

UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUAN BAUTISTA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



**RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO MET420DEL DEL GEN
SLC22A1 Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON METFORMINA EN
PACIENTES DIABÉTICOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO
EN EL PERIODO DE ENERO A MAYO DEL 2019**

TESIS

PRESENTADA POR BACHILLER

MEDINA ANDRADE DANICA YUSSARA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO CIRUJANO

LIMA -PERÚ

2020

ASESOR

M.C. ROY MARTIN ANGULO REYES

AGRADECIMIENTO

A Dios y a mi familia por siempre apoyarme
y darme fuerzas para lograr mis objetivos

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios y mi familia.

RESUMEN

OBJETIVO: Determinar la relación entre el polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de enero a mayo del 2019.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio no experimental, descriptivo-correlacional, prospectivo, de corte transversal. La población estuvo constituida por 120 pacientes con diabetes mellitus 2 del servicio de Endocrinología en el Hospital Nacional Dos de Mayo que cumplieron con los criterios de inclusión, exclusión, y aceptaron firmar el consentimiento informado para la toma de muestra de hisopado bucal. La presencia del polimorfismo fue determinada en los pacientes mediante la técnica de PCR-RFLP, con ADN extraído a partir de hisopado bucal. Finalmente se realizó análisis documental, cuyo instrumento fue la ficha de recolección de datos.

RESULTADO: Se encontró que 55 de los 120 pacientes presentaron el polimorfismo met420del (45.8%), de los cuales 34 no respondieron al tratamiento (59.6%). Al usar la prueba estadística no paramétrica de chi-cuadrado se determinó que existe relación entre el polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina siendo significativa con un valor de p menor a <0.05 ($p = 0.004$).

CONCLUSIONES: EL presente estudio demostró para nuestra población que el polimorfismo met420del tiene relación sobre la respuesta al tratamiento con metformina, por lo cual se debería tener en consideración para otros estudios que permitan establecer una dosis adecuada para pacientes que porten la mutación estudiada para poder así, dar un tratamiento personalizado y más eficaz, consiguiendo prevenir las complicaciones macro y microvasculares a largo plazo.

Palabras clave : Diabetes Mellitus 2, Met420del, *SLC22A1*, Metformina.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the relationship between Met420del polymorphism of the *SLC22A1* gene and metformin response in diabetic patients of Dos de Mayo National Hospital in the period from January to May 2019.

MATERIALS AND METHODS: Non-experimental, descriptive-correlational, prospective, cross-sectional study. The population consisted of 120 patients with diabetes mellitus 2 of the Endocrinology service at the Dos de Mayo National Hospital that fulfill the inclusion and exclusion criteria, and agreed to sign the informed consent for the oral swab sampling. The presence of the polymorphism was determined in patients by PCR-RFLP, with the DNA extracted from oral swab. Finally, documentary analysis was carried out, whose instrument was the data collection form.

RESULT: It was found that 55 of the 120 patients had the met420del polymorphism (45.8%), of which 34 did not respond to treatment (59.6%). Using the non-parametric chi-square statistical test, it was determined that there is a relationship between the Met420del polymorphism of the *SLC22A1* gene and the response to metformin treatment being significant with a p value less than 0.05 ($p = 0.004$).

CONCLUSIONS: The present study showed for our population that met420del polymorphism is related to the response to metformin treatment, so it will be taken into consideration for other studies that an adequate dose will be established for patients who carry the mutation studied to be able to , give a personalized and more effective treatment, managing to avoid long-term macro and microvascular complications.

Keywords: Diabetes Mellitus 2, Met420del, *SLC22A1*, Metformina.

INTRODUCCIÓN

La presente investigación busca encontrar la relación entre el polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de enero a mayo del 2019.

En el Capítulo I: Se presenta el planteamiento del problema, la justificación el objetivo general, los cuales explican la finalidad del estudio, asimismo se detalla la delimitación del área de estudio y el propósito del trabajo.

En el Capítulo II: Se constituye por el marco teórico donde se denota los antecedentes, bases teóricas, marco conceptual que sirven de cimiento para la investigación, además se define a las variables de estudio, de modo que el conglomerado final permite proponer la hipótesis.

En el Capítulo III: Se expone la metodología de investigación, se precisa la población y muestra, también se explica sobre las técnicas e instrumentos de recolección de datos procesamiento y análisis de datos.

En el Capítulo IV: Se exhibe el análisis de los resultados y se plantea la discusión comparando los resultados obtenidos con los de otros autores.

En el Capítulo V: Se finaliza el trabajo de investigación presentando las conclusiones con sus respectivas recomendaciones.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	I
ASESOR	II
AGRADECIMIENTO.....	III
DEDICATORIA.....	IV
RESUMEN.....	V
ABSTRACT	VI
INTRODUCCIÓN.....	VII
ÍNDICE	VIII
LISTA DE TABLAS.....	X
LISTA DE ANEXOS	XI
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2.1. GENERAL	2
1.3. JUSTIFICACIÓN	2
1.4. DELIMITACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO.....	4
1.5. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.6. OBJETIVOS.....	4
1.6.1. GENERAL	4
1.7 PROPÓSITO	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	6
2.2. BASES TEORICAS	11
2.3 MARCO CONCEPTUAL.....	15
2.4 HIPÓTESIS	16
2.5 VARIABLES.....	16
2.3. DEFINICIÓN OPERACIONAL DE TÉRMINOS	17
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	18
3.1. DISEÑO METODOLÓGICO.....	18
3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	18
3.1.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN	18

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	19
3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	20
3.4. DISEÑO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	20
3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	23
3.6. ASPECTOS ÉTICOS	24
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	25
4.1. RESULTADOS	25
4.2. DISCUSIÓN	27
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	30
5.1 CONCLUSIONES.....	30
5.2 RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXOS	35
ANEXO N° 1 OPERALIZACIÓN DE VARIABLES	36
ANEXO N ° 2 INSTRUMENTO	38
ANEXO N° 3 VALIDEZ DE INSTRUMENTO – CONSULTA EXPERTO	39
ANEXO N ° 4 MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	42
ANEXO N ° 5 PROCEDIMIENTO PARA DETECTAR EL POLIMORFISMO MET420DEL	45

LISTA DE TABLAS

TABLA N° 1. Relación entre el polimorfismo met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina pacientes diabéticos del hospital nacional dos de mayo en el periodo de enero a mayo del 2019.....24

TABLA N° 2. Prueba no paramétrica de chi-cuadrado.....25

LISTA DE ANEXOS

Anexo n°1 Operacionalización de variables.....	35
Anexo n°2 Instrumento	37
Anexo n°3 Validez de instrumento – Consulta a experto.....	40
Anexo n°4 Matriz de consistencia	41
Anexo n °5 Procedimiento para detectar el polimorfismo Met420del	42

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diabetes es un problema de salud creciente a nivel mundial. Se calcula que existen más de 170 millones de personas que la padecen, y posiblemente esta cifra se habrá duplicado en 2030. En el Perú, cerca del 7% de la población padece diabetes¹. Cifra que se ha duplicado desde el 2011, en el que la prevalencia era del 3,3%².

El tratamiento de primera línea para la diabetes tipo 2 es la metformina. Sin embargo, cerca del 35% de pacientes tratados con metformina en monoterapia no responden de manera adecuada al tratamiento, debiéndose adicionar otros fármacos para controlar los niveles altos de glucosa³.

