lo que disminuye la oxidación de NADH, el bombeo de protones y la tasa de consumo de oxígeno, lo que resulta en una menor gradiente de protones y la disminución de la síntesis de ATP<sup>55</sup>.

La disminución del ATP mitocondrial genera un aumento en las relaciones citoplásmicas de ADP:ATP y AMP:ATP. Los aumentos en la relación AMP:ATP inhiben la fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPase), lo que resulta en la inhibición de la gluconeogénesis<sup>33</sup>.



**Fig. 5** Mecanismo de acción de metformina. Tomado de Rena, *et al*<sup>56</sup>.

AMPK se activa mediante el aumento de las relaciones intracelulares de AMP:ATP y ADP:ATP que es resultante del desequilibrio entre la producción y el consumo de ATP<sup>56</sup>. AMPK actúa para restaurar la homeostasis de energía

mediante el encendido de las vías catabólicas de generación de ATP y la desconexión de procesos celulares que consumen ATP<sup>57</sup>.

También cuando AMPK se activa fosforila las isoformas ACC1 y ACC2, lo que inhibe la síntesis de grasa y promueve la oxidación de grasa, y en consecuencia, reduce las reservas de lípidos hepáticos y mejora la sensibilidad a la insulina hepática<sup>33</sup>.

La metformina mejora la sensibilidad a la insulina activando el receptor de insulina y aumentando la translocación y la actividad del transportador de glucosa GLUT-4 en el músculo esquelético<sup>24,58</sup>.

La concentración de glucagón está anormalmente elevada en la circulación de los pacientes diabéticos, debido a que la hiperglucemia mitiga la supresión de las células- $\alpha$  pancreáticas secretoras de glucagón<sup>59</sup>. La metformina conduce a la inhibición de la señalización del glucagón, aumentando los niveles de AMP mediante la inhibición del complejo mitocondrial. Luego, el AMP se une al "sitio P" de la adenilato ciclasa, inhibiendo así la activación de la adenilato ciclasa mediada por glucagón y reduciendo la síntesis endógena del AMPc y la activación del PKA, antagonizándose los efectos en la actividad transcripcional de genes que codifican las enzimas gluconeogénicas<sup>60</sup>.

La metformina también reduce la absorción intestinal de glucosa, y aunque no se conoce el mecanismo exacto, se ha planteado que se debe al aumento de la secreción del péptido parecido al glucagón (GLP1). Además, se ha propuesto que la metformina mejora la pérdida de peso a través del factor de diferenciación del crecimiento (GDF-15)<sup>58</sup>.

### **II.3.3 Variaciones genéticas de SLC22A1 (OCT1) y su relación con la farmacocinética, respuesta y efectos secundarios de metformina**

Algunas variantes genéticas de SLC22A1 conducen a una reducción de la actividad de OCT1 disminuyendo la eficacia de metformina, al disminuir la captación hepática del fármaco y, además, el volumen de distribución disminuye, lo que resulta en un tiempo de vida media más corta y una concentración en estado estacionario más baja de metformina<sup>6,61,62</sup>.

Los alelos de función reducida de R61C (rs12208357), G401S (rs34130495), 420del (rs142448543) y G465R (rs34059508) en el gen SLC22A1 se han asociado un AUC (área bajo la curva) alta,  $C_{m\acute{a}x}$  más alta y un menor volumen de distribución oral, además de la disminución de la captación hepática de metformina<sup>63</sup>.

Se ha demostrado una asociación significativa entre el polimorfismo 1386A>C y la disminución de los niveles de A1C. Mientras que el polimorfismo rs4646272 (-43T> G) fue un predictor negativo de la eficacia de la metformina y se ha demostrado que el polimorfismo 181C> T disminuyó la actividad OCT1, lo que ocasionó una disminución de la absorción de metformina<sup>14</sup>.

El polimorfismo 1222A>G (rs628031), la inserción de 8 pares de bases (rs36056065), el polimorfismo 181C>T (rs122083571) y la delección M420del (rs72552763) en el gen SLC22A1 (OCT1) han sido asociados significativamente con la aparición de efectos secundarios gastrointestinales en pacientes diabéticos en tratamiento con metformina<sup>14</sup>.

#### **II.4 Glosario de términos**

- Alelos: Son las diferentes formas que adopta un gen. Hay dos alelos en cada posición genética o locus, con un alelo heredado de cada padre<sup>64</sup>.
- Genotipos: Es la composición alélica de un gen determinado. Cada par de alelos representa el genotipo de un gen específico. Los genotipos pueden ser homocigotos si los dos alelos son idénticos en un locus particular o heterocigotos si los dos alelos son diferentes<sup>65</sup>.
- Frecuencia absoluta: Es el número de repeticiones de un determinado valor de la variable, también puede representar el número de elementos de la población que tiene el mismo valor<sup>66</sup>.
- Frecuencia relativa: Es el cociente resultante de la división del número de veces que se repite un dato entre el tamaño de la población. También se puede representar en porcentaje<sup>66</sup>.

- Glucemia plasmática preprandial: prueba diagnóstica que cuantifica la concentración de glucosa en sangre en ayunas, por lo menos durante 8 horas sin consumo de alimentos<sup>16</sup>.
- Hemoglobina glucosilada: Es la hemoglobina a la cual se incorpora glucosa de manera irreversible. La concentración de hemoglobina glucosilada representa un índice de los niveles de glucosa en un periodo que incluyen las últimas seis a doce semanas<sup>16</sup>.

### **III. HIPÓTESIS Y VARIABLES**

#### **III.1. Hipótesis**

Las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) de los pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea son distintas a muestras poblacionales (sin DMT2).

#### **III.2. Variables**

Variable X: Polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1).

Variable Y: Pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea.

### III.3 Operacionalización de variables

VARIABLES	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	OBSERVACIONES
<p><b>Variable X:</b></p> <p><b>Polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1)</b></p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p>	<p>Un Polimorfismo de Nucleótido Simple es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base nucleotídica, cuando es “no sinónimo” resulta en la variación de aminoácidos en los productos proteicos de los genes<sup>15</sup>.</p>	<p>El cambio de la base nucleotídica G por A en la posición 1221 del gen SLC22A1 origina el cambio del aminoácido Val por Met en la posición 408 en la proteína transportadora OCT1.</p>	<p>1. Genotipo homocigoto silvestre o normal (dos alelos G)</p> <p>2. Genotipo homocigoto mutante (dos alelos A)</p> <p>3. Genotipo heterocigoto (dos alelos: A y G)</p>	<p>La presencia de bandas características de los genotipos GG, AA y AG en gel de agarosa después de electroforesis.</p>	<p>Frecuencias absolutas y relativas de los genotipos (silvestre GG, mutante AA y heterocigoto AG) y de los alelos (A y G)</p>	<p>Datos obtenidos a partir del genotipaje molecular.</p>

<p><b>Variable Y:</b> <b>Pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento de primera línea.</b></p>	<p>Cualitativa Nominal</p>	<p>Pacientes diagnosticados con diabetes mellitus tipo 2 que reciben el tratamiento de primera línea para la enfermedad.</p>	<p>Pacientes peruanos con diabetes mellitus tipo 2 con diagnóstico clínico e hiperglicemia y tratamiento primario con metformina.</p>	<p>1. Pacientes peruanos con DMT2 en tratamiento de primera línea, metformina. 2. Personas sin DMT2 ni tratamiento (muestras poblacionales peruanas).</p>	<p>-Hemoglobina glucosilada (A1C) -Glucosa plasmática preprandial (GPP) -Diagnóstico Clínico.</p>	<p>- <math>\geq 6.5\%</math> - <math>\geq 126\text{mg/dL}</math> - Apreciación clínica</p>	<p>Estos datos de los pacientes se van a recolectar de sus historias clínicas y la información de las personas sin DMT2 de estudios anteriores<sup>15,76</sup>.</p>
--	--------------------------------	--	---	---	---	--	---

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **IV.1. Área de estudio**

-Hospital Nacional Dos de Mayo. Dirección: Parque "Historia de la Medicina Peruana", S/N, Av. Miguel Grau 13, Cercado de Lima 15003.

