

Metformin

Tekić, Ina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:985483>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Ina Tekić

Metformin

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Opća klinička biokemija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Roberte Petlevski.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Roberti Petlevski na stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Hvala mojim prijateljima što su sa mnom dijelili sve sretne, ali i teške trenutke tijekom školovanja. Hvala mojoj sestri Tei što mi je uvijek bila oslonac i najbolji prijatelj.

Veliko hvala mojim roditeljima na podršci i razumijevanju, a najviše što ste uvijek vjerovali u mene.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Šećerna bolest	1
1.2. Metformin	1
1.3. Povijesni pregled otkrića metformina.....	3
2. OBRAZLOŽENJE TEME	6
3. MATERIJALI I METODE	7
4. REZULTATI I RASPRAVA	8
4.1. Farmakokinetika metformina	8
4.2. Mehanizam djelovanja.....	8
4.2.1. Djelovanje metformina u jetri	9
4.2.2. Djelovanje metformina u crijevima.....	14
4.2.3. Djelovanje metformina na crijevnu mikrofloru i upalu.....	15
4.3. Metformin u liječenju šećerne bolesti Tipa 2	18
4.4. Metformin u liječenju šećerne bolesti Tipa 1	19
4.5. Nuspojave i kontraindikacije primjene metformina	20
4.6. Metformin u prevenciji šećerne bolesti	22
5. ZAKLJUČCI.....	25
6. LITERATURA.....	27
7. SAŽETAK.....	39
8. SUMMARY	40
9. Temeljna dokumentacijska kartica/Basic documentation card	

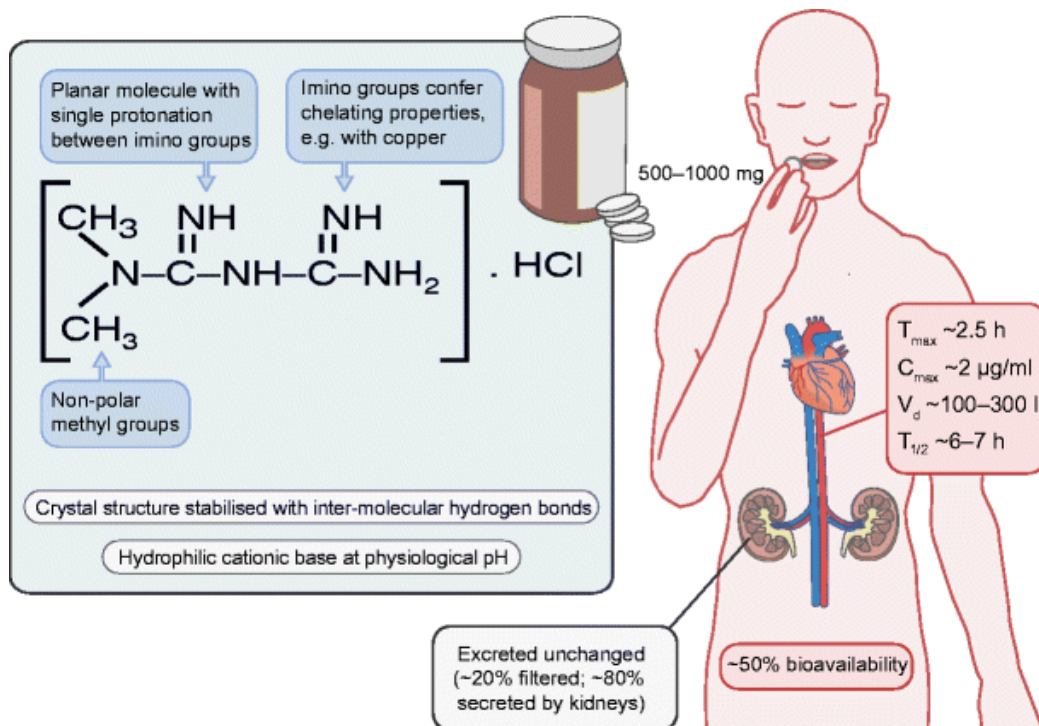
1. UVOD

1.1. Šećerna bolest

Šećerna bolest je zajednički naziv za skupinu metaboličkih poremećaja koji uzrokuju koncentraciju glukoze u krvi $\geq 7,0$ mmol/L. Neki od simptoma su povećana potreba za uriniranjem, pojačana žeđ i glad. Komplikacije uzrokovane šećernom bolešću mogu biti akutne i kronične. Akutne komplikacije su hipoglikemija (koncentracija glukoze u krvi $< 2,5$ mmol/L), dijabetička ketoacidoza, laktatna acidoza i hiperosmolalna koma. Kronične komplikacije nastaju kao posljedica loše kontrole bolesti odnosno dugotrajne hiperglikemije, a dijele se na mikroangiopatije (retinopatije, nefropatije i neuropatije) i makroangiopatije (moždani udar, ishemijske srčane bolesti i periferne vaskularne bolesti). Šećerna bolest se može podijeliti na šećernu bolest Tip 1 i Tip 2. Tip 1 je autoimuna bolest koju karakterizira uništavanje beta stanica gušterače i nedovoljno lučenje inzulina. Šećernu bolest Tip 2 karakterizira inzulinska rezistencija, a razvija se u kasnijoj životnoj dobi. Gušterača luči dovoljno inzulina, ali stanice ne reagiraju na inzulin i glukoza ne može ući u stanicu. S progresijom bolesti beta stanice gušterače mogu prestati lučiti inzulin. Glavnim uzrokom šećerne bolesti Tipa 2 smatra se pretilost i nedovoljno kretanja, a kasnije su otkrivene i genske predispozicije za razvoj bolesti. Postoji još i gestacijska šećerna bolest, oblik koji se razvija u žena tijekom trudnoće (Čvorišćec i Čepelak, 2009).

1.2. Metformin

Metformin (1,1-dimetilbigvanidin hidroklorid) je danas prvi lijek izbora za snižavanje koncentracije glukoze u krvi kod pacijenata s dijagnosticiranom šećernom bolešću Tipa 2 (Slika 1). Derivat je gvanidina, kemijskog spoja izoliranog iz *Galega officinalis*. *Galega officinalis* (Slika 2) je biljka koja se tradicionalno koristila u Europi u liječenju šećerne bolesti, a ime je dobila jer se smatrala glaktogogom (Galega- grčki, stimulacija lučenja mlijeka). Francuski liječnik Jean Sterne prvi je zapazio da metformin snižava koncentraciju glukoze u krvi te njegovu ulogu u liječenju šećerne bolesti.