Esto puede ser debido a varios factores, siendo el factor genético, uno de los más determinantes ya que variantes en genes responsables del transporte, metabolismo del fármaco influyen directamente sobre su farmacocinética y farmacodinamia, modificando la respuesta en el tratamiento y/o seguridad del mismo. Uno de estos es el gen *SLC22A1*, cuya función es transportar la metformina al interior de las células, en donde realiza su acción antihiperглиcemiante. Existen diversas variantes en este gen que han sido reportadas, algunas de las cuales reducen su capacidad de transportar la metformina eficientemente lo que causa que, no pueda ejercer su acción como normalmente debería⁴.

El conocimiento de las variantes existentes en cada población es de importancia clínica para poder determinar aquellas que posiblemente afecten el tratamiento con metformina, como el polimorfismo Met420del, mencionado en estudios farmacocinéticos donde reduce

su actividad en aproximadamente un 60% para los sustratos metformina y morfina^{5,6}, además de ser la más frecuente en las poblaciones estudiadas^{5,7}.

En consecuencia, es necesario determinar si existe relación entre la presencia del polimorfismo met420del en nuestra población y la respuesta en el tratamiento antihiper glucémico con Metformina en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, para así poder decidir si será necesario realizar un genotipado a los pacientes previo al inicio del tratamiento farmacológico con la finalidad de dar un tratamiento personalizado y más eficiente, mejorando la calidad de vida del paciente.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. GENERAL

¿Se encontrará relación entre el polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de mayo en el periodo de enero a mayo del 2019?

1.3. JUSTIFICACIÓN

Justificación teórica

Se ha demostrado que polimorfismos el gen *SLC22A1*, transportador de la metformina, alteran su farmacocinética y farmacodinámica, afectando la concentración plasmática y efectividad del fármaco. El presente trabajo busca contribuir con líneas de investigación en torno al desarrollo de un tratamiento óptimo para la diabetes mellitus, con el objetivo de determinar la relación entre el polimorfismo Met420del y

la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos para la implementación de un tratamiento más personalizado.

Justificación Práctica

Esta información sería de utilidad para los endocrinólogos, ya que permitiría mejorar el esquema de tratamiento de una de las principales enfermedades que causan discapacidad en el mundo a causa de las complicaciones a nivel multiorgánico; la diabetes mellitus tipo 2, la cual solo tiene tratamiento de control (normoglicemia). Se lograría esto mediante la genotipificación de los pacientes para así estratificar a la población y determinar previo al inicio del tratamiento, si se encuentra presente el polimorfismo met420del para poder optimizar la dosis o comenzar el tratamiento con insulina u otros fármacos de forma inmediata, logrando así una intervención anticipada en este grupo, consiguiendo un control más efectivo de la enfermedad, evitando la progresión de la misma.

Justificación metodológica

La presente investigación hará uso de técnicas estandarizadas previamente y usadas de rutina por investigadores y también por laboratorios de diagnóstico, lo cual garantiza su precisión para la genotipificación de los pacientes y el análisis estadístico posterior y la validez de los datos obtenidos.

Justificación socioeconómica

Los diabéticos que no presentan complicaciones originan sólo una mínima parte del gasto total por paciente, mientras que los que

presentan algún tipo de complicación (micro, macrovascular o ambas) suponen un gasto mucho mayor según el tipo de complicación presentada, la cual será crónica a lo largo de la vida del mismo, por tanto, es alto el costo beneficio del genotipado del paciente, ya que permitirá dar un tratamiento más efectivo y seguro y evitar en gran medida la aparición de complicaciones tempranas asociadas a la enfermedad.

1.4. DELIMITACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO

Delimitación Espacial: Hospital Nacional Dos de Mayo Av. Miguel Grau 13, Cercado de Lima 15003.

Delimitación Temporal: Enero-Mayo 2019.

Delimitación social: Pacientes con DM2 del servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo

Delimitación Conceptual: Pacientes con DM2 que reciben tratamiento con metformina que han sido recientemente diagnosticados.

1.5. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Posible presencia de otros polimorfismos, no detectados en el estudio que influyan sobre el efecto de la metformina en los pacientes.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. GENERAL

Determinar la relación entre el polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de enero a mayo del 2019.

1.7 PROPÓSITO

Determinar la relación entre el polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos, para así contribuir con líneas de investigación futuras en cuanto a un tratamiento más eficaz.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

ANTECEDENTES NACIONALES

Olivares L. 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(2):126-131.⁸

Determinan la frecuencia de la mutación Val408Met, en el gen *SLC22A1* (OCT1), en las poblaciones peruanas de Puno y Lima Metropolitana. Se reportó la frecuencia del alelo Val408 más alta a nivel mundial, con una frecuencia de 93%, existiendo diferencias entre ambas poblaciones, las implicancias de esta mutación con respecto al tratamiento con metformina aún falta ser estudiada.

ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Sur D.,(2014). “A tale of geneticvariation in the human *SLC22A1* gene encoding OCT1 amongtype 2 diabetes mellitus populationgroups of West Bengal”, India. Int Journal of Research in Applied,Natural and Social Sciences. 2014; (P): 2347-4580 Vol.2.⁹

Analizaron una población de 50 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en Bengal oeste y encontró 3 variantes previamente descritas L160F, P341L y M408V y una variación sinónima, además de 4 variantes intrónicas. Y diseño primers para los exones 1, 2, 3, 4,5 y 6, 7, 8, 9,10

y 11 además de brindar las condiciones de PCR, los cuales serán usados en este estudio.

Yang P et.al. “Efectividad de la metformina en pacientes con diabetes tipo II según variantes en el gen SLC22A1”. Acta Bioquím Clín Latinoam 2014; 48 (2): 229-35.¹⁰

Analizaron una población con diabetes de tipo 2 tratados con metformina de Cordova, Argentina y encontraron 5 polimorfismos (R61C, P341L, M420del, G401S Y G465R) antes descritos que se encontraban en equilibrio H-W, y además observaron que los individuos que presentaban las variantes R61C, G401S, M420del y G465R tuvieron niveles de HbA1c y glucemia altos, pero solo fue estadísticamente significativo para las variantes M420del y G465R. También se aplicaron la técnica de RFLP verificando que las variantes coincidían con el posterior secuenciamiento.

Chen, L., et al. “Genetic polymorphisms in organiccation transporter 1 (OCT1) in Chinese and Japanese population exhibit altered function”. J Pharmacol ExpTher 2010;335(1): 42-50.¹¹

Encontraron 6 variantes no sinónimas en OCT1 en Chinos y Japoneses de la muestra del proyecto 1000 genomas. No se encontraron las 7 variantes descritas por Song et.al., 2008. Se encontraron 4 variantes no sinónimas, e los cuales 3 no exhibían cambios en función (Shu et.a., 2007). En la muestra de 66 japoneses con diabetes tipo 2 sometidos a metformina se determinó frecuencias de 0.34 y 0.15 para las variantes -43T>G y V408M respectivamente. No se encontraron tampoco las 7

variantes descritas por Song et.al. 2008, pero si 2 SNPs no sinónimos (P117L y R206C). Determino también que las variantes Q97K, P117L y R206C tienen función reducida. Se analizó además las 3 variantes antes mencionadas y encontraron que no había selectividad de sustrato, con lo que se concluye que las variantes podrían tener un impacto universal en la unión de OCT1 al sustrato. El uso de células transfectadas con estas variantes de OCT1 demostró disminución de la toma de metformina y la fosforilación de AMPK.

