

Interactie tussen genetische variatie in de transporters OCT1 en MATE1 en de werking van metformine

M.L. Becker^{ab*}, L.E. Visser^{ab}, R.H.N. van Schaik^{cd}, A. Hofman^a, A.G. Uitterlinden^{ae} en B.H.C. Stricker^{af}

^a Afdeling Epidemiologie, Erasmus MC, Rotterdam.

^b Ziekenhuisapotheek, Erasmus MC, Rotterdam.

^c Afdeling Klinische Chemie, Erasmus MC, Rotterdam.

^d Star Medisch Diagnostisch Centrum, Rotterdam.

^e Afdeling Interne Geneeskunde, Erasmus MC, Rotterdam.

^f Sectie Geneesmiddelenbewaking, Inspectie voor de Gezondheidszorg, Den Haag.

* Correspondentie: m.becker@erasmusmc.nl.

Kernpunten

- De geneesmiddeltransporters OCT1 en MATE1 spelen een belangrijke rol bij de farmacokinetiek van metformine.
- Genetische variatie in de genen die coderen voor deze transporters heeft invloed op het bloedglucoseverlagende effect van metformine.
- De respons op metformine kan beter voorspeld worden als ook de interactie tussen beide transporters wordt geanalyseerd.

Metformine is het meest gebruikte orale geneesmiddel voor de behandeling van diabetes mellitus type 2 [1]. Metformine wordt niet gemetaboliseerd in het lichaam, maar onveranderd renaal geklaard. Geneesmiddeltransporters spelen een belangrijke rol bij absorptie, distributie en eliminatie van metformine [2]. De *plasma membrane monoamine transporter* is betrokken bij de opname van metformine in de darm, de transporters *organic cation transporter 1* (OCT1) en *multidrug and toxin extrusion 1* (MATE1) bij respectievelijk de opname in de lever en het transport uit de lever, en de transporter OCT2 bij de renale klaring van metformine.

In dit onderzoek hebben we ons gericht op de transporters OCT1 en MATE1. De opname van metformine in de lever is een essentiële stap voor het bloedglucoseverlagende effect van metformine. In muizen die zodanig genetisch gemanipuleerd waren dat ze geen OCT1 hadden, waren de concentraties van metformine in de lever veel lager en was de werking van metformine veel minder sterk [3]. Ook bij mensen is aangetoond dat genetische variatie in het gen dat codeert voor OCT1, is geassocieerd met het bloedglucoseverlagende effect van metformine [4, 5].

Recent hebben we laten zien dat één polymorfisme in het gen *SLC22A1*, dat codeert voor OCT1, is geassocieerd met het verlagende effect van metformine op de HbA_{1c}-waarde kort na de start van de therapie [6]. We hebben in dit onderzoek twaalf polymorfismen getest, en vonden dat het polymorfisme rs622342 A>C, ook na correctie voor meervoudig testen, significant geassocieerd is met

Abstract

Interaction between polymorphisms in the OCT1 and MATE1 transporter and metformin response

Introduction

The transporter OCT1 is involved in the influx of metformin into the liver and the transporter MATE1 is involved in the efflux of metformin out of the liver. Recently, we identified that the polymorphism rs622342 in the gene coding for OCT1, and the polymorphism rs2289669 in the gene coding for MATE1, are associated with the degree of glucose-lowering effect by metformin. In this study, we analysed the existence of interaction between these two polymorphisms.

Design and methods

We identified all incident metformin users in the Rotterdam Study, a population-based cohort study. Interaction between these two polymorphisms and change in HbA_{1c} levels was analyzed.

Results

In incident metformin users with the OCT1 rs622342 AA genotype, no association was found between the MATE1 rs2289669 genotype and the HbA_{1c}-lowering effect ($p = 0.39$). In users with the OCT1 rs622342 AC genotype a non-significant tendency was found between the MATE1 rs2289669 genotype and the HbA_{1c}-lowering effect ($p = 0.070$), and in users with the OCT1 rs622342 CC genotype a significant association was found between the MATE1 rs2289669 genotype and the glucose-lowering effect of metformin ($p = 0.005$).