Slika 1. Struktura i farmakokinetika metformina. Metformin je relativno planarna i hidrofilna molekula, monoprotiniran na neutralnom pH. Oralna doza od 500 do 1000 mg brzo se apsorpira u tankom crijevu ($T_{max} \sim 2,5 \text{ h}$, biodostupnost 50%). Vežanje za proteine plazme je zanemarivo, a distribucija ekstenzivna. $T_{1/2} \sim 6\text{--}7 \text{ h}$ ili duže kod renalne disfunkcije. Ne metabolizira se i luči se urinom nepromijenjen. (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4318-z>)



Slika 2. Galega officinalis. Biljka koja se tradicionalno koristila u liječenju šećerne bolesti. (https://en.wikipedia.org/wiki/Galega_officinalis)

1.3. Povijesni pregled otkrića metformina

Srednji vijek - *Galega officinalis* se tradicionalno koristila u Europi za liječenje različitih stanja (Bailey i Day, 2004).

1653.- opisane brojne prednosti liječenja protiv parazita, epilepsije, vrućice i kuge u knjizi *Culpeper's Complete Herbal*.

1772.- John Hill preporučuje korištenje Galege za stanja povezana s učestalom žeđi i uriniranjem (Hadden, 2005; Culpeper, 1995; Hill 1772).

1800-ih godina- provedena je kemijska analiza biljke i dokazano je da je bogata gvanidinom i srodnim spojevima, posebice sjeme biljke (Slika 3).

1840-ih godina- Adolph Strecker sintetizirao gvanidin

1879. - Bernhard Rathke, fuzija dva gvanidina i sinteza bigvanida (Pasik, 1997; Rathke, 1879).

1918.- dokazano je da gvanidin snižava koncentraciju glukoze u krvi u životinja

1920-ih godina - utvrđeno je da i drugi monogvanidinski derivati, pretežno galegin (izoamilen gvanidin) i digvanidi, npr. sintalin (dva gvanidina povezana metilenskim lancem) imaju isti učinak.

1922. - Werner i Bell su sintetizirali metformin (dimetilbigvanid) (Werner i Bell, 1922).

1929. - Hesse, Taubmann, Slotta i Tschesche su dokazali da metformin i drugi bigvanidi snižavaju koncentraciju glukoze u krvi kod zečeva i pasa (Hesse i Taubmann, 1929; Slotta i Tschesche, 1929).

1930-ih godina - inzulin postao dostupniji za terapiju šećerne bolesti, smanjuje se korištenje derivata gvanidina radi toksičnosti (Howlett i Bailey, 2007; Pasik, 1997; Parturier i Hugnot, 1935; Leclerc, 1928; Rabinowiz, 1927; Muller i Reinwein 1927).

1940-ih godina - razvio se novi lijek za malariju Paludrin koji je po strukturi bio progvanil. Istraživanja su pokazala da je lijek uzrokovao smanjenje koncentracije glukoze kod životinja (Chen i Anderson, 1947; Curd i sur., 1945).

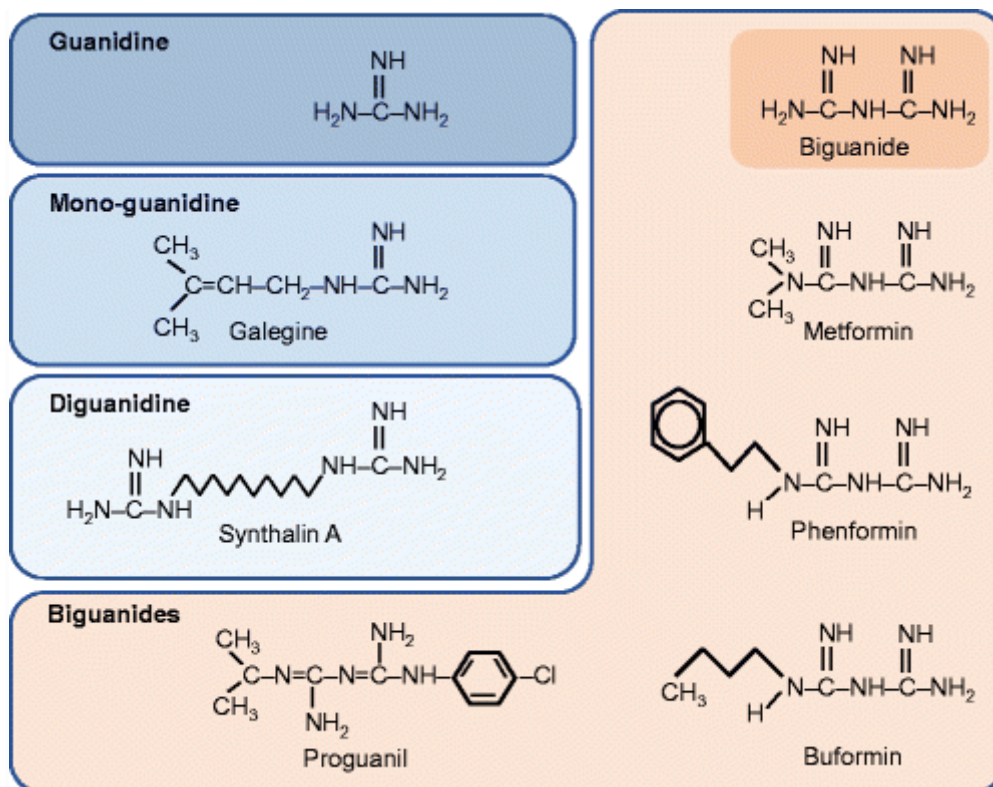
1950. - metformin hidroklorid se počeo koristiti kao lijek protiv gripe pod nazivom flumamin, a zapažena je i njegova sposobnost snižavanja koncentracije glukoze u krvi kod nekih pacijenata (Pasik, 1997; Garcia, 1950).