Shu, Y., et al. “Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action”. J Clin Invest 2007 ; 117(5): 1422-1431.⁵

Confirmaron el efecto de la proteína OCT1 en el metabolismo de metformina. Crearon ratones knock-out homocigotos para el gen respectivo y observaron disminución de la toma de metformina en células hepáticas con respecto a ratones heterocigotos y homocigotos con el alelo silvestre. Confirmando además in vivo que OCT1 tiene efecto en la disminución de niveles de glucosa en plasma. Analizaron líneas celulares con 12 variantes no sinónimas. De las cuales, 7 tuvieron absorción disminuida de metformina. Describieron también que la variante R61C presentó un patrón difuso de localización.

Takane H, et al. “Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action”. Pharmacogenomics. 2008; 9:415–422. [PubMed: 18384255].¹²

Analizaron SSCP en 33 pacientes japoneses tratados con metformina al menos 1 mes (polimorfismo conformacional de una sola cadena)

encontrando 11 polimorfismos (ya descritos anteriormente). Describió 2 variantes: -43T>G y 1222 A>G = 408 Met>Val, esta última se encontró en mayor frecuencia en pacientes no sensibles. La variante 408G/G presentó mayor expresión que la variantes A/A aunque los valores estadísticos aun no eran significativos. La variante -43 T/T presento menor expresión con respecto a T/G y G/G. Por ellos la variante en 408 se consideró un predictor positivo y -43, negativo.

Shu, Y., et al. "Evolutionary conservation predicts function of variants of the human organic cation transporter, OCT1". Proc Natl Acad Sci USA.2003; 100(10): 5902-5907⁷.

Indican que existen cambios aminoacídicos en la proteína OCT1 que provocan una disminución de la actividad de esta. Observaron también que 5 de las 14 variantes por sustitución descritas por Leabman et.at., 2003 presentaban disminución en su actividad. Algunas variantes suelen estar acompañadas de otras variantes, lo que hace importante considerar el análisis de haplotipos.

Leabman, M. K., et al. (2003). "Natural variation in human membrane transporter genes reveals evolutionary and functional constraints". Proc Natl Acad Sci USA.2003; 100(10): 5896-5901.¹³

Analizaron 247 muestras de ADN de distintas poblaciones étnicas (americanos europeos y afroamericanos) en búsqueda de la variación genética en proteínas transportadoras humanas. Encontraron que existen diferencias en las frecuencias de algunos alelos, en donde

vieron que los americanos europeos tenían una alta frecuencia alélica a comparación de la población africana analizada, debido probablemente a un efecto “cuello de botella”. Encontraron 15 variantes de la proteína. 14 de las cuales fueron sustituciones aminoacídicas (R61C, G220V, P341L, G401S, G465R, S14F, L85F, F160L, S189L, R342H, M408V, M440I, V461I, R488M) y 1, delección de un aminoácido (M420del).

Kerb et al. “Identification of genetic variations of the human organic cation transporter hOCT1 and their functional consequences”. *Pharmacogenetics*. 2002;(12):591–595.¹⁴

Analizaron una población caucásica y encontraron 25 variaciones genéticas en OCT1, de las cuales 5 fueron sustituciones aminoacídicas y fueron caracterizadas funcionalmente demostrando que existen variantes del gen que presentan disminución en su efectividad para transportar algunos sustratos ([3H] MPP⁺, [14C]TEA y [3H]serotonina, especialmente MPP). Esta disminución no fue tan significativa en los otros sustratos, concluyendo que los cambios aminoacídicos en la proteína OCT1 provocarían efectos distintos según sea el sustrato. Además se observe que algunas mutaciones se encuentran ligadas a otras.

2.2. BASES TEORICAS

La diabetes es una enfermedad crónica que se manifiesta cuando el páncreas segrega una cantidad insuficiente de insulina o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula la captación de glucosa hacia el interior de la célula, de modo que reduce su concentración en sangre. Por consiguiente la diabetes no controlada genera un estado de hiperglucemia sostenido, que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos¹⁵.

La diabetes tipo 2 (o no insulino dependiente) es un subtipo de diabetes en la cual organismo no produce y no utiliza eficazmente la insulina. Este tipo es el más frecuente en el mundo, y afecta de igual manera a países desarrollados y en vías de desarrollo. Existen factores que predisponen a su desarrollo como por ejemplo: IMC alto, malos hábitos alimentarios y a la inactividad física. El problema radica en que se suele diagnosticarse cuando ya tiene varios años de evolución y han aparecido complicaciones en el organismo.

Los criterios diagnósticos según la ADA² son:

Glucosa en ayunas mayor o igual a 126 mg/dL

Glucosa a las 2 horas de una prueba de tolerancia mayor o igual a 200 mg/dL.

Hemoglobina glicosilada mayor o igual a 6.5%

Síntomatología de hiperglicemia o crisis hiperglicémica.

La medida de respuesta al tratamiento se evidencia mediante el monitoreo periódico de los niveles de glicemia (cantidad de glucosa en la sangre) la cual según la Asociación Americana de la Diabetes debe

encontrarse dentro de los siguientes rangos: Hemoglobina glicosilada (Hb1Ac) menor a 6.5% y glucosa plasmática preprandial entre 80 a 130 mg/dl; Glucosa plasmática postprandial: Menos de 180 mg/dl².

Se ha encontrado que por cada unidad porcentual reducida de HbA1C se evidencia una reducción de riesgo de alguna complicación de la diabetes mellitus en un 21%, como el riesgo de infarto de miocardio (14% menor) y el riesgo de complicaciones microvasculares (37% menor). Por tanto un paciente controlado según la ADA es aquel que mantiene el porcentaje de HbA1C menor a 7%.

Estudios realizados en poblaciones de diabéticos tipo 2 (ACCORD, VADT Y ADVANCE) valoraron el impacto del control de Hb1Ac en la aparición de enfermedades cardiovasculares, reportando que existe una asociación directamente proporcional entre niveles más bajos de Hb1Ac con una menor incidencia o retraso de complicaciones microvasculares, mejorando la calidad de vida del paciente¹⁶.

La metformina es un fármaco perteneciente a la familia de las biguanidas, se encuentra en la planta medicinal *Galega officinalis*, la cual era usada en la era medieval para tratar diabéticos. Actualmente es el fármaco de primera línea para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y es administrado en monoterapia o asociado a otros fármacos, dependiendo de la evolución de la enfermedad. Su acción farmacológica es a nivel hepático y de musculo esquelético. Su farmacocinética inicia con la absorción a nivel intestinal, principalmente a través de transportadores en la membrana luminal de los enterocitos, en mayor medida a través del transportador PMAT (Transportador de monoaminas), codificado por el gen SLC29A4, además el transportador OCT3 también contribuye en este papel¹⁷, por otro lado, el transportador OCT1, que se encuentra en el lado basolateral de los enterocitos, es el encargado de transportar la metformina hacia el lado

intersticial¹⁸. La absorción hepática de metformina está mediada principalmente por OCT1 (*SLC22A1*) expresada en la parte basolateral de las células hepáticas.

La distribución del fármaco es por vía sistémica, a través de la cual llega hacia los tejidos corporales, a los que ingresan a través de cationes orgánicos como el OCT1 y OCT3¹⁹.