Conclusion

The effect of the MATE1 rs2289669 genotype on the glucose-lowering effect of metformin is stronger in incident users with the rs622342 CC genotype than in incident users with the rs622342 AA genotype. In most patients, metformin will lower HbA_{1c} levels sufficiently, except in patients with a reduced function of the OCT1 transporter and a normal function of the MATE1 transporter.

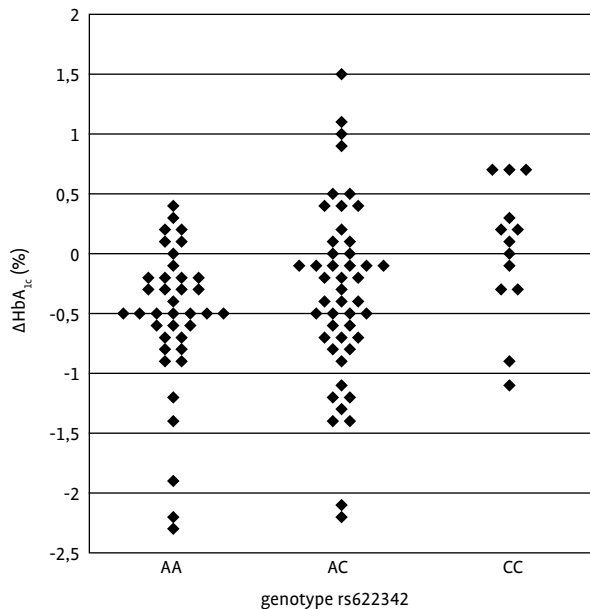
PW Wetenschappelijk Platform 2010;4(4):62-66

Dit artikel is een bewerkte vertaling van: Becker ML, Visser LE, van Schaik RHN, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BHC. Interaction between polymorphisms in the OCT1 and MATE1 transporter and metformin response. Pharmacogenet Genomics 2010;20(1):38-44.

de verandering in HbA_{1c}-waarde kort na de start van de metformine-therapie. De gemiddelde daling van de HbA_{1c}-waarde was 0,53% voor mensen met het genotype AA, 0,32% voor mensen met het genotype AC en in de groep met het genotype CC steeg de HbA_{1c}-waarde gemiddeld met 0,02%. Hoewel de associatie statistisch significant

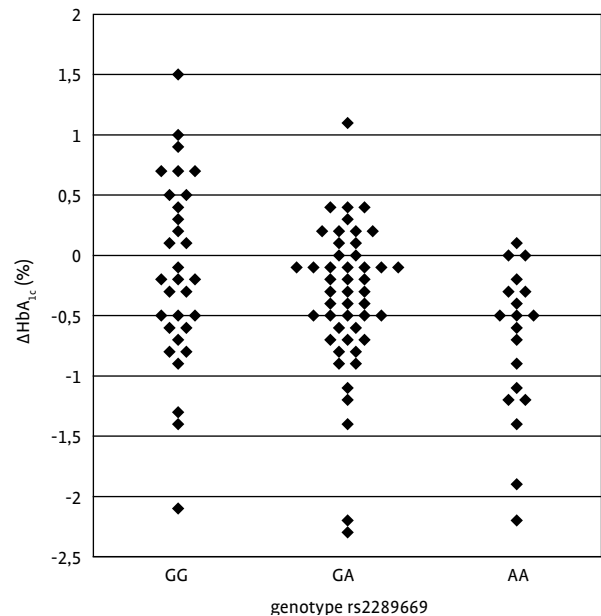
Figuur 1

Associatie tussen het polymorfisme rs622342 A>C in het gen *SLC22A1* dat codeert voor OCT1, en de verandering in HbA_{1c}-waarde na de start van de metforminetherapie



Figuur 2

Associatie tussen het polymorfisme rs2289669 G>A in het gen *SLC47A1* dat codeert voor MATE1, en de verandering in HbA_{1c}-waarde na de start van de metforminetherapie



is ($p = 0,005$), is in figuur 1 te zien dat er veel overlap is tussen de individuele patiënten in de drie genotypegroepen. De verklaarde variantie van het polymorfisme rs622342 is 5,3%. Waarschijnlijk codeert het C-allel voor een minder goed functionerende OCT1. Bij mensen met genotype AC of CC zal metformine minder goed de levercel in getransporteerd worden, waardoor het bloedglucoseverlagende effect en daarmee het verlagende effect op de HbA_{1c}-waarde gereduceerd is. We vonden ook dat er een associatie is tussen het polymorfisme rs622342 en het stoppen met de metforminetherapie, hoewel niet statistisch significant.