-Laboratorio GENOBIDC de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr. Puno N°1002.

### **IV.2. Diseño de investigación**

-Según el análisis y alcance de resultados

El estudio es no experimental porque no se modificaron las variables y es comparativo porque se compararon las variables.

-Según inicio del estudio en relación a cronología de los hechos

El estudio es retrospectivo ya que los eventos que generan los datos de las variables ocurrieron antes del momento de estudio.

-Según el periodo y secuencia

El estudio es transversal porque se midieron las variables en un momento determinado.

### **IV.3 Población de estudio y muestra**

Población de estudio: Pacientes con diabetes mellitus tipo 2 del Servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo en tratamiento de primera con metformina.

Muestra: 65 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 del Servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo que reciben la primera línea de tratamiento-metformina.

Se realizó muestreo por conveniencia no probabilístico de 65 pacientes.

Criterios de inclusión de los pacientes:

-Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.

-Pacientes diabéticos peruanos en la primera línea de tratamiento-metformina.

-Pacientes que firmen el consentimiento informado.

Criterios de exclusión de los pacientes:

-Pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 y otras condiciones metabólicas crónicas.

-Pacientes diabéticos que no se encuentren en la primera línea de tratamiento (otro antidiabético diferente a metformina).

#### **IV.4.Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información**

##### **IV.4.1 Muestras de epitelio bucal**

De cada paciente diabéticos se tomaron muestras de epitelio bucal (técnica de hisopado bucal). Los hisopos se colocaron en un tubo estéril con 1.25 ml de buffer de lisis. Los tubos estériles cerrados y rotulados que contenían las muestras se trasladaron al laboratorio GENOBIDC, en donde fueron almacenados a 4°C hasta su uso.

##### **IV.4.2 Datos de muestras poblacionales**

Se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos PubMed y SciELO, utilizando la siguiente estrategia de búsqueda: "OCT1 gene AND Peru". Se encontró un artículo en SciELO, el cual fue utilizado para obtener los datos de frecuencias alélicas y genotípicas Val408Met en el gen SL22A1 en muestras poblacionales de Lima y Puno<sup>15</sup>.

Además, se ingresó a la página del Proyecto 1000 Genomas y se realizó la búsqueda de frecuencias alélicas y genotípicas del referido polimorfismo en muestra de Lima ciudad (peruanos de Lima = PEL)<sup>67</sup>.

#### **IV.4.2 Extracción de ADN**

Se aisló ADN de las muestras de epitelio bucal de los 65 pacientes diabéticos mediante la técnica de salting out<sup>68</sup>, modificado y adaptado a las condiciones del laboratorio.

En detalle:

- a) Al tubo que contenía el buffer de lisis y la muestra se le agregó 15µL de Proteasa K (1mg/1ml) y se incubó a 55°C toda la noche.
- b) El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo y se agregó 200µL de solución PPS, y se congeló a -20°C por 10 minutos.
- c) Se agregó 1-5ml de isopropanol frío, se homogenizó, se congeló a -20°C y se centrifugó.
- d) El sobrenadante se descartó y se adicionó 1ml de etanol absoluto helado, se centrifugó a 10 000 rpm, se descartó el sobrenadante y se dejó secar a temperatura ambiente por 10 minutos.
- e) Luego se agregó 1ml de etanol 70% helado, se homogenizó y se congeló a -20°C por 10 minutos, se centrifugó a 10 000 rpm y se descartó el sobrenadante, el precipitado se dejó secar a temperatura ambiente.
- f) Finalmente, se resuspendió el ADN en 50 µL de TE Low y se almacenó a 4°C hasta su uso.

#### **IV.4.3 Detección del polimorfismo Val408Met**

Se analizó el polimorfismo Val408Met (rs628031) ubicada en el exón 7 del gen SLC22A1 mediante la técnica PCR-RFLP según la metodología de Olivares *et al*<sup>15</sup>.

##### **IV.4.3.1 Amplificación de ADN**

La región del gen SLC22A1 que contiene el SNP Val408Met fue amplificada mediante la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).

Los primers (cebadores) utilizados, fueron los siguientes: Forward (5'-TTTCTTCAGTCTCTGACTCATGCC-3') y reverse (5'-AAAAAAGTTTGTAGACAAAGGTAGCACC-3'), con los cuales se obtuvo un producto de amplificación de 397 pb.

La reacción fue en un volumen de 12,5µL que contenía 8,95µL de H<sub>2</sub>O para PCR; 0,75µL de Buffer Surf 10X (NH)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1,25µL de MgCl<sub>2</sub> 25mM; 0,25µL de dNTPs 10µM; 0,1µL de PF 10µM; 0,1µL de PR 10µM; 1U de Taq Surf Polimerasa y 1µL de ADN. Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador convencional marca Analytik Jena, modelo Biometra Tone con las siguientes condiciones:

**Tabla 2. Condiciones de la PCR**

Pasos		Temperatura	Tiempo
Incubación inicial		94°C	10 minutos
x 31 ciclos	Desnaturalización	94°C	30 segundos
	Alineamiento	58°C	1,5 minutos
	Extensión	72°C	1 minuto
Extensión final		72°C	5 minutos

Fuente: Olivares, *et al*<sup>15</sup>.

Se comprobaron los amplificados obtenidos mediante la técnica de electroforesis que se realizó en gel de agarosa al 1.5% teñido con colorante fluorescente Green. Se utilizó 3µL de ADN amplificado mezclado con 1µL de buffer de carga 6X Orange LD, 4µL de marcador de peso molecular O'GeneRuler 1kb (Fermentas) y se cubrió el gel con solución buffer Tris borato EDTA (TBE) 1X, el tiempo total fue de 30 minutos a 100 Voltios. Por último, se visualizó el gel en un transiluminador de luz UV.

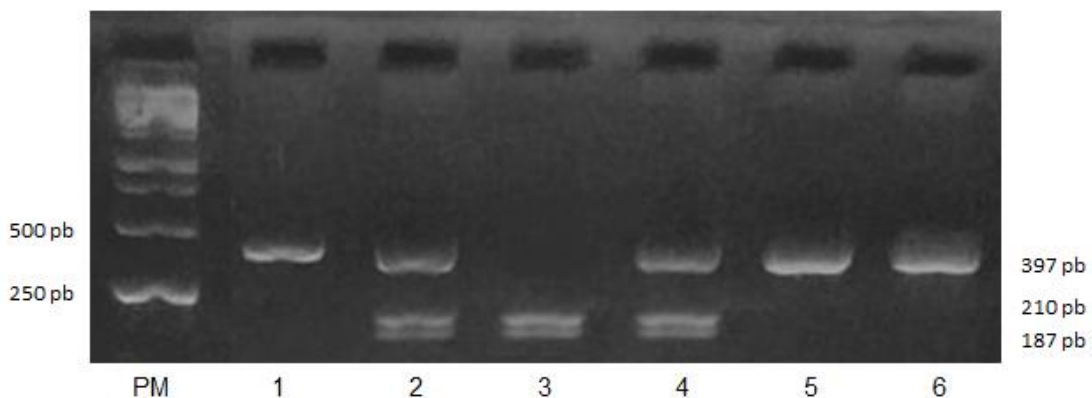
#### **IV.4.3.2 Restricción con enzima MscI**

Los amplificados obtenidos fueron del tamaño esperado (397 pb), por tanto se procedió a preparar 5µL de la solución de restricción que contenía 3,6µL de agua para PCR; 1µL de buffer R y 0,4µL de la enzima de restricción MscI Fast Digest y se agregó 5µL del amplificado, siendo el volumen final 10 µL. Luego se incubó a 37°C por 1 hora en la estufa.