La metformina no es metabolizada por el organismo²⁰, por lo que es eliminada en su forma original principalmente por medio de secreción tubular activa, a través del transportador catiónico OCT2¹² localizado en la membrana basolateral del túbulo distal del riñón, para luego ser excretado a la orina mediante los transportadores MATE1 y MATE-2K²¹. El promedio poblacional de aclaramiento de metformina es de 510 ± 120 ml/min.

Debido a que la metformina no se metaboliza, las interacciones medicamentosas a través de la inhibición de los transportadores de metformina (OCT y MATE) son clínicamente relevantes. Recientes estudios de interacción fármaco-fármaco sugieren que los inhibidores de la bomba de protones inhiben la captación de metformina *in vitro* mediante la inhibición de OCT1, OCT2 y OCT3²². Los medicamentos antidiabéticos orales repaglinida y rosiglitazona también inhiben el transporte de metformina mediada por OCT1 *in vitro*. El bloqueador H2 cimetidina se asocia con una reducción de la secreción tubular renal y una mayor exposición sistémica a la metformina cuando ambos fármacos se administran conjuntamente. Además, polimorfismos genéticos en los genes transportadores de la metformina también pueden tener un impacto directo en la farmacocinética de la metformina y la variabilidad en las respuestas de los fármacos, y serían la causa de su gran variabilidad interindividual en cuanto a su concentración plasmática, la cual varía de 54 a 4133 ng/mL²³.

La farmacocinética de la metformina comienza con su ingreso a las células a través de transportadores catiónicos, como el OCT1 en el

hígado y el OCT3 en músculo esquelético. Dentro de la célula, la metformina inhibe el complejo I de la cadena respiratoria de la mitocondria, por lo que los niveles de ATP disminuyen, lo que causa un aumento en el ratio AMP:ATP, activando la proteína AMPK (proteína quinasa activada por AMP). Esta proteína AMPK activada ejerce diversos efectos sobre otras proteínas encargadas de funciones celulares como gluconeogénesis, lipogénesis, ciclo celular entre otras²⁴, dando como resultado los efectos principales del fármacos, entre ellos: suprimir de la producción excesiva de glucosa hepática, a través de una reducción en la gluconeogénesis, aumento en la captación de glucosa, aumento en la señalización de insulina, una disminución en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos y un aumento en la β -oxidación de ácidos grasos. Además, la metformina también puede aumentar la utilización de glucosa en los tejidos periféricos, y posiblemente reducir la ingesta de alimentos y la absorción de glucosa intestinal. Además, al no estimular la secreción de insulina endógena, no causa hipoglucemia o hiperinsulinemia, los cuales son efectos secundarios comunes asociados con otros medicamentos antidiabéticos²⁵.

El gen *SLC22A1* se encuentra en el brazo "q" del cromosoma 6 en los humanos, y codifica para el transportador catiónico orgánico 1 (OCT1). Éste transportador es el principal encargado del transporte de metformina desde los enterocitos al espacio intersticial, por lo que está involucrado en la distribución del fármaco a los tejidos; además, este se encuentra en la membrana plasmática de las células hepáticas, siendo esencial para su ingreso, en donde la metformina ejerce su acción, por lo que es importante también para lograr los efectos terapéuticos deseados del fármaco²⁶.

Las variantes en la secuencia codificante del gen pueden alterar su función, disminuyendo la tasa de distribución del fármaco, además del

ingreso de metformina al espacio intracelular, en donde ejerce su acción, por lo que podría afectar el tratamiento antihiper glucémico. Varios autores han reportado variantes que presentan una actividad de transporte reducida, como por ejemplo las mutaciones R61C (rs12208357), G401S (rs34130495), 420del (rs142448543 o rs34305973 o rs35191146), y G465R (rs34059508), dando como resultado una respuesta pobre al fármaco²⁷.

2.3 MARCO CONCEPTUAL

Gen: Secuencia de ADN que codifica para una proteína en particular.

Polimorfismo: Variante en una secuencia de ADN.

Gen *SLC22A1*: Gen de la familia 22 de transportadores de solutos miembro A1.

Met420Del: Mutación que consiste en la delección del aminoácido Metionina (Met) en la posición 420 de la estructura primaria de la proteína.

Genotipado: Obtención del genotipo de un individuo mediante alguna técnica molecular.

Genotipo: Combinación de alelos (paterno y materno) en un locus determinado.

Alelos: Variante de un gen.

Locus: Lugar donde se ubica un gen

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, técnica en biología molecular en la cual se crean miles de copias de una región particular de una secuencia de ADN para su análisis.

PCR-RFLP: Técnica en biología molecular que combina la técnica de PCR con el uso de una enzima de restricción, la cual corta una secuencia amplificada previamente en punto específico. Se puede usar

para determinar la presencia de mutaciones en una región genética particular y determinar genotipos.

Cebador: Secuencias cortas de ADN que se unen a una región específica para que esta se pueda amplificar mediante la técnica de PCR.

Taq Polimerasa: Enzima polimerasa extraída del organismo *Thermus aquaticus* que copia una secuencia de ADN determinada.

2.4 HIPÓTESIS

H_a : Existe relación entre El polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de enero a mayo del 2019

H_o: No existe relación entre El polimorfismo Met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de enero a mayo del 2019.

2.5 VARIABLES

Variable independiente

Polimorfismo Met420del

Variable dependiente

Respuesta en el tratamiento con metformina

2.3. DEFINICIÓN OPERACIONAL DE TÉRMINOS

Variable dependiente: Respuesta al tratamiento

Evolución de la hbA1c de los pacientes con DM2 tras recibir tratamiento con Metformina.

Responde : Disminución $\geq 0.5\%$ hbA1 a los 6 meses.

No responde : Disminución $< 0.5\%$ hbA1 a los 6 meses.

Variable independiente: Polimorfismo Met420del

Variación en la secuencia de ADN del gen *SLC22A1* que conlleva a la deleción del aminoácido metionina en la posición 420 de la cadena proteica.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

No Experimental: El investigador no manipulara ninguna variable.

Descriptivo: Se observará y recolectará los resultados del control glucémico e hisopado bucal de los pacientes.

Prospectivo: Se obtendrá la información clínica a medida que se reporten los casos de diabetes tipo 2 en el servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo.

Transversal: La muestra de hisopado bucal será tomada a cada paciente en un solo momento. Los niveles de Hb1Ac se colectarán a partir de las historias clínicas.

3.1.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Correlacional: Se busca determinar si existe relación entre la presencia de polimorfismo Met420del y la respuesta al tratamiento con metformina.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: Todas los pacientes diabéticos atendidos en el servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo durante los meses de enero a mayo del año 2019.

N= 180

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes con diabetes tipo 2
- Pacientes de ambos sexos
- Pacientes mayores de 18 años
- Pacientes menores de 60 años
- Pacientes que reciban tratamiento únicamente con metformina

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes con enfermedades hepáticas
- Pacientes con enfermedades pancreáticas
- Pacientes con enfermedades renales
- Pacientes que rehúsen participar en el estudio.
- Pacientes que reciban tratamiento antidiabético con otros fármacos

POBLACIÓN OBJETIVO: Pacientes que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión.

N= 120

MUESTRA: Se ha tomado a toda la población objetivo por su limitada cantidad.

Tamaño de la muestra: 120 pacientes.

MUESTREO: No probabilístico

3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se realizó análisis documental, cuyo instrumento fue la ficha de recolección de datos, de donde se extrajeron y se ordenaron en Excel versión 19 y fueron procesados mediante el programa SPSS 25.0.