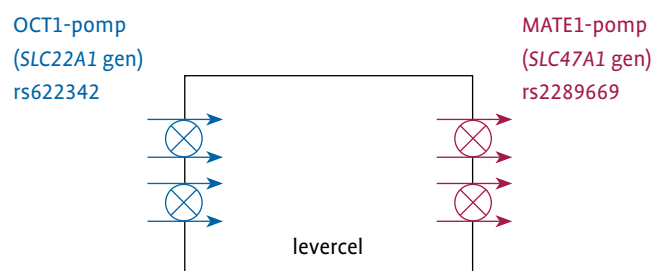
Een vergelijkbaar onderzoek hebben we gedaan voor het gen *SLC47A1*, dat codeert voor MATE1 [7]. Van de elf geteste polymorfismen in dit gen was het polymorfisme rs2289669 G>A, ook na correctie voor meervoudig testen, significant. De gemiddelde daling in HbA_{1c}-waarde kort na de start van de metforminetherapie was 0,28%, 0,59% en 0,87% voor respectievelijk het genotype GG, GA en AA. Ook voor het polymorfisme rs2289669 was de associatie statistisch significant ($p = 0,005$) en de verklaarde variantie in daling van de HbA_{1c}-waarde 7,0%. De overlap tussen de individuen in de verschillende genotypegroepen was aanzienlijk (figuur 2). Het A-allel codeert waarschijnlijk voor een minder goed functionerende MATE1, waardoor metformine minder goed de cel uit getransporteerd wordt en de concentratie van metformine in de levercel hoger is en het verlagende effect op de HbA_{1c}-waarden sterker.

Recent onderzoek laat zien dat OCT1 en MATE1 ook tot expressie komen in de nieren, zodat niet duidelijk is of de invloed van genetische variatie in de transporters OCT1 en MATE1 op hepatisch of renaal niveau werkt [8, 9].

Omdat OCT1 en MATE1 beide in de lever en de nieren tot expressie komen, was de vraag of er ook sprake is van interactie tussen de twee polymorfismen [10]. Bij mensen met een goed werkende OCT1 (rs622342 genotype AA) en een slecht werkende MATE1 (rs2289669 genotype AA) wordt metformine goed de cel ingepompt en slecht de cel uitgepompt, waardoor de concentratie in de cel hoog zal zijn (figuur 3). In de levercel betekent dit dat het bloedglucoseverlagende effect dan erg sterk zal zijn. Daar staat tegenover dat bij mensen met een slecht werkende OCT1 (rs622342 genotype CC) en een goed werkende MATE1 (rs2289669 genotype GG) metformine slecht de cel ingepompt zal worden en goed de cel uitgepompt, waardoor de concentratie in de levercel laag zal zijn en daarmee de werking van metformine slecht. In dit onderzoek hebben we onderzocht of er

Figuur 3

Werking van de transporters OCT1 en MATE1 in de levercel



Tabel 1

Karakteristieken van de studiepopulatie bij de start (n = 98)

Mannelijk geslacht	38 (39 %)
Leeftijd (SD)	76,3 (6,7) jaar
HbA _{1c} -spiegel (SD) ^a	8,2 (1,2) %
Body-mass index (SD) ^b	28,1 (3,4) kg/m ²
Serumcreatininespiegel (SD) ^b (n = 74)	83,0 (14,9) μmol/l
Gebruik sulfonyleureumderivaat ^a	
• glibenclamide	14 (14 %)
• tolbutamide	25 (26 %)
• gliclazide	5 (5 %)
• glimepiride	12 (12 %)

^a op het moment van de laatste HbA_{1c}-meting voor de start van de metforminetherapie

^b op het moment van starten in de Rotterdam Study

sprake is van interactie tussen het polymorfisme rs622342 A>C en het polymorfisme rs2289669 G>A.