Para verificar los genotipos obtenidos se realizó electroforesis y para ello se preparó un gel de agarosa al 2,5% y se cargó los 10 µL del volumen final de la reacción mezclado con 1µL de Buffer de carga 6x Orange LD, en otro carril se cargó 4µL de marcador de peso molecular O'GeneRuler 1kb

(Fermentas) y se cubrió el gel con solución buffer Tris borato EDTA (TBE) 1X, el tiempo total fue de 40 minutos a 100 Voltios. Una vez transcurrido el tiempo se visualizó el gel en un transiluminador de luz UV.

Si se encontraba presente el alelo A (Met), la enzima de restricción MscI realizó un corte en el amplificado y se obtuvieron dos fragmentos uno de 210pb y el otro de 87pb. Mientras que si se encontraba presente el alelo G (Val), la enzima no cortó el amplificado y se evidenció un solo fragmento de 397pb.



**Fig. 6 Electroforesis de los genotipos del polimorfismo Val408Met.** Gel de agarosa teñido con el colorante fluorescente Green con las bandas determinantes de los genotipos Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1). Carriles 1, 5 y 6: homocigotos normales GG o Val/Val (397pb); Carriles 2 y 4: heterocigotos GA o Val/Met (397/210/187 pb). Carril 3: homocigoto mutante AA o Met/Met (210/187 pb). PM: Marcador peso molecular O'Gene Ruller 1kb; pb: pares de bases.

#### IV.5. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos descriptivos, comparativos y la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg (equilibrio genético) se realizaron con los programas Epidat 3.1, IBM SPSS v22.0, Arlequín.

## V. RESULTADOS

### V.1 Presentación y análisis de los resultados

#### V.1.1 Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo Val408Met

La investigación incluyó a 65 pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea – metformina. Las frecuencias genotípicas fueron las siguientes: 76.92% para el genotipo GG, 18.46% para el genotipo GA y 4.62% para el genotipo AA. Mientras que las frecuencias alélicas fueron las siguientes: 86.15% para el alelo G y 13.85% para el alelo A.

**Tabla 3. Frecuencia de genotipos, alelos Val408Met en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina.**

Muestra	n	Genotipos n (%)			Alelos n (%)	
		GG (Val/Val)	GA (Val/Met)	AA (Met/Met)	G (Val)	A (Met)
Pacientes	65	50 (76.92)	12 (18.46)	3 (4.62)	112 (86.15)	18 (13.85)

#### V.1.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W)

Las frecuencias genotípicas esperadas fueron calculadas según la hipótesis del equilibrio de Hardy-Weinberg en los pacientes peruanos con DMT2 en tratamiento de primera línea – metformina, a partir de las frecuencias para el genotipo homocigoto normal (GG), heterocigoto (GA) y homocigoto mutante (AA). Se obtuvo un  $\chi^2$  de 3.32 y un valor  $p=0.068$  que indica que las frecuencias genotípicas observadas se encuentran en Equilibrio de Hardy-Weinberg.

**Tabla 4. Equilibrio de Hardy-Weinberg en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina.**

Muestra	$\chi^2$	p	Equilibrio H-W
Pacientes	3.32	0.068	Sí

### V.1.3 Análisis de las frecuencias alélicas del polimorfismo Val408Met en pacientes diabéticos en tratamiento de primera línea-metformina y poblaciones peruanas

La frecuencia de los alelos del polimorfismo Val408Met en los diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea con metformina se compararon con la frecuencias alélicas de otras subpoblaciones peruanas (individuos sanos) de Lima y Puno (Uros, Taquile, Amantani).

La frecuencias alélicas de los pacientes diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea con metformina presentó diferencias significativas con la frecuencias de las poblaciones de Puno-Uros ( $p= 0.047$ ), Puno-Taquile ( $p=0.004$ ) y con los pobladores sanos en total de Puno ( $p=0.002$ ).

**Tabla 5. Comparación de la frecuencia de los alelos Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina y poblaciones peruanas.**

Muestras	n	Alelos n (%)		Valor p <sup>a</sup> (entre alelos)	Referencia
		G (Val)	A (Met)		
<b>Pacientes</b>	65	112 (86.15)	18 (13.85)	-	-
<b>Lima ciudad</b>	57	103 (90.4)	11 (9.6)	0.416	15
<b>Perú-Lima (PEL)</b>	85	153 (90.0)	17 (10.0)	0.397	67
<b>Puno-Uros</b>	20	39 (97.5)	1 (2.5)	<b>0.047</b>	15
<b>Puno-Taquile</b>	24	48 (100.0)	0 (0.0)	<b>0.004</b>	15
<b>Puno-Amantani</b>	12	22 (91.7)	2 (8.3)	0.741	15
<b>Lima total sanos<sup>b</sup></b>	142	256 (90.14)	28 (9.86)	0.303	15 y 67
<b>Puno total sanos<sup>c</sup></b>	56	109 (97.32)	3 (2.68)	<b>0.002</b>	15

<sup>a</sup> Según el test exacto de Fisher o la prueba  $X^2$  según corresponda.

<sup>b</sup> Lima total sanos (Lima ciudad y Perú Lima).

<sup>c</sup> Puno total sanos (Uros, Taquile y Amantani).

#### **V.1.4 Análisis de las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val408Met en pacientes diabéticos en tratamiento de primera línea-metformina y poblaciones peruanas**

Las frecuencias de los genotipos del polimorfismo Val408Met en los pacientes estudiados con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina se compararon con las frecuencias en otras poblaciones peruanas (individuos sanos) de Lima y Puno (Uros, Taquile y Amantaní). Se evaluaron los modelos de herencia: codominante (GG, GA, AA), dominante (GG y GA+AA) y recesivo (AA y GG+GA).

Las frecuencia genotípicas de los pacientes diabéticos presentaron diferencias significativas con la frecuencias de las poblaciones de Puno-Taquile en el modelo codominante ( $p=0.035$ ) y dominante ( $p=0.008$ ), y con los pobladores sanos en total de Puno en el modelo codominante ( $p=0.019$ ) y dominante ( $p=0.009$ ). Bajo el modelo recesivo, no se presentaron diferencias significativas de las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos respecto a las demás poblaciones.

Tabla 6. Comparación de la frecuencia de los genotipos Val408Met en el gen SLC22A1 en pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea con metformina y poblaciones peruanas.