1957. - Sterne objavljuje članak o metforminu u marokanskom medicinskom časopisu "Maroc Med" (Sterne, 1957). Jean Sterne (Slika 4) je bio francuski liječnik koji je prvi translirao potencijal metformina da se koristi kao lijek za šećernu bolest. 1956. godine počeo je proučavati istraživanja koja su se provodila za flumamin (metformin hidroklorid) koji se tada koristio kao lijek protiv gripe. Na gvanidinskim spojevima koje je proučavao uočio je probleme visokih doza, ograničenu sposobnost snižavanja koncentracije glukoze u krvi te visoke toksičnosti. Metformin je jedini pokazivao sposobnost snižavanja koncentracije glukoze u krvi uz minimalne nuspojave kod animalnih modela sa šećernom bolešću i bez (Pasik, 1997). Neposredna hipoglikemija nije opažena kod metformina, za razliku od slučajeva liječenja sa sulfonilurejom. Sterne opisuje metformin kao dobro podnošljiv lijek koji čak ni nakon dugotrajne upotrebe ne uzrokuje oštećenja organizma te u niskim dozama smanjuje koncentraciju glukoze u krvi. U kasnije objavljenim člancima detaljno su opisane navedene studije na životinjama i ljudima (Sterne, 1958,1959,1963,1964,1969,1979).

1958. - "Aron laboratorij" uvodi metformin na tržište pod imenom "glukofag" (onaj koji jede glukozu

1994. – FDA odobrila metformin za terapiju šećerne bolesti Tipa 2. (www.fda.gov)

1995. – metformin odobren u SAD-u (www.fda.gov)



Slika 3. Struktura gvanidina i srodnih kemijskih spojeva. Monogvanidinski (galegin) i digvanidinski derivati (sintalin) pokazali su se kao previše toksični za liječenje šećerne bolesti. Bigvanidi i derivati (metformin, fenformin, buformin i progvanil) su otkriveni kasnije, ali fenformin i buformin su ukinuti iz uporabe radi povećanog rizika od laktatne acidoze. Metformin je ostao jedini derivat gvanidina koji se danas koristi u terapiji šećerne bolesti Tipa 2. (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4318-z>)



Slika 4. Jean Sterne (1909-1997). Jean Sterne završio je medicinu u Parizu te stekao veliko iskustvo u dijabetologiji tijekom rada s liječnikom Francisom Ratheryem u bolnici "Hosipital de la Pitie". Specijalizirao je infektivne bolesti, kardiologiju, psihijatriju i neurologiju. Tijekom drugog svjetskog rata radio je kao vojni liječnik, postao zarobljenik, pobjegao u Maroko gdje je radio kao glazbenik, a zatim se vratio u Francusku. 1956. zaposlio se u "Aron Laboratories" u Suresnesu u Parizu te je tamo započeo svoje istraživanje gvanidinskih derivata s Denisom Duvalom. (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4318-z>)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Šećerna bolest je jedan od rastućih zdravstvenih problema 21. stoljeća. 90% slučajeva uzrokovano je smanjenom tjelesnom aktivnošću, visokokaloričnom prehranom i porastom učestalosti pretilosti (www.hzjz.hr). Uspješna regulacija glikemije glavni je cilj u liječenju osoba sa šećernom bolesti. Klinička ispitivanja pokazala su da kontrola glikemije uzrokuje i smanjene komplikacije šećerne bolesti. Zlatni standard u liječenju šećerne bolesti tipa 2 je metformin. Metformin je pripadnik skupine bigvanida koji jedinstvenim mehanizmom djeluje na kontrolu glikemije u pacijenata sa šećernom bolesti Tipa 2. Metformin smanjuje proizvodnju glukoze u jetri inhibicijom glukoneogeneze te povećava inzulinsku osjetljivost u mišićima. Djeluje i u crijevima smanjenjem apsorpcije glukoze. U kliničkoj praksi primjena metformina dovodi i do gubitka tjelesne mase u pretilih pacijenata. Vrlo povoljna je i činjenica da metformin ne uzrokuje nuspojavu hipoglikemije koja je učestala nuspojava ostalih lijekova za šećernu bolest. Laktatna acidoza je također jako rijetka nuspojava metformina za razliku od ostalih lijekova iz skupine bigvanida. Postoje i dokazi da metformin djeluje i na crijevnu mikrofloru i upalu što proširuje mogućnosti njegove primjene. Metformin ima ulogu i u šećernoj bolesti Tipa 1 te se danas može prepisati kao dodatna terapija uz inzulin. Istražuje se i uloga metformina u prevenciji šećerne bolesti.

3. MATERIJALI I METODE

Istraživanje u okviru ovog diplomskog rada je teorijskog karaktera i uključuje pregled dostupne znanstvene i stručne literature o predloženoj temi. Literatura je pretražena elektroničkim putem. Korištene su bibliografske baze podataka Springer Link i PubMed. U detaljnom pretraživanju baza podataka korištene su ključne riječi „metformin“, „diabetes“, „biguanide“, „galega“. Pri pretraživanja literature na temu mehanizma i upotrebe metformina korištene su već navedene ključne riječi uz dodatak ključnih riječi „AMPK“, „oxidative phosphorylation“, „gut microbiota“, „pharmacokinetics“ i sl. Korišteni su članci iz znanstvenih časopisa tipa Diabetologia, Diabetes, N Engl J Med itd.

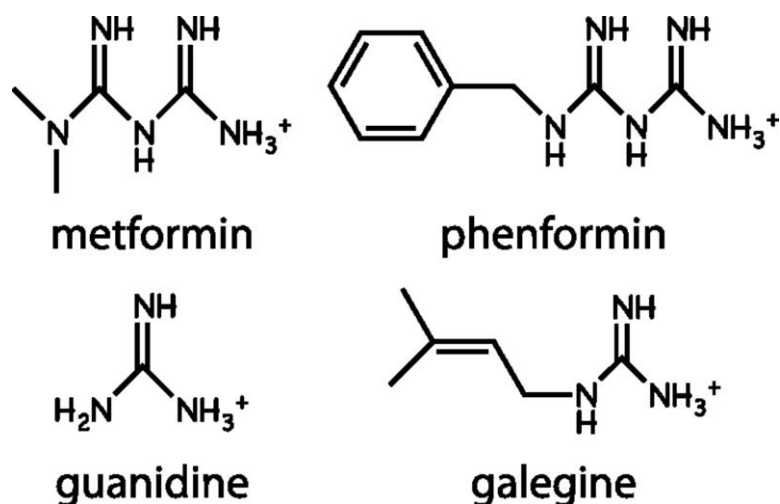
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Farmakokinetika metformina