3.4. DISEÑO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se presentó el proyecto de investigación con el respectivo consentimiento informado al Comité de Ética del Hospital Nacional Dos de Mayo, donde se obtuvo la aprobación correspondiente para la realización del proyecto.

Se seleccionaron pacientes con diabetes Mellitus tipo 2 que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión los cuales fueron entrevistados en el servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo, donde se les informó sobre el trabajo de investigación, la toma de muestra, y se les preguntó si deseaban formar parte del

estudio. Los que aceptaron firmaron el consentimiento informado y se les procedió a tomar la muestra de hisopado bucal.

La toma de muestra consistió en un hisopado bucal, haciendo uso de dos hisopos estériles de la marca Affimedix. Las muestras se colocaron en un microtubo de 2 mL con solución tamponada y fueron almacenadas en un refrigerador a 4°C en el laboratorio GENOBIDC de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, hasta su uso.

Para la extracción de ADN de hisopado bucal se utilizó un protocolo convencional por Salting-Out, procedimiento que se detalla a continuación:

Se agregó al tubo 200 µL de Tritón X-100 y 20 µL de Proteinasa K (1mg/µL), luego de homogenizar las muestras se incubaron a 55 °C por 2 horas. Luego, se transfirió el lisado a un tubo nuevo estéril y se agregó 500 µL de solución de Acetato de Potasio 3M, 540 µL de etanol absoluto frío y 75 µL de NaCl 5M. Luego las muestras se colocaron a -20 °C por 1 hora y se centrifugaron a 13000 RPM por 10 min.

Se eliminó el sobrenadante y se realizaron lavados con 600 µL de etanol al 70%, después se centrifugó a 13000 RPM por 10 min, se eliminó el sobrenadante y se repitió el proceso 2 veces. Finalmente las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente, se resuspendieron en 50 µL de agua estéril y se almacenaron a -20°C.

Habiéndose obtenido el ADN de las muestras, se amplificó el exón 7 del gen *SLC22A1* utilizando los cebadores TTTCTTCAGTCTCTGACTCATGC (cebador sentido) y TCCCCACACTTCGATTGC (cebador antisentido), usando el siguiente protocolo:

Reactivo	Cantidad en μL/muestra
Agua para PCR	18.65
MgCl ₂ (25 mM)	2.5
Buffer para PCR	2.5
DNTPs	0.4
Cebador Sentido	0.4
Cebador Antisentido	0.4
Taq Polimerasa	0.15
Total	25

El termociclador fue programado tal como sigue: Denaturación por 5 min a 95°C, seguido por 35 ciclos de amplificación (1 min a 95°C, 1 min a 62°C para el annealing y 2 min a 72 °C para la extensión) y finalmente una etapa de extensión después de completar los ciclos de 10 min a 72°C.

Se realizaron electroforesis en geles de agarosa al 2% de las muestras amplificadas, las cuales se corrieron por 15 minutos a 100 V. Luego los geles se tiñieron con Safe Green y se visualizaron en un transluminador de luz azul, para evidenciar la correcta amplificación de cada muestra. Luego los productos de PCR fueron almacenadas a -20°C.

Para la determinación de los genotipos, se utilizó la enzima de restricción BspHI, que corta la secuencia de ADN amplificada en dos fragmentos en caso se encuentre el alelo normal. Los productos fueron digeridos con la enzima por 15 minutos a 37°C. Estos cuales se corrieron en geles de agarosa al 3% teñidos con Safe Green y se visualizaron en un transluminador de luz azul.

El protocolo para la digestión con la enzima de restricción BspHI es el siguiente:

Reactivos	Cantidad
Enzima de restricción	0.5 μ L
DNA	1 μ L
Buffer 10X	2 μ L
Agua libre de nucleasas	16 μ L
Volumen de reacción	50 μ L
Tiempo de incubación	15 minutos
Temperatura de incubación	37 °C

Se revisó la historia clínica de los pacientes a los 6 meses de iniciado el tratamiento, se evaluó la respuesta a metformina según el porcentaje de hemoglobina glicosilada. Con esta información la población se diferenció en dos grupos, dependiendo si responden al tratamiento con metformina (disminución $\geq 0.5\%$ hbA1 a los 6 meses) y como no respondedores (Disminución $< 0.5\%$ hbA1 a los 6 meses).

3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó el análisis descriptivo de acuerdo a las variables de estudio a través de frecuencia y porcentaje el cual será representado mediante tablas y gráficos

Se aplicó la prueba no paramétrica de chi cuadrado con la finalidad de determinar la desviación de los resultados obtenidos de los valores esperados, se ha considerado que el resultado es significativo cuando el valor de p es menor a 0.05.

3.6. ASPECTOS ÉTICOS

Durante la realización del proyecto de investigación no hubo ningún conflicto ético, todos los participantes fueron informados acerca del proyecto de investigación y firmaron el consentimiento informado dando su conformidad para su participación en el proyecto, las muestras tomadas fueron codificadas para proteger su identidad.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. RESULTADOS

TABLA N° 1

RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO MET420DEL DEL GEN SLC22A1 Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON METFORMINA PACIENTES DIABÉTICOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO EN EL PERIODO DE ENERO A MAYO DEL 2019

		RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON METFORMINA				Total	P valor
		Responde (Disminución ≥0.5% hbA1 a los 6 meses)		No responde (Disminución <0.5% hbA1 a los 6 meses)			
		n	%	N	%		
POLIMORFISMO MET420DEL	Si	21	33.3%	34	59.6%	55	0.004
	No	42	66.7%	23	40.4%	65	
Total		63	100%	57	100%	120	

Fuente: Ficha de recolección de datos

INTREPRETACIÓN

En la tabla nº 1, Se observa a los 120 pacientes evaluados en el estudio, de los cuales 63 pacientes responden al tratamiento con metformina en su contraparte a 57 pacientes que no responde al tratamiento con Metformina, del grupo de respondedores se halló que 66.7%(42) no presenta el polimorfismo met420de; así mismo del grupo de no respondedores se encontró que 59.6%(34) presenta el polimorfismo met420del.

TABLA N° 2
PRUEBA NO PARAMÉTRICA DE CHI-CUADRADO

PRUEBA NO PARAMÉTRICA DE CHI-CUADRADO		
Chi2	P valor	Significancia
8.34	0.004	Significativo

Fuente: Ficha de recolección de datos

INTREPRETACIÓN

En la tabla N°2 Se observa el valor de la prueba no paramétrica de chi2 para este estudio de 0.004 el cual es <0.05 por lo que es estadísticamente significativo demostrado que existe relación entre el polimorfismo met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina pacientes diabético.

4.2. DISCUSIÓN

Actualmente la metformina es el tratamiento de primera línea contra la diabetes mellitus de tipo 2, este fármaco es de tipo antihiper glucémico y ejerce su acción principalmente a nivel hepático¹⁷. Se ha descrito una gran variabilidad interindividual en cuanto a la eficacia de este tratamiento²⁸, reportándose concentraciones plasmáticas del fármaco de entre 33 a 4133 ng/mL²⁹ lo cual influye directamente en la biodisponibilidad del mismo, determinando si el paciente responderá o no al tratamiento. Estas variaciones pueden ser causadas, en parte, por diferencias genéticas entre los pacientes, tomando para el caso de la metformina, polimorfismos en genes responsables de su transporte al interior de las células, como el gen *SLC22A1*, el cual codifica para el transportador catiónico orgánico 1 (OCT1), expresado principalmente en los hepatocitos³⁰, donde la metformina ejerce su acción.