Muestras	n	Modelos									
		Codominante n (%)			Valor p <sup>d</sup>	Dominante n (%)		Valor p <sup>d</sup>	Recesivo n (%)		Valor p <sup>d</sup>
		GG	GA	AA		GG	GA+AA		AA	GG+GA	
<b>Pacientes</b>	65	50 (76.92)	12 (18.46)	3 (4.62)	-	50 (76.92)	15 (23.08)	-	3 (4.62)	62 (95.38)	-
<b>Lima ciudad</b>	57	46 (80.7)	11 (19.3)	0 (0.0)	0.259	46 (80.7)	11 (19.3)	0.774	0 (0.0)	57 (100.0)	0.247
<b>Perú-Lima (PEL)</b>	85	69 (81.2)	15 (17.6)	1 (1.2)	0.420	69 (81.2)	16 (18.8)	0.909	1 (1.2)	84 (98.8)	0.316
<b>Puno-Uros</b>	20	19 (95.0)	1 (5.0)	0 (0.0)	0.187	19 (95.0)	1 (5.0)	0.102	0 (0.0)	20 (100.0)	1.00
<b>Puno-Taquile</b>	24	24 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	<b>0.035</b>	24 (100.0)	0 (0.0)	<b>0.008</b>	0 (0.0)	24 (100.0)	0.56
<b>Puno-Amantani</b>	12	10 (83.3)	2 (16.7)	0 (0.0)	0.731	10 (83.3)	2 (16.7)	1.00	0 (0.0)	12 (100.0)	1.00
<b>Lima total sanos<sup>b</sup></b>	142	115 (80.99)	26 (18.31)	1 (0.7)	0.163	115 (80.99)	27 (19.01)	0.625	1 (0.7)	141 (99.3)	0.092
<b>Puno total sanos<sup>c</sup></b>	56	53 (94.64)	3 (5.36)	0 (0.0)	<b>0.019</b>	53 (94.64)	3 (5.36)	<b>0.009</b>	0 (0.0)	56 (100.0)	0.247

<sup>b</sup> Lima total sanos (Lima ciudad y Perú Lima).

<sup>c</sup> Puno total sanos (Uros, Taquile y Amantani).

<sup>d</sup> Según la prueba X2 o el test exacto de Fisher según corresponda.

## VI. DISCUSIÓN

En varias poblaciones del mundo se han reportado numerosos polimorfismos en el gen SLC22A1, los cuales conducen a diferencias en la función del transportador OCT1 disminuyendo la efectividad y modificando la farmacocinética de metformina, además, se ha encontrado que pueden tener relación con la aparición de efectos secundarios gastrointestinales en los pacientes con DMT2 en tratamiento con metformina<sup>14</sup>. Sin embargo, en Perú anteriormente solo se ha investigado la distribución del polimorfismo Val408Met del gen SLC22A1 en muestras de Lima y Puno<sup>15</sup>, es decir, en individuos sanos y no en pacientes con DMT2 en tratamiento con metformina, en consecuencia, tampoco se conoce el efecto que el polimorfismo Val408Met pueda tener en los pacientes diabéticos peruanos en tratamiento con el antidiabético de primera línea.

El presente trabajo de investigación es el primero en estudiar el polimorfismo Val408Met del gen SLC22A1 en diabéticos de Perú. La muestra fue de 65 pacientes en tratamiento de primera línea con metformina y se determinaron las frecuencias genotípicas, que fueron las siguientes: GG=76.92%, GA=18.46%, AA=4.62%. Además, al calcular el Equilibrio de Hardy-Weinberg el valor de p fue 0.068 lo que indica que las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos peruanos en tratamiento con metformina se encuentran en equilibrio, es decir, no ha actuado la selección natural, migración, mutaciones, entre otros factores, por lo que las frecuencias genotípicas se mantienen constantes de una generación a otra<sup>69</sup>. Lo mismo sucede con las frecuencias genotípicas de las muestras de Lima y Puno (Uros, Taquile, Amantani), que según un estudio previo siguen una distribución consistente con el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ )<sup>15</sup>.

También se determinaron las frecuencias alélicas en los pacientes diabéticos en tratamiento con metformina, fueron las siguientes: G=86.15% y A=13.85%, siendo el alelo A el alelo de menor frecuencia y G el alelo de mayor frecuencia. Las frecuencia de los alelos de los pacientes diabéticos fueron similares a las frecuencias alélicas poblacionales de Lima ciudad (G=90.4% y A=9.6%), Perú-Lima (G=90% y A=10%) y también con las de Puno-Amantani (G=91.7% y A=8.3%) reportadas anteriormente<sup>15,69</sup>. Pero las frecuencias alélicas de los

pacientes diabéticos presentaron diferencias significativas con las frecuencias alélicas de las poblaciones de Puno-Uros (G=97.5% y A=2.5%) con un valor p de 0.047 y Puno-Taquile (G=100.0% y A= 0.0%) con un valor p de 0.004, siendo mayor la frecuencia del alelo A en los diabéticos en tratamiento de primera línea a diferencia de los individuos sanos de Uros y Taquile. Esto podría indicar que los pacientes diabéticos responderían de forma distinta al tratamiento con metformina a los pobladores de Puno-Taquile ( $p=0.004$ ) si llegasen a desarrollar la DMT2 y que los pacientes diabéticos también responderían de forma distinta a los pobladores de Puno-Uros, pero como el valor de  $p=0.047$  es muy cercano a 0.05, se recomendaría ampliar la muestra de Uros para obtener resultados más confiables.

Cuando se compararon las frecuencias alélicas de los pacientes diabéticos y de los pobladores sanos en total de Puno se encontraron diferencias significativas, lo que indica que los pacientes responderían de forma distinta al tratamiento con metformina a los pobladores de Puno. Mientras que las frecuencias alélicas de los pacientes con las de los pobladores sanos en total de Lima no presentaron diferencias significativas, es decir, las frecuencias de los alelos del polimorfismo Val408Met son similares en personas sanas de Lima y los pacientes diabéticos.

Además, se comparó la frecuencias de los genotipos de los pacientes diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea-metformina con la de las poblaciones de Lima y Puno utilizando los modelos de herencia codominante, dominante y recesivo<sup>70,71,72</sup>.

En el modelo codominante se compararon las frecuencias genotípicas de los tres genotipos (homocigoto normal, heterocigoto y homocigoto mutante) de los pacientes diabéticos con las de poblaciones de Lima y Puno. Se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos y de la población de Puno-Taquile ( $p=0.035$ ), se pudo observar que tanto los pacientes como la población de Taquile presentaron genotipos homocigotos normales (76.92% y 100% respectivamente), siendo mayor la frecuencia en los individuos sanos de Taquile que en los pacientes diabéticos. Pero en el caso de Puno-Taquile no se reportaron genotipos heterocigotos ni homocigotos mutantes, siendo la frecuencia de ambos 0.0%. Por el contrario,

los pacientes diabéticos en tratamiento con metformina sí presentaron genotipos heterocigotos y homocigotos mutantes (18.46% y 4.62% respectivamente).