Metformin ne podliježe metabolizmu i luči se nepromijenjen urinom. Glavni mehanizam eliminacije u bubrezima je aktivna tubularna sekrecija (Graham i sur., 2011). Intestinalna apsorpcija metformina odvija se preko plazmatskog monoaminskog membranskog transportera (PMAT). PMAT je protein kojim se endogeni organski i ksenobiotski kationi prenose preko membrane. Kodiran je *SLC29A4* genom i eksprimiran na luminalnoj strani enterocita. Moguće je da je transport metformina preko PMAT-a posredovan kiselim pH u lumenu crijeva (Wang, 2016). Hepatička apsorpcija metformina posredovana je organskim kationskim transporterom 1 (OCT1- gen *SLC22A1*) i moguće OCT3 (gen *SLC22A3*), oba su eksprimirana na bazolateralnoj strani hepatocita (Graham i sur., 2011). Hepatički unos metformina OCT1 transporterom dokazan je u istraživanju s OCT1 deficijentnim miševima, koji su imali znatno manje koncentracije metformina u jetri od kontrolnih (Shu i sur., 2007). Koncentracije u plazmi su uglavnom mikromolarne (Bailey i sur., 2008). Nakon oralne primjene 70% doze se apsorbira iz tankog crijeva, a ostatak se luči u kolon i podliježe ekskreciji fecesom (Graham i sur., 2011). Pozitronskom emisijskom tomografijom dokazano je nakupljanje metformina u tkivima poput jetre, crijeva, bubrega i mjehura, što pokazuje i njegov put lučenja, a koncentracije metformina u crijevima i jetri su puno veće nego u plazmi te u tim tkivima ima najveći učinak (Gormsen i sur., 2016).

4.2. Mehanizam djelovanja

Metformin je po kemijskoj strukturi derivat gvanidina (Slika 5). Sintetiziran je po uzoru na prirodni spoj galegin. Poznato je da snižava glukozu u krvi (GUK) natašte i postprandijalnu glukozu u krvi (Hundal i sur., 2000). Mehanizam djelovanja metformina je kompleksan, vjeruje se da smanjuje hepatsku glukoneogenezu, unos glukoze, sintezu masnih kiselina i triglicerida, a povećava β -oksidaciju masnih kiselina i osjetljivost na inzulin. Ne stimulira endogenu sekreciju inzulina pa ne uzrokuje hipoglikemiju ili hiperinzulinemiju, neke od najčešćih nuspojava drugih antidijabetičkih lijekova (Gong i sur., 2011). Iako je posljednjih 60 godina u uporabi, još uvijek nije poznat detaljan mehanizam djelovanja metformina.



Slika 5. Kemijske strukture metformina, fenformina, gvanidina i galegina. Metformin i fenformin su sintetski derivati galegina. Galegin je po kemijskoj strukturi izoprenilni derivat gvanidina. Metformin i fenformin su bigvanidi građeni od dvije molekule gvanidina uz dodane supstituente. (<https://diabetes.diabetesjournals.org/content/62/7/2164>)