Diversos autores han determinado que este gen es altamente polimórfico²⁸ y estudios farmacocinéticos sugieren que algunos de ellos pueden tener un impacto significativo en cuanto al transporte para su acción farmacológica, como el polimorfismo met420del (rs202220802), el cual conlleva a la delección del aminoácido metionina en la posición 420 de la cadena primaria de la proteína.

El presente estudio se centró en el análisis del polimorfismo met420del del gen *SLC22A1* en pacientes diabéticos tratados con metformina en monoterapia ya que se ha demostrado *in vitro* que este reduce el transporte de la metformina en un 60%⁵ y según la base de datos de los 1000 genomas (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>) se encuentra en nuestra población con una frecuencia relativamente alta (0.57). Se trabajó 120 muestras de hisopado bucal de pacientes diabéticos del hospital nacional dos de mayo, los cuales se encontraban recibiendo metformina en monoterapia. Se encontró que

el 45.8% de pacientes presentaba la mutación mediante la técnica de PCR-RFLP, siguiendo el protocolo de Vitarani³¹ obteniendo adecuadamente los genotipos de los pacientes. Al hacer el análisis de correlación mediante la prueba no paramétrica de chi-cuadrado se encontró que la presencia del polimorfismo met420del tiene relación con la respuesta al tratamiento. Estudios funcionales han determinado que este polimorfismo no altera la localización subcelular del transportador ni la cantidad de ARN mensajero producido, de manera que la reducción en el transporte indicaría que este polimorfismo se encuentra localizado en una región importante para el reconocimiento del sustrato⁷, otros autores ya han reportado esta variante señalando frecuencias de alrededor de 20-25% en individuos caucásicos⁵. Estudios previos en cultivos celulares *in vitro* demostraron años anteriores que la tasa de transporte es disminuida por este polimorfismo, y al analizar pacientes diabéticos con la mutación se demostró que presentan niveles más altos de Hb1Ac.¹⁰

Los pacientes son constantemente monitoreados para poder determinar su respuesta al tratamiento antihiper glucémico, a través del control mensual de glucosa en ayunas y de hemoglobina glicosilada cada trimestre. Al no haber respuesta se les aumenta la dosis, empíricamente cuando ya ha pasado un tiempo con niveles altos de glucosa, lo que los predispone a desarrollar complicaciones microvasculares y macrovasculares tempranas.

La estandarización de las dosis de medicamentos, como la metformina, se realizan generalmente con poblaciones europeas (caucásicos), los cuales tienen una composición genética diferente a la de poblaciones latinas como la nuestra, el presente estudio determinó que el polimorfismo met420del se encuentre en una frecuencia alta en nuestra población, por lo que es de importancia, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, considerar esta para

poder realizar una optimización de la dosis de metformina en los pacientes que sean portadores de la mutación, para así poder mejorar la eficacia del tratamiento y que este sea más seguro.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Se encontró la presencia del polimorfismo met420del en un 45.8% de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, dicho porcentaje nos expresa un valor considerable de frecuencia del polimorfismo en nuestra población de estudio.

Se ha demostrado que existe relación entre el polimorfismo met420del del gen *SLC22A1* y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos.

5.2 RECOMENDACIONES

En esta investigación se ha analizado el polimorfismo del gen *SLC22A1* el cual codifica un transportador que se encuentra principalmente a nivel hepático, sin embargo existen otros transportadores a nivel renal e intestinal que también participan en la farmacocinética y farmacodinámica de la metformina por lo que sería de importancia clínica detectar la presencia de otros polimorfismos, incluyendo un tamaño de muestra mayor en diversas regiones del país con el objetivo de obtener resultados que sean representativos de nuestra población.

Se debe continuar la línea de investigación realizando ensayos clínicos que permitan establecer una dosis adecuada para los pacientes que porten el polimorfismo met420del del gen *SLC22A1*, y poder avanzar hacia la medicina del futuro en la cual se pueda realizar un genotipado previo al inicio del tratamiento para poder así ofrecer al paciente un tratamiento personalizado, seguro y sobretodo eficaz, para reducir la aparición temprana de complicaciones macro y microvasculares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Seclén S, Rosas M, Arias A, Huayta E. Prevalence of type 2 diabetes in Perú: First-wave prevalence report from PERUDiab, a population-based threewave longitudinal study in press. 2015.
2. Asociación latinoamericana de Diabetes (ALAD). Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia . Edición 2013.
3. Pawlyk A., Giacomini K., McKeon C., Shuldiner A., Florez J. Metformin Pharmacogenomics: Current status and future directions. *Diabetes* 2014; 63:2590-2599.
4. Tzvetkov MV, Vormfelde SV, Balen D, Meineke I, Schmidt T, Sehr D, Sabolić I, Koepsell H, Brockmüller J. The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters OCT1, OCT2, and OCT3 on the renal clearance of metformin. *Clin Pharmacol Ther.* 2009 Sep; 86(3):299-306
5. Shu, Y., et al. (2007). "Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action." *J Clin Invest* 117(5): 1422-1431.
6. Tzvetkov, M.V., dos Santos Pereira, J.N., Meineke, I., Saadatmand, A.R., Stingl, J.C. and Brockmoller, J., 2013. Morphine is a substrate of the organic cation transporter OCT1 and polymorphisms in OCT1 gene affect morphine pharmacokinetics after codeine administration. *Biochem Pharmacol* 86, 666-78.
7. Shu, Y., et al. (2003). "Evolutionary conservation predicts function of variants of the human organic cation transporter, OCT1." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(10): 5902-5907.
8. Olivares L. 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(2):126-1318.

9. Sur D., (2014). "A tale of genetic variation in the human *SLC22A1* gene encoding OCT1 among type 2 diabetes mellitus population groups of West Bengal, India." *IntJournal of Research in Applied, Natural and Social Sciences* .2321-8851; ISSN (P): 2347-4580 Vol. 2.
10. Yang P et al., Efectividad de la metformina en pacientes con diabetes tipo II según variantes en el gen *SLC22A1*. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2014; 48 (2): 229-3510.
11. Chen, L., et al. (2010). "Genetic polymorphisms in organic cation transporter 1 (OCT1) in Chinese and Japanese population exhibit altered function." *J Pharmacol Exp Ther* 335(1): 42-50.
12. Takane H, Shikata E, Otsubo K, Higuchi S, Ieiri I. Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action. *Pharmacogenomics*. 2008; 9:415–422. [PubMed: 18384255].
13. Leabman, M. K., et al. (2003). "Natural variation in human membrane transporter genes reveals evolutionary and functional constraints." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(10): 5896-5901.
14. Kerb et al. Identification of genetic variations of the human organic cation transporter hOCT1 and their functional consequences. *Pharmacogenetics*. 2002;(12):591–595.
15. Organización Mundial de la Salud, Diabetes, [sede web] 30 de octubre de 2018, Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
16. Boaz Hirshberg, Itamar Raz. Impact of the U.S. Food and Drug Administration Cardiovascular Assessment Requirements on the Development of Novel Antidiabetes Drugs. *Diabetes Care* 2011 May; 34(Supplement 2): S101-S106.
17. Zhou M, Xia L, Wang J. Metformin transport by a newly cloned proton-stimulated organic cation transporter (plasma membrane monoamine