Según el modelo codominante, cada genotipo (GG, GA, AA) brindaría un riesgo diferente de que los pacientes diabéticos presenten menor respuesta a metformina y/o de que presenten efectos secundarios gastrointestinales<sup>70,71,72</sup>. Se presume que el riesgo que brinda cada uno de los genotipos sería similar en los pacientes diabéticos peruanos con las muestras de Lima ciudad, Perú-Lima (PEL, proyecto 100 genomas), Puno-Uros y Puno-Amantani, mientras que con los pobladores de Puno-Taquile habría variaciones en el riesgo que brinda cada genotipo, en el supuesto caso de que los pobladores llegaran a desarrollar DMT2 en el futuro y reciban tratamiento con metformina. Los pacientes diabéticos presentaron los tres genotipos (homocigoto normal, homocigoto mutante y heterocigoto), lo que puede indicar que cada genotipo brindaría un riesgo distinto de no responder al tratamiento o presentar efectos secundarios gastrointestinales, mientras que en la población de Taquile no hubo presencia de ambos genotipos, es decir, los pobladores de Taquile presentan el genotipo homocigoto normal y si llegan a desarrollar DMT2 responderían al tratamiento con metformina y/o no presentarían efectos secundarios gastrointestinales.

Utilizando el modelo codominante también se comparó las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos y de los pobladores sanos en total de Puno y se encontraron diferencias significativas lo que indica que el riesgo que brinda cada uno de los genotipos sería diferente en los pacientes diabéticos y en los pobladores de Puno si llegasen a desarrollar DMT2. Mientras que las frecuencias genotípicas de los pacientes con las de los pobladores sanos en total de Lima no presentaron diferencias significativas, es decir, el riesgo que brinda cada uno de los genotipos sería similar en los pacientes y en las personas sanas de Lima si llegan a desarrollar diabetes mellitus tipo 2.

En el modelo dominante se comparó la frecuencia del genotipo homocigoto dominante (GG) con la sumatoria de las frecuencias de los genotipos heterocigotos y homocigotos mutantes (GA + AA) entre pacientes diabéticos y las poblaciones de Lima y Puno. Se encontraron diferencias significativas entre

las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos y la población de Puno-Taquile ( $p=0.008$ ), se pudo observar que los pacientes diabéticos presentaron 23.08% de frecuencia GA+AA siendo mayor a comparación de la población de Taquile con 0.0%.

Según el modelo dominante, una sola copia del alelo A sería necesaria para cambiar el riesgo de que los pacientes diabéticos presenten menor respuesta a metformina y/o presenten efectos secundarios gastrointestinales, y el ser portador de dos copias lo modificaría en igual magnitud, es decir, que los portadores del genotipo GA como los del AA tienen el mismo riesgo<sup>70,71,72</sup>. Es por ello que la frecuencia de la combinación de los genotipos GA+AA ha sido comparada con la frecuencia del genotipo GG. Se presume que el riesgo que brinda el genotipo AA y AG sería similar en los pacientes diabéticos peruanos con las muestras de Lima, Puno-Uros y Puno-Amantani, mientras que con los pobladores de Puno-Taquile habría variaciones en el riesgo que brindan estos genotipos, en el supuesto caso de que los pobladores llegaran a desarrollar DMT2 en el futuro y reciban tratamiento con metformina.

Debido a que los pobladores de Puno-Taquile presentan una frecuencia de 0.0% de los genotipos GA+AA, es decir los pobladores no presentan una copia del alelo A y tampoco tienen dos copias del alelo A, solo presentan el genotipo GG lo que indicaría que responderían al tratamiento con metformina si llegaran a padecer DMT2 y/o no presentarían efectos secundarios gastrointestinales. Mientras que en los pacientes diabéticos en tratamiento con metformina del presente estudio que presentan una o 2 copias del alelo A, se modificaría el riesgo de que no respondan al tratamiento con metformina y/o de que presenten efectos secundarios.

Utilizando el modelo dominante también se comparó las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos y de los pobladores sanos en total de Puno y se encontraron diferencias significativas, lo que indica que el riesgo que brinda los genotipos AA y AG sería diferente en los pacientes diabéticos y en los pobladores de Puno si llegasen a desarrollar DMT2. Mientras que las frecuencias genotípicas de los pacientes con las de los pobladores sanos en total de Lima no presentaron diferencias significativas, es decir, el riesgo que

brinda los genotipos AA y AG sería similar en los pacientes y en las personas sanas de Lima si llegan a desarrollar DMT2.

En el modelo recesivo se comparó la frecuencia del genotipo homocigoto recesivo (AA) con la sumatoria de las frecuencias de los genotipos heterocigotos y homocigotos dominantes (GA + GG) entre pacientes diabéticos y las poblaciones de Lima y Puno<sup>70,71,72</sup>. No se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias genotípicas de los pacientes diabéticos con las de Lima y Puno. Según el modelo recesivo, los pacientes necesitarían presentar dos copias del alelo A, es decir el genotipo AA, para modificar el riesgo de que presenten menor respuesta al fármaco metformina y/o presenten efectos gastrointestinales, mientras que los pacientes que presentan genotipos GG y GA tienen el mismo riesgo. Se presume que el riesgo que brinda el genotipo AA de presentar una baja respuesta a metformina y/o presentar efectos secundarios sería similar en los pacientes diabéticos peruanos con las poblaciones de Lima, en el supuesto caso de que los individuos sanos de Perú- Lima llegaran a desarrollar DMT2 en el futuro y reciban tratamiento con metformina.

En las muestras de Puno (Uros, Taquile, Amantani) y Lima ciudad no se presentaron genotipos AA (0.0%) por lo que la frecuencia de los genotipos GG+AG fue de 100%. Mientras que los pacientes diabéticos (4.62%) y la población de Perú-Lima (1.2%) sí presentaron genotipos AA, pero la frecuencia fue baja a diferencia de las frecuencias de GA+GG que fueron 95.38% y 98.8%, respectivamente para los pacientes y la población de Perú-Lima.

Para complementar las investigaciones en el polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 en diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea-metformina, se necesitan realizar más estudios con pacientes que responden al tratamiento con metformina y con aquellos que no responden, además, con los que presenten efectos secundarios gastrointestinales, para determinar si una copia del alelo A, dos copias del alelo A o si cada genotipo (GG, GG, GA) modifica el riesgo.

En la presente investigación a diferencia de otros estudios realizados, no se diferenció entre pacientes diabéticos peruanos que sí respondieron al tratamiento con metformina y pacientes que no respondieron, por lo que aún no se conoce la frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo Val408Met de los pacientes que no responden al tratamiento de primera línea-metformina y tampoco se conoce si es significativamente diferente a las frecuencias alélicas y genotípicas de los pacientes con buena respuesta, y si en caso lo fuera, podría indicar una posible diferencia.

Es importante mencionar que en un estudio previo se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas y genotípicas Val408Met en el gen SLC22A1 entre las poblaciones de Lima-ciudad y Puno-Taquile. Si bien en el presente estudio los pacientes diabéticos se atendieron en el Hospital Nacional Dos de Mayo, ciudad de Lima, no se conoce su ancestralidad, pero probablemente presenten un componente amerindio alrededor del 70% para la ciudad de Lima<sup>73</sup>, y en los resultados obtenidos las frecuencias alélicas y/o genotípicas de los pacientes diabéticos presentan diferencias significativas con Puno-Taquile y/o Puno-Uros, por lo que concuerda con el estudio previo<sup>15</sup>.

Se plantea que las diferencias significativas en la frecuencia de los alelos y/o genotipos poblacionales entre Lima y Puno concuerdan con la ancestría de ambas subpoblaciones peruanas. La población de Lima presenta un mayor nivel de mestizaje (componentes caucásico, africano y/o asiático) en comparación con la población de Puno, con un componente nativo americano mayor al 90%<sup>73</sup>. Las diferencias en frecuencias alélicas y/o genotípicas entre pacientes diabéticos de Lima y de Puno-Taquile, podrían configurar una respuesta diferencial al tratamiento con metformina, pero deben realizarse más estudios para corroborar lo planteado.