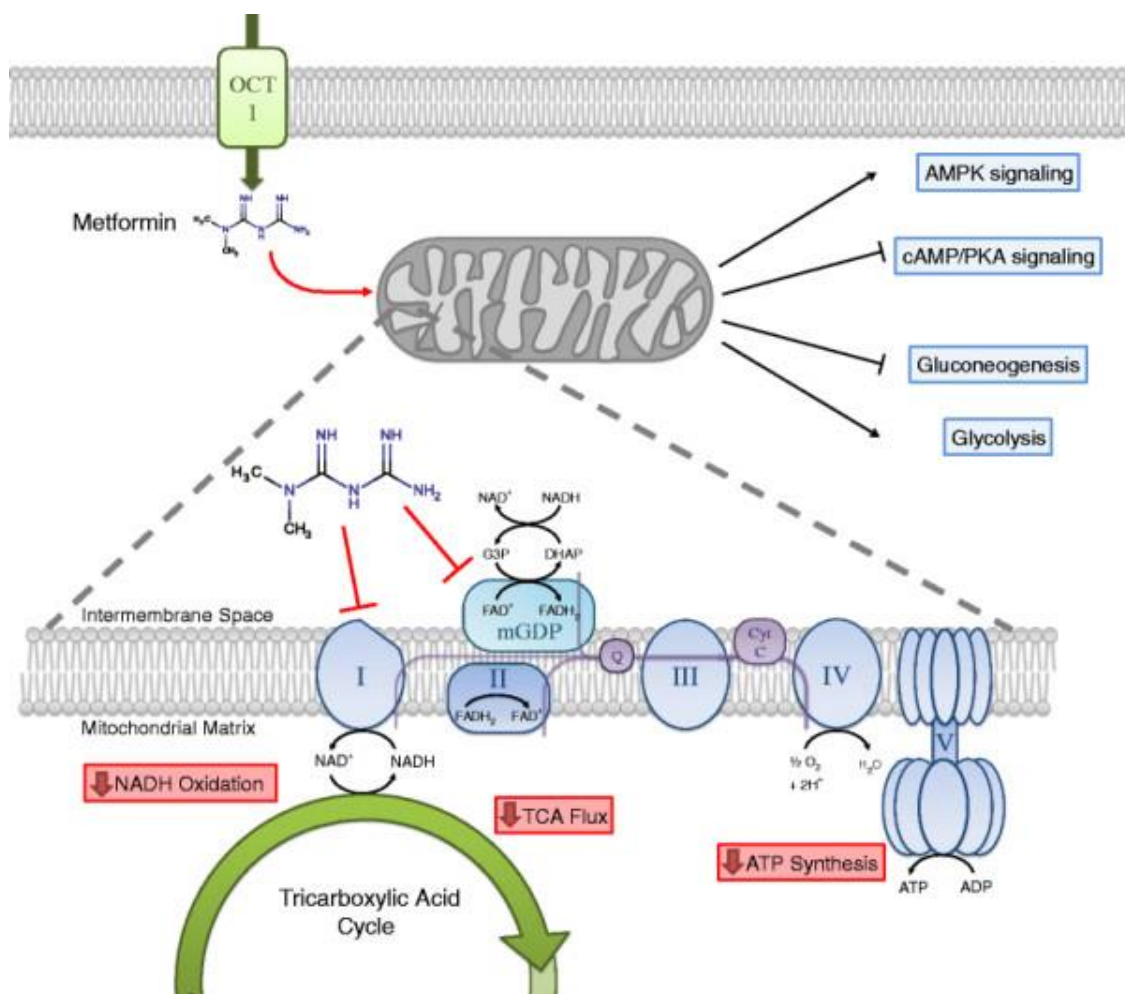
4.2.1. Djelovanje metformina u jetri

Prvenstveno se smatralo da metformin djeluje na jetru i nekoliko dokaza je na to i upućivalo. Provođena su istraživanja na miševima kojima je uklonjen organski kationski transporter 1 (OCT1), transporter preko kojeg se dio doze metformina unosi u jetru. Istraživanja su pokazala da kod takvih miševa bez OCT1 metformin nema učinka na smanjenje koncentracije glukoze u krvi nakon obroka (Shu i sur., 2007; Wang i sur., 2002). Kasnije je otkriveno je da metformin zapravo djeluje na mitohondrije i hepatičku glukoneogenezu. Elektrokemijski gradijent stanične membrane i mitohondrijske membrane usmjerava pozitivno nabijeni metformin unutar stanice i unutar mitohondrija (Bridges i sur., 2014; Owen i sur., 2000). Najviše istražen mehanizam metformina je inhibicija Kompleksa 1 u lancu prijenosa elektrona što uzrokuje smanjenu sintezu ATP-a (Slika 6) (Owen i sur., 2000; El-Mir i sur., 2000). Općenito koncentracije ATP-a i omjer ADP/ATP reguliraju metaboličke procese, tipa glukoneogenezu koja je energetski zahtjevan proces (6 ATP molekula potrebno za sintezu jedne molekule glukoze). Povišen omjer ADP/ATP ukazuje na manju dostupnost energije unutar stanice što dovodi do inhibicije glukoneogeneze (Bridges i sur., 2014; Owen i sur., 2000). Smatra se da osim omjera ADP/ATP i omjer NAD^+/NADH posreduje u učinku metformina na glukoneogenezu (El-Mir i sur., 2000). U nekim ispitivanjima dokazano je i da metformin inhibira mitohondrijsku glicerofosfat dehidrogenazu, enzim koji ima ulogu u prijenosu elektrona s NADH iz citoplazme u mitohondrij i reoksidaciji reduciranih koenzima.

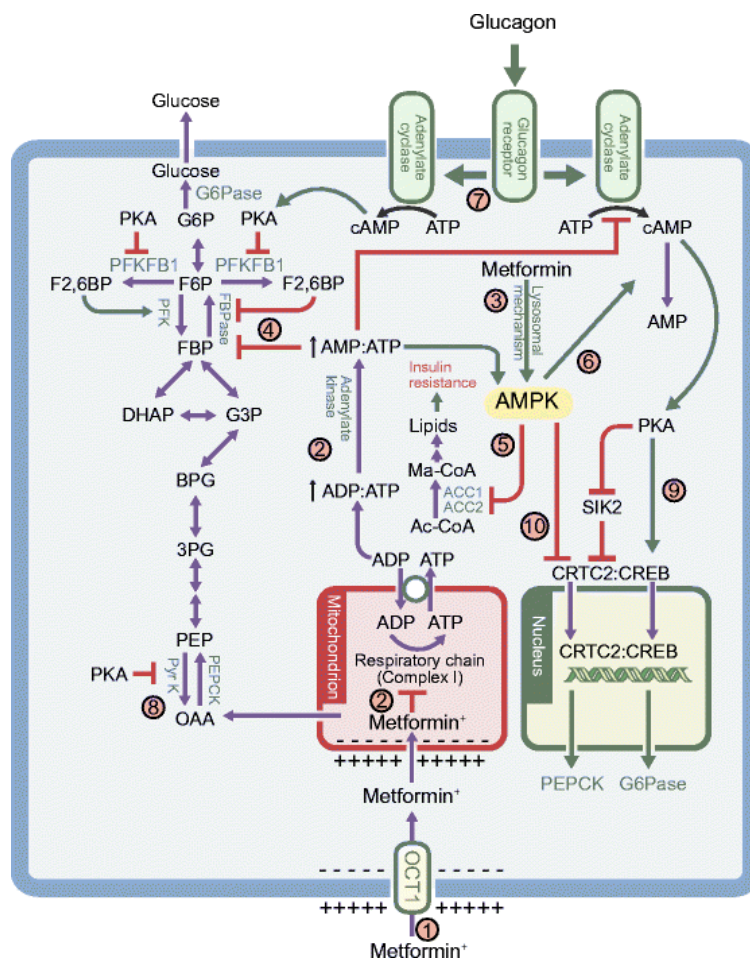
Učinak inhibicije tog sustava ipak je minimalan jer bi se kompenzirao malat/aspartat transportom, glavnim sustavom za prijenos elektrona iz citoplazme u mitohondrij (Baur i Bimbaum, 2014). Inhibicija mitohondrijske funkcije objašnjava i učinak metformina na aktivaciju AMPK (AMP-om aktiviranu protein kinazu). AMPK je jedan od glavnih regulatora staničnog metabolizma i rasta u eukariota. Strukturno je AMPK heteromer i sadrži jednu katalitičku (α) i dvije regulatorne podjedinice (β i γ) (Kahn i sur., 2005). ADP i AMP vežu se na γ regulatornu podjedinicu AMPK (Xiao i sur., 2011). Povećanje AMP/ATP i ADP/ATP omjera ukazuje na poremećenu ravnotežu između potrošnje i stvaranje energije te aktivira AMPK (Slika 7). AMPK fosforilacijom pokreće kaskadu reakcija koje aktiviraju kataboličke reakcije stvaranja ATP-a, a inhibira anaboličke reakcije potrošnje ATP-a (Hardie i sur., 2012; Ross i sur., 2016). Istraživanja na stanicama s mutiranim AMPK, koje nisu osjetljive na promjene koncentracija AMP ili ADP, pokazala su da u takvim stanicama AMPK nije aktiviran metforminom i potvrdila pretpostavku da bigvanidi djeluju na AMPK povećanjem staničnog omjera AMP/ATP i ADP/ATP (Hawley i sur., 2010). U cilju istraživanja djelovanja metformina na AMPK razvijen je prvi sintetski aktivator AMPK, 5-aminoimidazol-4-karboksamid ribonukleozid (AICAR), koji oponaša djelovanje AMP na AMPK. AICAR se unosi u stanicu i fosforilira do nukleotida 5-amino-4-imidazolkarboksamid ribozid 5'-monofosfata (ZMP). ZMP oponaša djelovanje AMP-a na AMPK. (Corton i sur., 1995). Otkriveno je da AMPK inhibira ekspresiju glukoneogenetskih enzima PEPCK (fosfoenolpiruvatkarboksi kinaza) i glukoza-6-fosfataze, što je podržalo ideju o djelovanju metformina preko AMPK sustava (Lochhead i sur., 2000). Dokazano je i da ZMP djeluje i na druge enzime osjetljive na AMP, primjerice na enzim fruktoza-1,6-bisfosfataza, koji je inače alosterički inhibiran AMP-om. Važnost tog otkrića je u tome što je fruktoza-1,6-bisfosfataza ključan enzim za regulaciju glukoneogeneze (Vincent i sur., 1991). Hidrolizira spoj fruktozu-1,6-bisfosfat nastao u ireverzibilnoj reakciji glikolize fosfofruktokinazom (Slika 8). Provođena su istraživanja na miševima kojima nedostaju AMPK katalitičke podjedinice i dokazano je da metformin i AICAR jednako učinkovito inhibiraju proizvodnju glukoze u hepatocitima, a za mehanizam djelovanja oba spoja predložena je inhibicija enzima fruktoza-1,6-bisfosfataze AMP-om, odnosno ZMP-om. (Foretz i sur., 2010). Oba spoja su uzrokovala i smanjenu ekspresiju glukoza-6-fosfataze i PEPCK u kontrolnim miševima i miševima bez AMPK katalitičke podjedinice. Uzrok tomu je, kako je skupina znanstvenika pretpostavila, inhibicija enzima adenilat ciklaze AMP-om neovisno o AMPK. Adenilat ciklaza je enzim koji sintetizira ciklički AMP (cAMP) u odgovoru na hormon glukagon, koji se luči kod niskih koncentracija glukoze u stanicama. cAMP djeluje kao glasnička molekula koja pokreće