- transporter) expressed in human intestine. *Drug Metab Dispos.* 2007; 35:1956–1962. [PubMed: 17600084]
18. Muller J, Lips KS, Metzner L, Neubert RH, Koepsell H, Brandsch M. Drug specificity and intestinal membrane localization of human organic cation transporters (OCT). *Biochem Pharmacol.* 2005; 70:1851–1860. [PubMed: 16263091].
19. Graham GG, Punt J, Arora M, Day RO, Doogue MP, Duong JK, et al. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet.* 2011; 50:81–98. [PubMed: 21241070]
20. Hardie DG. AMP-activated protein kinase as a drug target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2007; 47:185–210. [PubMed: 16879084]
21. Ito S, Kusuhara H, Yokochi M, Toyoshima J, Inoue K, Yuasa H et al. Competitive Inhibition of the Luminal Efflux by Multidrug and Toxin Extrusions, but Not Basolateral Uptake by Organic Cation Transporter 2, Is the Likely Mechanism Underlying the Pharmacokinetic Drug-Drug Interactions Caused by Cimetidine in the Kidney. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2011; 340(2):393-403.
22. Nies AT, Hofman U, Resch C, Schaeffeler E., Rius M., Schwab M. Proton pump inhibitors inhibit metformin uptake by organic cation transporters (OCTs). *PLoS One.* 2011; 6:e22163.
23. Christensen MM, Brasch-Andersen C, Green H, Nielsen F, Damkier P, Beck-Nielsen H, Brosen K. The pharmacogenetics of metformin and its impact on plasma metformin steady-state levels and glycosylated hemoglobin A1c. *Pharmacogenet Genomics.* 2011; 21:837–850. [PubMed: 21989078].
24. Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, et al. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2000; 49:2063–2069. [PubMed: 11118008]
25. Kusuhara H, Ito S, Kumagai Y, Jiang M, Shiroshita T, Moriyama Y, et al. Effects of a MATE protein inhibitor, pyrimethamine, on the renal elimination of metformin at oral microdose and at therapeutic dose in

- healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2011; 89:837–844. [PubMed: 21544077]
26. Shikata, E., et al. (2007). "Human organic cation transporter (OCT1 and OCT2) gene polymorphisms and therapeutic effects of metformin." *J Hum Genet* 52(2): 117-122.
 27. Gong L, Goswami S, Giacomini K, Altman R, Klein T. Metformin pathways. *Pharmacogenetics and Genomics.* 2012;22(11):820-827.
 28. Kang H, Song I, Shin H, Kim W, Lee C, Shim J et al. Identification and Functional Characterization of Genetic Variants of Human Organic Cation Transporters in a Korean Population. *Drug Metabolism and Disposition.* 2007; 35(4):667-675.
 29. Chen EC, Liang X, Yee SW, et al. Targeted disruption of organic cation transporter 3 attenuates the pharmacologic response to metformin. *Mol Pharmacol.* 2015;88(1):75-83
 30. Wang DS, Jonker JW, Kato Y, Kusuvara H, Schinkel AH, Sugiyama Y: Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002 Aug;302(2):510-5. [PubMed:12130709].
 31. Vitarani et al. Allele Frequency of SLC22A1 Met420del Metformin Main Transporter Encoding Gene among Javanese-Indonesian Population. *Journal of Medical Sciences.* 2019 Feb 15; 7(3):378-383.


ANEXOS

ANEXO N° 1 OPERALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE (Polimorfismo Met420del)			
INDICADORES	ITEMS	NIVEL DE MEDICION	INSTRUMENTO
polimorfismo Met420del	Presencia (si) Ausencia (no)	Nominal	Ficha de recolección de mediante Gel del electroforesis.

VARIABLE DEPENDIENTE (Respuesta al tratamiento con metformina)			
INDICADORES	ITEMS	NIVEL DE MEDICION	INSTRUMENTO
Control glicémico	<p>Hemoglobina glicosilada</p> <p>Responde (Disminución $\geq 0.5\%$ hbA1 a los 6 meses)</p> <p>No responde (Disminución $< 0.5\%$ hbA1 a los 6 meses)</p>	NOMINAL	Ficha de recolección de datos

ANEXO N ° 2 INSTRUMENTO

	<p>UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUA BAUTISTA</p> <p>FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD</p> <p>ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA</p>
---	--

Título:

RELACION ENTRE EL POLIMORFISMO MET420DEL DEL GEN SLC22A1 Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON METFORMINA EN PACIENTES DIABÉTICOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOS DE MAYO EN EL PERIODO DE ENERO A MAYO DEL 2019

Autor: Danica Yussara Medina Andrade

Fecha:

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS (INSTRUMENTO)

Ficha de Recolección de Datos N° -- FICHA: ----- N° H.C: -----

DATOS GENERALES:

Sexo: Masculino Femenino

Edad: _____

RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON METFORMINA

control glicemico :

No responde : Disminución <0.5% hbA1 a los 6 meses ().

Responde : Disminución ≥0.5% hbA1 a los 6 meses ().

POLOMORFISMO MET420DEL DEL GEN SLC22A1

(Transportador hepático de metformina)

Presencia : si () **Ausencia** : no ()

ANEXO N° 3 VALIDEZ DE INSTRUMENTO – CONSULTA EXPERTO

Informe de Opinión de Experto

I.- DATOS GENERALES:

II.- ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: *Angulo Reyes Roy*
 1.2 Cargo e institución donde labora: *Docente - UPSB - Chorrillos*
 1.3 Tipo de Experto: Metodólogo Especialista Estadístico
 1.4 Nombre del instrumento: *Fiche de recolección de datos*
 1.5 Autor (a) del instrumento: *Daniela Medina Andrade*

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy Buena 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje claro.					90%
OBJETIVIDAD	No presenta sesgo ni induce respuestas					90%
ACTUALIDAD	Está de acuerdo a los avances ,la teoría sobre Polimorfismo Met420del, Respuesta al tratamiento con Metformina .					90%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica del, del y coherente de los items.					90%
SUFICIENCIA	Comprende aspectos en calidad y cantidad.					90%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para establecer la asociación entre el Polimorfismo MET420DEL y la respuesta al tratamiento con Metformina.					90%
CONSISTENCIA	Basados en aspectos teóricos y científicos.					90%
COHERENCIA	Entre los índices e indicadores.					90%
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito de la investigación Analítica.					90%

III.- OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Aplica

IV.- PROMEDIO DE VALORACIÓN

90%

Lugar y Fecha: Lima, 16 Enero de 2020



RS
 Firma del Experto *Angulo Reyes*
 D.N.I. N° 06190093
 Teléfono 973554110

Informe de Opinión de Experto

I.- DATOS GENERALES:

II.- ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: *Rogán Rodríguez Elí*
 1.2 Cargo e institución donde labora: *Docente UPSTB - CHORRILLOS*
 1.3 Tipo de Experto: Metodólogo Especialista Estadístico
 1.4 Nombre del instrumento: *Ficha de recolección de datos*
 1.5 Autor (a) del instrumento: *Daniela Yussara Medina Andrade*