Las frecuencias alélicas Val408Met en el gen SLC22A en los diabéticos en tratamiento de primera línea-metformina fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a las frecuencias de muestras poblacionales de Alemania, Corea, Holanda, Colombia, Puerto Rico, africanos-estadounidenses y caucásicos-estadounidenses<sup>52,72</sup>. Mientras que las frecuencias alélicas de los pacientes diabéticos peruanos en tratamiento de primera línea-metformina fueron

similares a las de muestras poblacionales de México, India, Japón y asiáticos-estadounidenses<sup>48,72</sup>.

El polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) ha sido asociado a la aparición de efectos secundarios gastrointestinales en población letona y debido a que OCT1 se expresa en los enterocitos se ha propuesto que las variantes en el gen SLC22A1 que lo codifica pueden afectar la absorción intestinal de metformina lo que induce los efectos secundarios gastrointestinales y además se ha propuesto como mecanismo de intolerancia a la metformina el aumento local de las concentraciones de metformina en el intestino<sup>10</sup>. También se propone que el SNP Val408Met tiende a disminuir la expresión del ARNm de OCT1 en los enterocitos, lo que conduce a una disminución de la absorción de metformina intestinal y esto genera su acumulación<sup>14</sup>. Aunque la fisiopatología de la intolerancia gastrointestinal inducida por metformina no está definida, se ha propuesto que la acumulación de metformina en el intestino puede estimular la secreción intestinal de serotonina y la malabsorción de sales biliares<sup>13,74</sup>. La inserción de 8 pares de bases (rs36056065) en el gen SLC22A1 (OCT1) también ha sido asociada significativamente con la aparición de efectos secundarios gastrointestinales en población letona, pero no se encontró asociación con la delección M420del ni con el polimorfismo 181C>T (rs122083571)<sup>11</sup>. Mientras que en otras poblaciones la delección M420del y el polimorfismo 181C>T (rs122083571) sí han sido asociadas con la aparición de efectos secundarios gastrointestinales<sup>14</sup>. Lo que demuestra los diferentes efectos que tienen las variaciones genéticas del gen SLC22A1 en distintas poblaciones.

Se ha propuesto que las variantes del gen SLC22A1 (OCT1) disminuyen la absorción hepática de metformina lo que conduciría a una menor respuesta a la metformina, sin embargo, en un estudio in vitro, el polimorfismo Val40Met mostró una absorción normal de metformina<sup>75</sup>. Lo que concordaría con las investigaciones realizadas sobre el polimorfismo Val408Met en población iraní, caucásica y japonesa, las cuales demostraron que no había asociación entre este polimorfismo y la respuesta a la metformina<sup>6,9,10</sup>. Sin embargo, en pacientes diabéticos mexicanos en tratamiento con metformina, se encontró que el genotipo AA del polimorfismo Val408Met estuvo relacionado con un

incremento en los niveles de A1C, es decir disminuyó la respuesta de los pacientes diabéticos a metformina<sup>7</sup>. Lo contrario sucedió en pacientes diabéticos chinos Han en tratamiento con metformina que presentaron el genotipo AA del polimorfismo Val408Met mostraron una reducción significativamente mayor en A1C, en comparación con los que presentaron los otros genotipos<sup>8</sup>. Lo que indica que si bien los genotipos y alelos del polimorfismo Val408Met no se han asociado con la respuesta a metformina en algunas poblaciones, en otras poblaciones se han asociado con efectos positivos y negativos sobre la respuesta a la metformina<sup>14</sup>.

Es necesario realizar más estudios para comprobar si existe asociación entre el polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) con la variación de la farmacocinética, respuesta a metformina y efectos secundarios gastrointestinales en los pacientes diabéticos, por lo que existe la posibilidad de que este polimorfismo pueda ser una variante farmacogenética útil en la toma de decisiones terapéuticas para los pacientes peruanos con DMT2.

## VII. CONCLUSIONES

1. Las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) de los pacientes estudiados DMT2 en tratamiento de primera línea - metformina fueron 76.92 % para el genotipo homocigoto silvestre (GG), 18.46 % para el genotipo heterocigoto (GA) y 4.62 % para el genotipo homocigoto mutante (AA).
2. Las frecuencias alélicas del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) de los pacientes estudiados con DMT2 en tratamiento de primera línea - metformina fueron de 86.15% para el alelo G y 13.85% para el alelo A.
3. La comparación de los pacientes con DMT2 en tratamiento de primera línea - metformina con las muestras de Lima-ciudad, Lima-PEL (proyecto 1000 genomas), Puno-Uros, Puno-Taquile y Puno-Amantani, muestran diferencias significativas con genotipos de Puno-Taquile (modelo codominante,  $p=0.035$ ; modelo dominante,  $p=0.008$ ) y con los alelos de Puno-Uros ( $p=0.047$ ) y Puno-Taquile ( $p=0.004$ ).

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Continuar la investigación con el fin de determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1) con un mayor número de muestras de pacientes diabéticos y de diferentes regiones del Perú, clasificándolos en pacientes que respondieron y que no respondieron al tratamiento.
2. Estudiar la distribución de otros polimorfismos en el gen SLC22A1 (OCT1) que han sido asociados con la baja respuesta de los pacientes diabéticos al tratamiento con metformina y a la aparición de efectos secundarios gastrointestinales en otras poblaciones del mundo. Todo ello con el fin de determinar si existe una asociación del polimorfismo Val408Met en el gen SLC22A1 (OCT1).
3. Investigar otros polimorfismos en otros genes en pacientes peruanos con diabetes mellitus tipo 2 en la primera línea de tratamiento, con una menor respuesta de los pacientes al fármaco metformina y con la aparición de efectos secundarios gastrointestinales durante el tratamiento.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Escobar F, Tebar F. La diabetes mellitus en la práctica clínica [Libro electrónico]. España: Editorial Médica Panamericana; 2009[Citado 10 Sep 2020].pp.47-54. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=m8dcQYBF3UQC&printsec=frontcover&d#v=onepage&q&f=false>
2. Arce M.Endocrinología [Libro electrónico].España:Universidad Santiago de Compostels; 2006 [Citado 10 Sep 2020].pp.274. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=wXVb4jwwU-oC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=wXVb4jwwU-oC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false).
3. Federación Internacional de Diabetes. Atlas de la Diabetes de la FID, 9ª ed. [Internet]. Bruselas,Bélgica: Federación Internacional de Diabetes; 2019 [Citado 10 Sep 2020]. Disponible en: <https://www.diabetesatlas.org>.
4. Ritter J, Flower R, Henderson G, Loke YK, MacEwan D, Rang H. Rang y Dale. Farmacología[Libro electrónico].9ª ed. España: Elsevier; 2020 [Citado 10 Sep 2020].pp.415-416. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=78nSDwAAQBAJ&pg=PA416&dq=metformina+usos&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjM\\_8\\_u8ZXoAhXuH7kGHZuLCt4Q6AEIOTAC#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=78nSDwAAQBAJ&pg=PA416&dq=metformina+usos&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjM_8_u8ZXoAhXuH7kGHZuLCt4Q6AEIOTAC#v=onepage&q&f=false).
5. Gong L, Goswami S, Giacomini KM, Altman R, Klein T. Metformin pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics*.2012; 22(10):820-827.
6. Chen L, Takizawa M, Chen E, Schlessinger A, Segenthelar J, Choi J, Sali A,Kubo M, Nakamura S, Iwamoto Y, Iwasaki N, Giacomini K. Genetic polymorphisms in organic cation transporter 1 (OCT1) in chinese and japanese populations exhibit altered function. *J Pharmacol Exp Ther* 2010, 335(1): 42-50.
7. Reséndiz C, Flores E, Suárez F, Cruz M, Valladares A, Del Carmen L, Vázquez M, Wachter N, Gómez J. Altered glycemic control associated with polymorphisms in the SLC22A1 (OCT1) gene in a mexican population with type 2 diabetes mellitus treated with metformin: A cohort study. *J Clin Pharmacol*. 2019, 59(10): 1384-1390.
8. Zhou Y, Ye W, Wang Y, Jiang Z, Meng X, Xiao Q, Zhao Q, Yan J. Genetic variants of OCT1 influence glycemic response to metformin in Han Chinese patients with type-2 diabetes mellitus in Shanghai. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015, 8(8):9533-42.
9. Becker M, Visser L, Van Schaik R, Hofman A, Uitterlinden A, Stricker B.