kaskadu reakcija koje dovode do ekspresije glukoneogenetskih enzima u hepatocitima (Miller i sur., 2013). Druge skupine znanstvenika su predložile da se takav učinak ipak može povezati s tim da AMPK zapravo posreduje fosforilaciju 3',5'-cikličke fosfodiesteraze 4B (PDE4B), koja specifično hidrolizira cAMP (Johanns i sur., 2016).

Jedan od glavnih mehanizama metformina, osim smanjenja endogene sinteze glukoze, je povećanje inzulinske osjetljivosti, a istraživanja na miševima pokazala su da bitnu ulogu u tome ima AMPK. AMPK fosforilira serinske ostatke acetil-CoA karboksilaze (ACC1 i ACC2, obje izoforme). Acetil-CoA karboksilaza je enzim koji prenosi karboksilnu skupinu na molekulu acetil-CoA te sudjeluje u sintezi masnih kiselina, a fosforilacijom se inaktivira. AMPK tako inhibira sintezu masti, a aktivira oksidaciju masti (Fullerton i sur., 2013). Istraživanjem na miševima dokazano je da metformin povećava osjetljivost na inzulin fosforilacijom ACC1 i ACC2. Miševima su serinski ostaci na acetil-CoA karboksilazi zamijenjeni alaninskim, koji se ne mogu fosforilirati, a samim time i inhibirati enzim. Takvi miševi na normalnoj prehrani imali su povišene vrijednosti diacilglicerola i triacilglicerola te su razvili hiperglikemiju, hiperinzulinemiju i intoleranciju na glukozu. Iste simptome razvili su i miševi koji su šest tjedana bili na dijeti bogatoj mastima, ali za razliku od prve skupine miševa, ovima se nakon šest tjedana terapije metforminom poboljšao metabolički profil (Fullerton i sur., 2013).



Slika 6. Posljedice djelovanja metformina na mitohondrij. Metformin ulazi u stanicu preko OCT1 (organski kationski transporter 1) i akumulira se u mitohondrijima. Tamo metformin inhibira kompleks 1 elektronskog transportnog lanca i inhibira NADH oksidaciju i sintezu ATP. Rezultat smanjene koncentracije ATP-a je aktivacija AMPK i smanjena glukoneogeneza a povećana glikoliza (https://www.researchgate.net/figure/Cellular-consequences-of-metformin-action-at-the-mitochondria-Metformin-enters-the-cell_fig2_267730142)



Slika 7. Kompleksni mehanizam djelovanja metformina na metabolizam jetre preko AMPK. Unos metformina u hepatocite kataliziran je OCT1 transporterom. Pozitivno nabijeni metformin nakuplja se u stanicama i mitohondrijima zbog membranskog potencijala membrana. Metformin inhibira Kompleks 1 i inhibira stvaranje ATP-a te povećava omjere ADP/AMP i AMP/ATP što aktivira AMPK i inhibira fruktoza-1,6-bisfosfatazu i adenilat ciklazu, a to uzrokuje inhibiciju glukoneogeneze u hepatocitima. (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4342-z>)

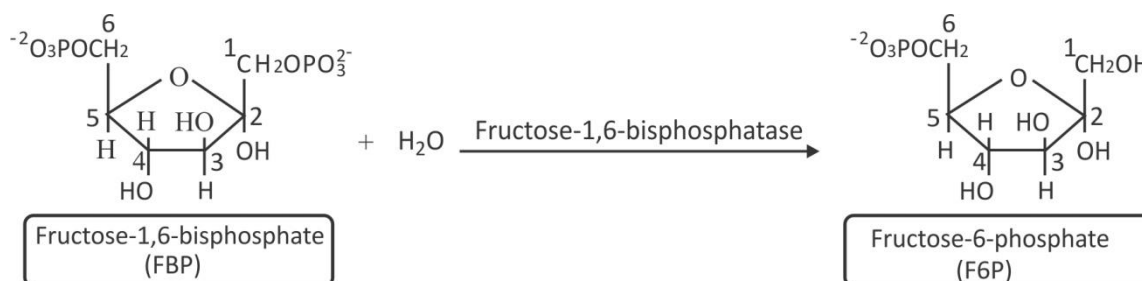


Fig. : Conversion of fructose-1,6-bisphosphate to fructose-6-phosphate.