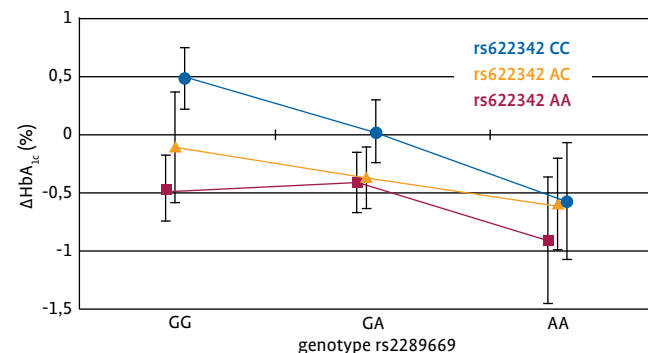
Methoden

Voor deze studie hebben we gebruikgemaakt van de gegevens van de Rotterdam Study, een prospectieve cohortstudie waarin 7983 inwoners van 55 jaar en ouder uit de wijk Ommoord in Rotterdam sinds 1990 zijn gevolgd [11]. Alle deelnemers gaven *informed consent* en de studie is goedgekeurd door de medisch-ethische commissie van het Erasmus MC. Van alle deelnemers waren de aflevergegevens bekend uit de apotheken in Ommoord. Deze zeven apotheken leveren de medicatie van 99% van alle deelnemers. Alle aflevergegevens – waaronder geneesmiddelen-naam, afleverdatum, hoeveelheid en voorgeschreven doseerregime – waren bekend in de periode 1 januari 1991 tot 1 januari 2008. Ook waren alle HbA_{1c}-metingen van de Stichting Trombosedienst en Artsenlaboratorium Rijnmond-Medisch Diagnostisch Centrum bekend. Dit laboratorium voert alle laboratoriumbepalingen uit voor de huisartsen in de regio Rijnmond. Alle HbA_{1c}-metingen tussen 1 april 1997 en 1 januari 2008 waren bekend. Voor deze studie selecteerden we alle incidente metforminegebruikers in de periode 1 april 1997 tot 1 januari 2008. Alle deelnemers met een HbA_{1c}-meting in de periode van 30 dagen voor de start en in de periode van 14 tot 100 dagen na de start van de metforminetherapie werden geïnccludeerd. Metforminegebruikers die het gebruik van metformine stopten voor de eerste HbA_{1c}-meting na starten, of die acarbose, rosiglitazon, pioglitazon of insuline kregen voorgeschreven bij een van de metingen, werden geëxcludeerd. Patiënten die naast metformine ook sulfonyleureumderivaten kregen voorgeschreven, werden wel geïnccludeerd.

We hebben het verschil in HbA_{1c}-waarde voor en na de start van de metforminetherapie onderzocht. De HbA_{1c}-waarde is het percentage van de hemoglobine dat is versuikerd. Deze waarde is een maat voor de gemiddelde suikerspiegel in de voorgaande 90 tot 100 dagen, waarbij de invloed van de laatste weken het grootst is. We analyseer-

Figuur 4

Verandering in HbA_{1c}-waarde kort na de start van de metforminetherapie voor het genotype rs622342 in het gen dat codeert voor OCT1 en het genotype rs2289669 in het gen dat codeert voor MATE1



den de interactie tussen de polymorfismen rs622342 en rs2289669 en de verandering in HbA_{1c}-waarde.

Alle deelnemers waren gegenotypeerd met de Illumina 550k SNP array, volgens de instructies van de fabrikant. Voor deze studie selecteerden we de polymorfismen rs622342 in het gen *SLC22A1* en rs2289669 in het gen *SLC47A1*. We gebruikten multivariate lineaire regressie om het verschil in de verandering in HbA_{1c}-waarde tussen genotypen te analyseren. In deze analyses hebben we gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht, de laatste HbA_{1c}-meting voor starten, en de verandering in dosering van sulfonyleureumderivaten. We stratificeerden de analyse van genotype rs622342 voor het genotype rs2289669 en vice versa. We testten voor multiplicatieve interactie tussen de polymorfismen rs622342 en rs2289669 in het multivariate lineaire-regressiemodel.