Genetic variation in the organic cation transporter 1 is associated with metformin response in patients with diabetes mellitus. *Pharmacogenomics J.* 2009, 9(4):242–247.

10. Shokri F, Ghaedi H, Hamid F, Fard SG, Movafagh A, Abediankenari S, et al. Impact of ATM and SLC22A1 polymorphisms on therapeutic response to metformin in Iranian diabetic patients. *Int J Mol Cell Med.* 2016 Winter;5(1):1-7.
11. 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(9):659-66.
12. Pawlyk A, Giacomini K, McKeon C, Shuldiner A, Florez J. Metformin pharmacogenomics: current status and future directions. *Diabetes.* 2014;63(8):2590-9.
13. Bouchoucha M, Uzzan B, Cohen R. Metformin and digestive disorders. *Diabet Metab.* 2011;37(2):90-96.
14. Mofo Mato EP, Guewo-Fokeng M; Essop MF, Owira PMO. Genetic polymorphisms of organic cation transporter 1 (OCT1) and responses to metformin therapy in individuals with type 2 diabetes: A systematic review. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(27):e11349.
15. Olivares L, Villanueva M, Aparicio E, Yauri A, Medina R, De la Sota N, et al. Polimorfismo Val/Met en gen OCT1 de respuesta a metformina en muestras de Lima y Puno. Enfoque farmacogenético de la diabetes. *An Fac med.* 2017;78:126–131.
16. Grossman S, Mattson C. Porth's pathophysiology: Concepts of altered health state. 9<sup>th</sup> ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins;2013.
17. Díaz L, Delgado E. Diabetes mellitus. Criterios diagnósticos y clasificación. Epidemiología. Etiopatogenia. Evaluación inicial del paciente con diabetes. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado.* 2016;12(17):935-946.
18. Graham G, Punt J, Arora M, Day R, Doogue M, Duong J K, et al. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin. Pharmacokinet.* 2011;50(2):81-98.
19. Petrovick GF. Type 2 diabetes mellitus and metformin hydrochloride usage: a short review. *J Pharmacol Ther Res.* 2018;2(2):6-9.
20. DrugBank. Metformin.[Internet]. 2005 [Accedido 14 April 2021]. Disponible en: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00331>.
21. Markowicz M, Huttunen KM, Mateusiak L, Mikiciuk-Olasik E, Sikora J. Is metformin a perfect drug? Updates in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Curr Pharm Des.* 2017;23(17):2532-2550.

22. Florez JC. The pharmacogenetics of metformin. *Diabetologia*. 2017;60(9):1648–1655.
23. McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*. 2016;59(3):426-35.
24. Riedmaier AE, Fisel P, Nies AT, Schaeffeler E, Schwab, M. Metformin and cancer: from the old medicine cabinet to pharmacological pitfalls and prospects. *Trends Pharmacol Sci*. 2013;34(2):126-35.
25. Scheen AJ. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*. 1996;30(5):359-71.
26. Cetin M, Sahin S. Microparticulate and nanoparticulate drug delivery systems for metformin hydrochloride. *Drug Deliv*. 2016;23(8):2796–2805.
27. Cheng CL, Yu, Lawrence X, Lee HL, Yang CY, Lue CS, Chou CH. Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet. *Eur J Pharm Sci*. 2004;22(4):297-304.
28. Chhetri HP, Thapaa P, Schepdaelb AV. Simple HPLC-UV method for the quantification of metformin in human plasma with one step protein precipitation. *Saudi Pharma J*. 2014;22(5):483-487.
29. Pu R, Shi D, Gan T, Ren X, Ba Y, Huo Y, et al. Effects of metformin in obesity treatment in different populations: a meta-analysis. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2020(11):2042018820926000.
30. Siavash M, Tabbakhian M, Sabzghabae AM, Razavi N. severity of gastrointestinal side effects of metformin tablet compared to metformin capsule in type 2 diabetes mellitus patients. *J Res Pharm Pract*. 2017;6(2):73–76.
31. DeFronzo RA. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 1999;131(4):281-303.
32. Nigam SK. What do drug transporters really do?. *Nat Rev Drug Discov*. 2015;14(1):29-44.
33. Koepsell H. The SLC22 family with transporters of organic cations, anions and zwitterions. *Mol Aspects Med*. 2013;34(2-3):413-35.
34. Benjeddou M. Solute carrier transporters: Pharmacogenomics research opportunities in Africa. *Afr. J. Biotechnol*. 2010;9(54):9191-9195.
35. Sambol NC, Chiang J, O'Conner M, Liu CY, Lin ET, Goodman AM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin in healthy subjects and patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Pharmacol*. 1996;36(11):1012-21.
36. Misra A. Challenges in delivery of therapeutic genomics and proteomics. USA: Elsevier; 2011.

37. Alsanosi SM, Skiffington C, Padmanabhan S. Pharmacokinetic Pharmacogenomics. En: Padmanabhan S. Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine. 1<sup>st</sup> ed. USA: Elsevier; 2014. pp. 341-364.
38. Koepsell H. Organic cation transporters in health and disease. *Pharmacol Rev.* 2020;72(1):253-319.
39. Nies AT, Koepsell H, Damme K, Schwab M. Organic cation transporters (OCTs, MATEs), in vitro and in vivo evidence for the importance in drug therapy. *Handb Exp Pharmacol.* 2011;(201):105-67.
40. Lozano E, Herraes E, Briz O, Robledo V, Hernandez J, Gonzalez A, et al. Role of the plasma membrane transporter of organic cations OCT1 and its genetic variants in modern liver pharmacology. *Biomed Res Int.* 2013;2013:692071.
41. Floerl S, Kuehne A, Hagos Y. functional and pharmacological comparison of human, mouse, and rat organic cation transporter 1 toward drug and pesticide interaction. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6871.
42. Dakal TC, Kumar R, Ramotar D. Structural modeling of human organic cation transporters. *Comput Biol Chem.* 2017;68:153-163.
43. Geschwind H, Paulson H, Klein C. Handbook of clinical neurology Vol. 147. Elsevier: USA;2018.
44. Bardal S, Waecher J, Martin D. Applied pharmacology. Elsevier: USA; 2011.
45. Brunton L, Laz Jo, Parker K. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 11<sup>th</sup> ed. USA: McGraw Hill Professional; 2005.
46. Francis YW, Scott S. Pharmacogenomics. [Libro electrónico]. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Elsevier. 2008 [Citado 18 Feb 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/pharmacogenomics/lam/978-0-12-812626-4>.
47. Mathuba B, Koromina M, Mitropoulou C, Patrinos GP. Catalyzing clinical implementation of pharmacogenomics and personalized medicine interventions in Africa. *Pharmacogenomics.* 2020;22(2):115-122.
48. Umamaheswaran G, Praveen RG, Arunkumar AS, Das AK, Shewade DG, Adithan C. Genetic analysis of OCT1 gene polymorphisms in an Indian population. *Indian J Hum Genet.* 2011;17(3):164-168.
49. Borra SS, Chebrolu B, Thotakura P, Joice SBJ, Palanimuthu VR, Krishnamoorthy SG, et al. Prevalence of OCT1 (rs628031) genetic polymorphism in south Indian population. *J App Pharm Sci.* 2021;11(10):035-041.
50. Kerb R, Brinkmann U, Chatskaia N, Gorbunov D, Gorboulev V, Mornhinweg E, et al. Identification of genetic variations of the human organic cation