Slika 8. Reakcija nastajanja fruktoza-6-fosfata iz fruktoza-1,6-bisfosfata koju katalizira enzim fruktoza-1,6-bisfosfataza. Enzim fruktoza-1,6-bisfosfataza hidrolizira spoj nastao u ireverzibilnoj reakciji glikolize i ključan je enzim u aktivaciji glukoneogeneze. (<https://www.letstalkacademy.com/publication/read/gluconeogenesis-conversion-of-fructose-1-6-bisphosphate-to-fructose-6-phosphate>)

4.2.2. Djelovanje metformina u crijevima

Tri glavna dokaza upućuju na to da su važno ciljno mjesto djelovanja metformina osim jetre i crijeva:

1. Učinak metformina na smanjenje koncentracije glukoze u krvi može se samo djelomično objasniti inhibicijom glukoneogeneze u jetri (Ferrannini i Natali, 2006).
2. Prema istraživanjima, kod ljudi s nefunkcionalnim genom *SLC22A1* (solute carrier family, gen za protein OCT1- organic cation transporter) smanjen je unos metformina u stanice jetre (Sundelin i sur., 2017). Učinkovitost metformina da smanji HbA_{1c} (glikirani hemoglobin) kod osoba sa šećernom bolesti Tipa 2 i mutacijom *SLC22A1* se ne mijenja (Dujic i sur., 2016; Zhou i sur., 2009).
3. Metformin koji se zadržava u crijevima i odgođeno otpušta u krvotok jednako je učinkovit u smanjivanju koncentracije glukoze u krvi kao i količina koja se odmah otpušta nakon primjene (Buse i sur., 2016).

Metformin povećava iskorištenje glukoze u enterocitima. Pozitronska emisijska tomografija (PET) pokazuje povećan unos fluorodeoksiglukoze (FDG) u kolon kod pacijenata koji su na terapiji metforminom. Unos FDG bio je popraćen i pojačanom fosforilacijom AMPK i odsutnošću luminalne glukoze u području kolona (Massollo i sur., 2013). Moguće je da metformin djeluje na metabolizam glukoze u gastro-intestinalnom sustavu i povećanjem GLP (glucagon-like-peptide). GLP-1 je inkretin, hormon koji se luči iz enteroendokrinih L stanica lokaliziranih u crijevima, najviše u ileumu i kolonu (Jorsal i sur., 2014). Luči se u odgovoru na hranu i inaktiviran je dipeptidil peptidazom 4 (DPP-4). GLP-1 povećava sekreciju inzulina induciranu glukozom, a inhibira sekreciju glukagona, odgađa pražnjenje želuca i smatra se da smanjuje apetit i unos hrane (Holst, 2007). Mehanizam kojim metformin djeluje na GLP-1 još uvijek je nepoznat, ali postoje dokazi da djeluje na njegovo pojačanu lučenje, a ne na usporavanje razgradnje (Bahne i sur., 2018).

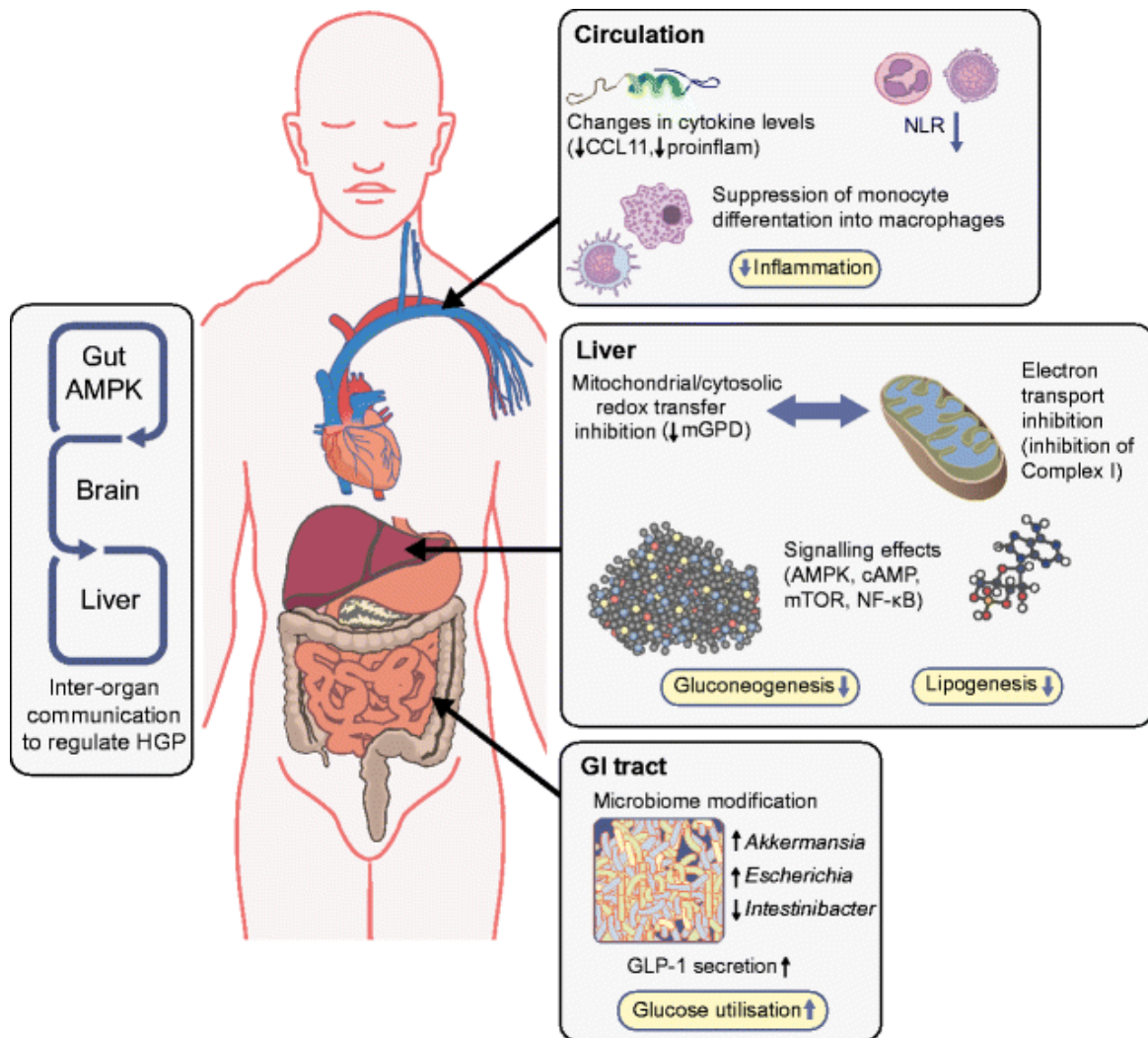
20-30% pacijenata razvije gastro-intestinalne smetnje prilikom korištenja metformina (Kirpichnikov i sur., 2002). Najčešći simptomi su mučnina, dijareja i abdominalna nelagoda. Nuspojave su uglavnom blage i ovise o dozi, a razvija ih do 50% pacijenata (Bouchoucha i sur., 2011). Pretpostavlja se da su smetnje uzrokovane visokim koncentracijama metformina u