Resultaten

We identificeerden in totaal 152 patiënten die startten met metforminegebruik tussen 1 april 1997 en 1 januari 2008, met een HbA_{1c}-meting in de periode van 30 dagen voor de start en 14 tot 100 dagen na de start van de metforminetherapie. 10 patiënten werden geëxcludeerd omdat ze andere antidiabetica dan metformine en sulfonyleureumderivaten gebruikten, 20 patiënten stopten het metforminegebruik voor de eerste HbA_{1c}-meting na de start, van 20 patiënten was geen bloedmonster beschikbaar voor genotypering en bij 4 patiënten mislukte de genotypering voor rs622342 of rs2289669. Uiteindelijk includeerden we 98 patiënten (tabel 1). De gemiddelde laatste HbA_{1c}-meting in de periode van 30 dagen voor de start van de metforminetherapie was 8,2% en deze daalde met 0,4% naar 7,9% voor de eerste meting in de periode tussen 14 dagen en 100 dagen na de start. De gemiddelde tijd tussen de laatste HbA_{1c}-meting en de start van de metforminetherapie was 8 dagen, en de gemiddelde tijd tussen de start van de metforminetherapie en de eerste HbA_{1c}-meting in de periode van 14 tot 100 dagen na de start was 52 dagen. Dit verschil was niet significant tussen de genotypen.

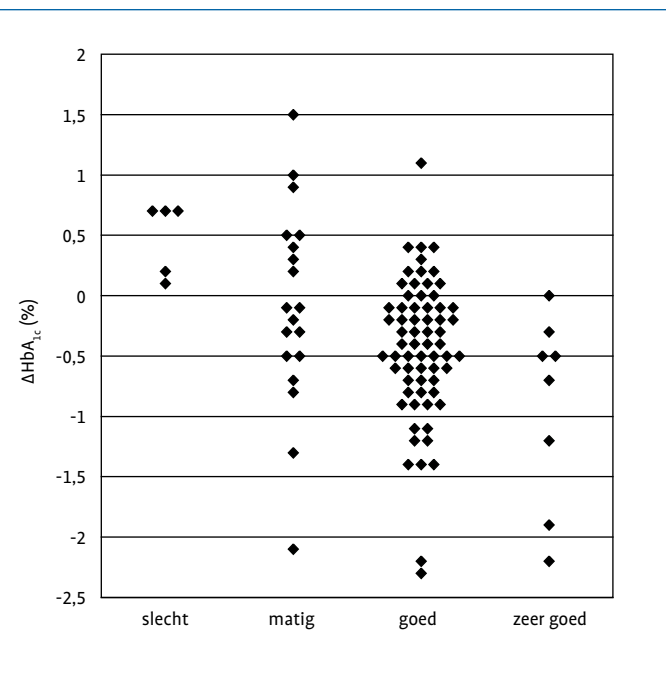
In figuur 4 zijn de veranderingen in HbA_{1c}-spiegel weergegeven voor

de negen groepen, namelijk de drie genotypen rs622342 (AA, AC en CC) in OCT1 keer de drie genotypen rs2289669 (GG, GA en AA) in MATE1. Metforminegebruikers met het genotype rs622342 CC en het genotype rs2289669 GG hadden de slechtste respons op metformine, met een gemiddelde stijging van de HbA_{1c}-waarde van 0,48%. Daar staat tegenover dat gebruikers met het genotype rs622342 AA en rs2289669 AA de beste respons hadden op metformine, met een gemiddelde daling van de HbA_{1c}-waarde van 0,91%.

We hebben de associatie tussen het genotype rs2289669 in het gen dat codeert voor MATE1, en de verlaging van de HbA_{1c}-waarde na de start van de metforminetherapie, gestratificeerd voor het genotype rs622342 in het gen dat codeert voor OCT1. Bij patiënten met het genotype rs622342 AA vonden we geen duidelijke associatie tussen het genotype rs2289669 en de verlaging van de HbA_{1c}-waarde (verandering HbA_{1c}-waarde -0,10% per A-allele; p = 0,39), bij patiënten met het genotype rs622342 AC een sterkere maar niet significante associatie (-0,31; p = 0,070) en bij patiënten met het genotype rs622342 CC vonden we een significante associatie (-0,68, p = 0,005). De interactieterm voor het verschil in daling van de HbA_{1c}-waarde door rs2289669, tussen mensen met de genotypen rs622342 AA en CC, was statistisch significant. Door ook de interactie tussen rs622342 en rs2289669 mee te nemen in het model, konden we 25,1% van de variantie in de daling van de HbA_{1c}-waarde verklaren. We hebben de negen verschillende genotypecombinaties in de populatie ingedeeld in vier groepen, op basis van de verandering in HbA_{1c}-waarde: een verandering hoger dan +0,25% (slechte respons), tussen -0,25% en +0,25% (matige respons), tussen -0,75% en -0,25% (goede respons) en lager dan -0,75% (zeer goede respons). In tabel 2 is de indeling van de negen genotypecombinaties weergegeven. In figuur 5 is de verandering in HbA_{1c}-waarde voor de individuele patiënten in de vier groepen weergegeven. In deze figuur