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy Buena 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje claro.					88%
OBJETIVIDAD	No presenta sesgo ni induce respuestas					88%
ACTUALIDAD	Está de acuerdo a los avances, la teoría sobre Polimorfismo Met420del, Respuesta al tratamiento con Metformina.					88%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica del, del y coherente de los ítems.					88%
SUFICIENCIA	Comprende aspectos en calidad y cantidad.					88%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para establecer la asociación entre el Polimorfismo MET420DEL y la respuesta al tratamiento con Metformina.					88%
CONSISTENCIA	Basados en aspectos teóricos y científicos.					88%
COHERENCIA	Entre los índices e indicadores.					88%
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito de la investigación Analítica.					88%

III.- OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

..... *Aplica*

IV.- PROMEDIO DE VALORACIÓN

88%

Lugar y Fecha: Lima, *16* Enero de 2020

Elí Rogán Rodríguez

 ELSI BAZAN RODRIGUEZ
 COESPEN N° 444

Firma del Experto

D.N.I N° *192099983*
 Teléfono *777 814879*

Informe de Opinión de Experto

I.- DATOS GENERALES:

II.- ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: **ARBANÓL HUAMAN HUGO CESAR**
 1.2 Cargo e institución donde labora: **Endocrinólogo - HNDM**
 1.3 Tipo de Experto: Metodólogo Especialista Estadístico
 1.4 Nombre del instrumento: **Fiche de recolección de datos**
 1.5 Autor (a) del instrumento: **Dánica Yussara Medina Andricote**

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente	Regular	Buena	Muy Buena	Excelente
		00 - 20%	21 - 40%	41 - 60%	61 - 80%	81 - 100%
CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje claro.					100
OBJETIVIDAD	No presenta sesgo ni induce respuestas				80	
ACTUALIDAD	Está de acuerdo a los avances ,la teoría sobre Polimorfismo Met420del, Respuesta al tratamiento con Metformina .				80	
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica del, del y coherente de los ítems.					100
SUFICIENCIA	Comprende aspectos en calidad y cantidad.					100
INTENCIONALIDAD	Adecuado para establecer la asociación entre el Polimorfismo MET420DEL y la respuesta al tratamiento con Metformina.					100
CONSISTENCIA	Basados en aspectos teóricos y científicos.					100
COHERENCIA	Entre los índices e indicadores.					100
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito de la investigación(tipo de investigación)					100

III.- OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Aplicable

IV.- PROMEDIO DE VALORACIÓN

95.5 / 100

Lugar y Fecha: Lima, 14 Enero de 2020



Firma del Experto
D.N.I N° 06034786

Telefono: 999170866

ANEXO N ° 4 MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES
<p>General: ¿Se encontrara relación entre el polimorfismo Met420del del gen SLC22A1 y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de mayo en el periodo de Enero a mayo del 2019 ?</p>	<p>General: Determinar la relación entre El polimorfismo Met420del del gen SLC22A1 y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de Enero a Mayo del 2019</p>	<p>General: Ha :Existe relación entre El polimorfismo Met420del del gen SLC22A1 y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de Enero a Mayo del 2019</p> <p>Ho: No existe relación entre El polimorfismo Met420del del gen SLC22A1 y la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de Enero a Mayo del 2019.</p>	<p>Variable Independiente : Polimorfismo Met420del</p> <p>Indicadores: Presencia (si) Ausencia (no)</p> <p>Variable Dependiente: Respuesta en el tratamiento con metformina</p> <p>Indicadores: hbA1c</p> <p>Responde: (Disminución \geq0.5% hbA1 a los 6 meses).</p>

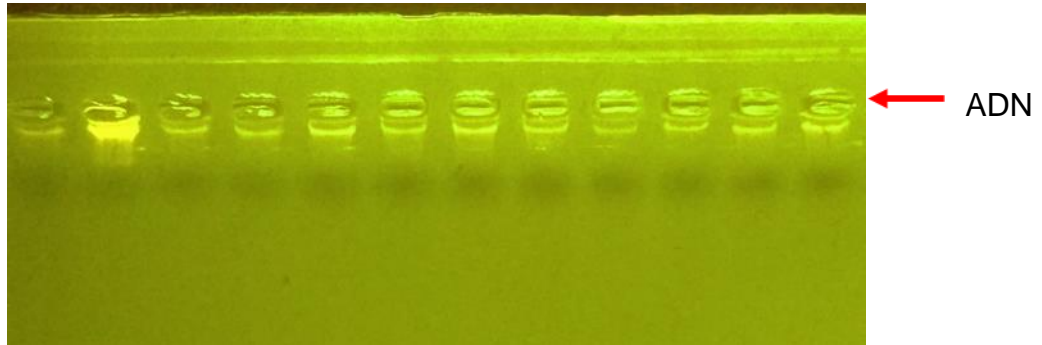
			No responde:(Disminución <0.5% hbA1 a los 6 meses)
Diseño metodológico		Población y Muestra	Técnicas e Instrumentos
<p>Nivel : Correlacional</p> <p>Tipo de Investigación: Descriptivo Observacional Transversal Prospectivo</p>		<p>Población: Todos los pacientes diabéticos atendidos en el servicio de Endocrinología del Hospital Nacional Dos de Mayo en el periodo de Enero a Mayo del 2019.</p> <p>N = 180</p> <p>Criterios de Inclusión:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Pacientes con diabetes tipo 2 -Pacientes de ambos sexos -Pacientes mayores de 18 años -Pacientes menores de 60 años -Pacientes que reciban tratamiento únicamente con metformina <p>Criterios de exclusión:</p> <p>Pacientes con enfermedades hepáticas</p>	<p>Técnica:</p> <p>-Análisis documental mediante Genotipificación por PCR-RFLP.</p> <p>Instrumentos:</p> <p>-Ficha de recolección de datos mediante Gel del electroforesis.</p>

	<ul style="list-style-type: none">-Pacientes con enfermedades pancreáticas-Pacientes con enfermedades renales-Pacientes que rehúsen participar en el estudio.-Pacientes que reciban tratamiento antidiabético con otros fármacos. <p>N=: 120 (Población Objetiva)</p> <p>Tamaño de muestra: 120</p> <p>Muestreo: No probabilístico</p>	
--	---	--

ANEXO N ° 5 PROCEDIMIENTO PARA DETECTAR EL POLIMORFISMO MET420DEL

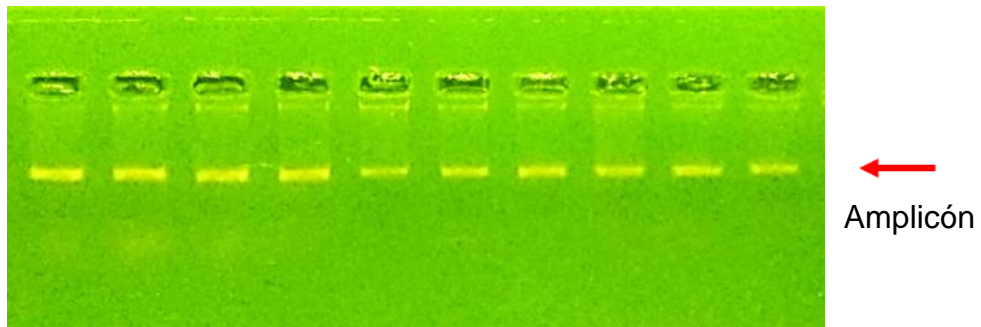
Extracción de ADN

Electroforesis de muestras de ADN



Estandarización de la PCR

Amplicones correspondientes al exón 7 del gen SLC22A1



Estandarización de la PCR-RFLP