- transporter hOCT1 and their functional consequences. *Pharmacogenetics*. 2002;12(8):591-5.
51. Venkatachalapathy P, Padhilahouse S, Sellappan M, Subramanian T, Kurian SJ, Miraj SS, et al. Pharmacogenomics and personalized medicine in type 2 diabetes mellitus: Potential implications for clinical practice. *PGPM*. 2021;14:1441-1455.
  52. Galicia U, Benito A, Jebari S, Larrea A, Siddiqi H, Uribe K, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):6275.
  53. Pérez F. Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Clin Condes*. 2009;20(5):565-571.
  54. Pérez M, De Ita D, Díaz M. Glucogénesis: Una visión contemporánea de una vía metabólica antigua. *REB*. 2012;31(1):10-20.
  55. Vial G, Detaille D, Guigas B. Role of Mitochondria in the Mechanism(s) of Action of Metformin. *Front Endocrinol*. 2019;10:294.
  56. Rena G, Pearson E, Sakamoto K. Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights?. *Diabetologia*. 2013;56(9):1898–1906.
  57. Garcia D, Shaw RJ. AMPK: mechanisms of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance. *Mol Cell*. 2017;66(6):789.
  58. Song A, Zhang C, Meng X. Mechanism and application of metformin in kidney diseases: an update. *Biomed Pharmacother*. 2021;138:111454.
  59. Pernicova I, Korbonits M. Metformin—mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10:143–156.
  60. Pryor R, Cabreiro F. Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets. *Biochem J*. 2015;471(Pt 3):307-322.
  61. Semiz S, Dujic T, Causevic A. Pharmacogenetics and personalized treatment of type 2 diabetes. *Biochem Med*. 2013; 23(2):154–171.
  62. Tzvetkov MV, Vormfelde SV, Balen D, Meineke I, Schmidt T, Sehr 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(3):299-306.
  63. Todd JN, Florez JC. An update on the pharmacogenomics of metformin: progress, problems and potential. *Pharmacogenomics*. 2014;15(4):529-39.
  64. Gomez C, Hernandez G, Rojas A, Santacruz H, Uribe M. Psiquiatría clínica: diagnóstico y tratamiento en niños, adolescentes y adultos. Colombia: Ed. Médica Panamericana; 2008.
  65. Nature Education. Genotype. [Internet]. 2014 [Citado 12 Sep 2020].

Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/definition/genotype-234/>.

66. Fernández S, Cordero JM, Córdoba A. Estadística Descriptiva. 2ª ed. España: ESIC Editorial; 2002.
67. 1000 Genomes Project. [Internet]. Disponible en: <http://www.internationalgenome.org/data>.
68. Aidar M, Peres S. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J*. 2007;18(2):148-152.
69. Lessa E. Guía de estudio de genética de poblaciones [Internet]. Montevideo: Universidad de la República de Uruguay, Laboratorio de Evolución de la Facultad de Ciencias;2014 [Consultado 21 de Mayo 2021]. Disponible en: <http://evolucion.fcien.edu.uy/Lecturas/GuiaGP2005.pdf>.
70. Paredes M, García W, Lizaraso F, Padilla C, Torres D, Calderón J, et al. Análisis de asociación genética entre el SNP RS914458 del gen proteína tirosina fosfatasa no receptor tipo 1 (ptpn1) y diabetes tipo 2 en población peruana. *Horiz Med*. 2014;14(4):31-36.
71. Flores E, Burguete AI, Salazar E. Diseños de investigación en epidemiología genética. *Rev Panam Salud Pública*. 2012;31:88-94.
72. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit*. 2005;19(4):333-341.
73. Sandoval JR, Salazar A, Acosta O, Castillo W, Fujita R, Pena S, et al. Tracing the genomic ancestry of Peruvians reveals a major legacy of pre-Columbian ancestors. *J Hum Genet*. 2013;58(9):627-634.
74. Dujic T, Zhou K, Donnelly LA, Tavendale R, Palmer C, Pearson EW. Association of organic cation transporter 1 with intolerance to metformin in type 2 diabetes: a GoDARTS study. *Diabetes*. 2015;64(5):1786-1793.
75. 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(5):1422-1431.

## IX. ANEXOS

### IX.1 Anexo. Consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética en Investigación Médica del Hospital Nacional Dos de Mayo

		
---	---	---

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL, PARA LA REALIZACIÓN DE LA TESIS DE INVESTIGACIÓN TITULADA: "FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO MET420DEL EN EL GEN SLC22A1 Y SU IMPLICANCIA EN EL TRATAMIENTO CON METFORMINA EN PACIENTES DIABÉTICOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO ENTRE ENERO Y MARZO DEL 2019"**

Usted es un paciente perteneciente al servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo, el cual cumple con los criterios de inclusión descritos en el presente estudio.

Se desea realizar otros estudios más completos con una amplia gama de genes para determinar la relación entre variaciones en estos con la respuesta a fármacos (Farmacogenómica) en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2, con la finalidad de tener una mejor comprensión su influencia en el tratamiento de la enfermedad y permitir la optimización del mismo, por lo que la muestra donada será almacenada en el banco de muestras de ADN del laboratorio GENOBIDC de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos durante un año, para los fines antes mencionados.

Su participación es confidencial, las muestras pasan a ser codificadas luego de ser colectadas. Sus datos personales, así como la muestra donada, tendrán un código y no su nombre.

La donación de su muestra no implica compensación económica sobre los posibles resultados derivados de esta investigación, así como ud tampoco realizara ningún pago por el procedimiento

**DECLARACION**

Yo, \_\_\_\_\_, identificado con DNI No. \_\_\_\_\_ declaro que he sido informado(a) por el investigador acerca de mi participación en el estudio, he tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias, estoy satisfecho (a) con las explicaciones recibidas y doy voluntariamente mi consentimiento para:

**1. Que mi muestra sea guardada en el banco de muestras de ADN del laboratorio GENOBIDC de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para ser utilizado en otros estudios genéticos relacionados a susceptibilidad a enfermedades y a la respuesta a fármacos (Farmacogenómica) del tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2.**

SI

NO

		
---	---	---

*Si usted no está de acuerdo en permitir el almacenamiento de su muestra de hisopado bucal para estudios posteriores, solo se utilizara en el presente estudio*

Firma: \_\_\_\_\_

Investigador que toma el Consentimiento

\_\_\_\_\_ DNI \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_