Figuur 5

Verandering in HbA_{1c}-waarde voor de individuele patiënten ingedeeld in vier groepen op basis van de genotypen rs622342 en rs2289669, zoals weergegeven in tabel 2



is te zien dat de overlap tussen de individuele patiënten in de vier groepen nog steeds aanwezig is, maar in ieder geval veel minder dan de overlap voor de genotypen rs622342 (figuur 1) en rs2289669 (figuur 2) afzonderlijk.

Beschouwing

Eerder vonden we dat het polymorfisme rs622342 A>C in het gen dat codeert voor OCT1 en het polymorfisme rs2289669 G>A in het gen dat codeert voor MATE1 zijn geassocieerd met het verlagende effect van metformine op de HbA_{1c}-waarde. Metformine is een substraat

Tabel 2

Verandering in HbA_{1c}-waarde per genotype en indeling in vier groepen in metforminerespons

Metforminerespons	OCT1		MATE1		N	ΔHbA _{1c} (in %)	SD
	rs622342	werking	rs2289669	werking			
Slecht	CC	-	GG	+	5	0,48	0,30
Matig	CC	-	GA	±	4	0,03	0,28
	AC	±	GG	+	15	-0,11	0,94
Goed	CC	-	AA	-	4	-0,58	0,51
	AC	±	GA	±	25	-0,38	0,68
	AC	±	AA	-	7	-0,60	0,53
	AA	+	GG	+	11	-0,46	0,48
Zeer goed	AA	+	GA	±	19	-0,42	0,58
	AA	+	AA	-	8	-0,91	0,62

voor zowel OCT1 als MATE1, en OCT1 pompt metformine de levercel in en MATE1 de levercel uit (figuur 3). Het rs622342-C-allel is geassocieerd met een minder sterke verlaging van de HbA_{1c}-spiegel, wat waarschijnlijk wordt veroorzaakt door een minder goed functionerende OCT1. Het rs2289669-A-allel is geassocieerd met een sterkere verlaging van de HbA_{1c}-spiegels, waarschijnlijk door een minder goed functionerende MATE1, waardoor metformine minder goed de cel wordt uitgepompt.

In dit onderzoek hebben we de hypothese getest dat de twee polymorfismen rs622342 en rs2289669 elkaar versterken. Immers, als metformine goed de cel ingepompt wordt (genotype rs622342 AA) en slecht de cel uit (genotype rs2289669 AA), zal de concentratie van metformine in de levercel hoger zijn en het verlagende effect op de HbA_{1c}-waarde zeer goed. In het omgekeerde geval van een slecht werkende OCT1 en een goed werkende MATE1 zal het verlagende effect van metformine op de HbA_{1c}-waarde slecht zijn. We vonden dit inderdaad terug in de resultaten. In de groep met de verwachte slechte respons op metformine vonden we een verhoging van de HbA_{1c}-spiegel van 0,48%, terwijl we een daling van 0,91% vonden in de groep met een verwachte zeer goede respons op metformine. Dat een stijging van de HbA_{1c}-spiegel wordt gevonden kan mogelijk verklaard worden doordat in sommige gevallen is gestopt met de sulfonyleureumderivaatbehandeling, waarvoor in de statistische analyses is gecorrigeerd.

Wat opvalt is dat in de groep metforminegebruikers met het genotype rs622342 AA, de invloed van het polymorfisme rs2289669 minimaal is, terwijl bij de metforminegebruikers met het genotype rs622342 CC het effect van het polymorfisme rs2289669 groot is. Een mogelijke verklaring is dat de OCT1-pomp sterker werkt dan de MATE1-pomp. Zowel in de situatie van een goed werkende OCT1 in combinatie met een goed werkende MATE1 (rs622342 AA en rs2289669 GG) als in de situatie van een slecht werkende OCT1 in combinatie met een slecht werkende MATE1 (rs622342 CC en rs2289669 AA), zal de metformineconcentratie voldoende hoog zijn voor een goede respons op metformine. In het geval van een goed werkende OCT1 en een slecht werkende MATE1 (rs622342 AA en rs2289669 AA), waardoor metformine goed de cel ingepompt wordt en slecht de cel uit, zal de respons op metformine ook goed zijn. Alleen in de situatie van een slecht werkende OCT1 en een goed werkende MATE1 (rs622342 CC en rs2289669 GG), zal de concentratie van metformine in de cel te laag zijn voor een goede respons. In deze studie hebben we de eerste HbA_{1c}-metingen tussen 14 en 100 dagen na de start van de metforminetherapie geanalyseerd. De HbA_{1c}-waarde is een maat voor de glucosespiegel in de voorgaande 90 dagen, maar representeert voornamelijk de HbA_{1c}-waarde in de voorgaande twee tot vier weken. Hoewel het verlagende effect op de HbA_{1c}-waarde 14 dagen na de start nog niet volledig is, hebben we niet voor een langere tijdsperiode gekozen, omdat dan in de tussentijd meer veranderingen in de therapie zullen plaatsvinden,

waardoor bias kan ontstaan. Als we een latere tijdsperiode gebruikten vonden we tussen de rs622342-genotypen een verschil in het percentage mensen die stopten met metforminetherapie of switchten naar andere therapie. Deze verschillen waren in de tijdsperiode van 14 tot 100 dagen na de start nog niet aanwezig.

De HbA_{1c}-metingen zijn gedaan tijdens de normale klinische routine, waardoor de tijd tussen de start van de metforminetherapie en de eerste HbA_{1c}-meting verschilde. We vonden geen verschillen tussen de genotypen in de tijd van laatste HbA_{1c}-meting tot de start van de metforminetherapie, of in de tijd van de start van de metforminetherapie tot de eerste HbA_{1c}-meting. We identificeerden alle incidentie metforminegebruikers en de informatie werd prospectief verzameld zonder kennis van de studiehypothese.

Concluderend is het effect van het polymorfisme rs2289669 op het HbA_{1c}-verlagende effect van metformine sterker bij patiënten met het genotype rs622342 CC dan bij patiënten met het genotype rs622342 AA. Dit effect is waarschijnlijk toe te schrijven aan de werking van de transporters OCT1 en MATE1. Metformine zal bij de meeste patiënten zorgen voor voldoende verlaging van de HbA_{1c}-spiegels, behalve bij patiënten met een slecht werkende OCT1 als gevolg van het genotype rs622342 CC en een goed werkende MATE1 ten gevolge van het genotype rs2289669 GG.

LITERATUUR

- 1 Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med* 2002;137(1):25-33.
- 2 Takane H, Shikata E, Otsubo K, et al. Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action. *Pharmacogenomics* 2008;9(4):415-22.
- 3 Shu Y, Sheardown SA, Brown C, et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J Clin Invest* 2007;117(5):1422-31.
- 4 Shu Y, Brown C, Castro RA, et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1, OCT1, on metformin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83(2):273-80.
- 5 Wang DS, Jonker JW, Kato Y, et al. Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302(2):510-5.
- 6 Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, et al. Genetic variation in the organic cation transporter 1 is associated with metformin response in patients with diabetes mellitus. *Pharmacogenom J* 2009;9(4):242-7.
- 7 Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, et al. Genetic variation in the multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein influences the glucose-lowering effect of metformin in patients with diabetes: a preliminary study. *Diabetes* 2009;58(3):745-9.
- 8 Tsuda M, Terada T, Mizuno T, et al. Targeted disruption of the multidrug and toxin extrusion 1 (mate1) gene in mice reduces renal secretion of metformin. *Mol Pharmacol* 2009;75(6):1280-6.
- 9 Tzvetkov MV, Vormfelde SV, Balen 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.
- 10 Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, et al. Interaction between polymorphisms in the OCT1 and MATE1 transporter and metformin response. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20(1):38-44.
- 11 Hofman A, Breteler MM, van Duijn CM, et al. The Rotterdam Study: 2010 objectives and design update. *Eur J Epidemiol* 2009;24(9):553-72.