crijevima, nastale stimulacijom oslobađanja serotonina ili smanjenjem transporta serotonina preko SERT proteina te povećanjem koncentracije serotonina u lumenu crijeva (Cubeddu i sur., 2000). Serotonin se luči iz enterokromafinskih stanica mukoze u crijevima i ima ulogu u motilitetu, sekreciji i vazodilataciji u crijevima, ali je povezan i s gastro-intestinalnim nuspojavama (Mawe i Hoffman, 2013). Genetička istraživanja pokazala su da OCT1 i SERT imaju ulogu u intoleranciji na metformin. Pacijenti koji nose alele za manje funkcionalan OCT1 imaju dvostruko veće šanse za razvoj gastro-intestinalnih nuspojava na terapiji metforminom. Isti je slučaj i s pacijentima s polimorfizmom za SERT protein, ali u manjoj mjeri (Dujic i sur., 2016; Dujic i sur., 2015).

4.2.3. Djelovanje metformina na crijevnu mikrofloru i upalu

Mehanizam kojim metformin djeluje na crijevnu mikrofloru i imunološki sustav je još uvijek nepoznat, ali takvi dodatni učinci metformina postavljaju ga kao kandidata za liječenje drugih bolesti osim šećerne bolesti Tipa 2, npr. u onkologiji (Slika 9). Ono što nam je danas poznato jest da metformin djeluje na AMPK sustav, a osim poznatog učinka na glukoneogenezu u jetri, AMPK regulira i niz drugih događaja u organizmu (Howell i sur., 2017). Postoje dokazi da metformin ima utjecaj na mikrobiotu u crijevima (Forslund i sur., 2015). Primjerice, metformin je uzrokovao smanjenje broja *Intestinibacter* i *Clostridium*. Ispitanici su bili mlađi muškarci s normoglikemijom (Bryrup i sur., 2019). Otkrivena je i veća prevalencija *Escherichia* vrste koja možda ima veze s gastro-intestinalnim nuspojavama (Forslund i sur., 2015). Na animalnim modelima metformin je utjecao na povećanje prevalencije bakterijske vrste *Akkermansia* što je povezano sa smanjenom upalom adipoznog tkiva i smanjenjem postprandijalne hiperglikemije (Shin i sur., 2014). Dosadašnja istraživanja upućuju na povezanost razvoja metaboličkih bolesti s crijevnom mikroflorom. Pronađene su razlike u mikrobioti osoba sa šećernom bolesti Tipa 2 i kontrolnih ispitanika (Larsen i sur., 2010). Osobe koje boluju od šećerne bolesti Tipa 2 imale su znatno manji broj bakterija koje proizvode butirat u crijevnoj flori, a metformin djeluje na mikrofloru u crijevima tako da uzrokuje povećanu proizvodnju butirata (Zhang i sur., 2013). Moguće je da je učinak metformina heterogen, što objašnjava različit učinak na različite vrste. Koncentracija metformina u crijevima može biti i do 100 puta veća nego u serumu pa je moguće da su visoke koncentracije potrebne za učinak na crijevnu mikrofloru (Chandel i sur., 2016).

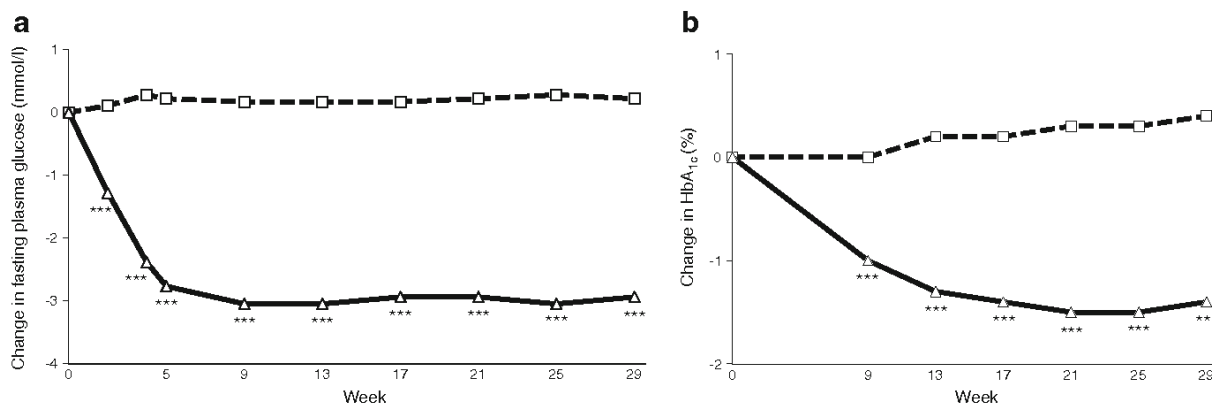
Dokazano je da metformin ima izravan utjecaj na upalu. AMPK je moguća poveznica metformina i imunološkog sustava. Istraživanja s područja imunometabolizma pokazala su da AMPK utječe na T limfocite (Blagih i sur., 2015). Djeluje na NF- κ B signalizaciju i diferencijaciju monocita u makrofage (Cameron i sur., 2016; Vasamsetti i sur., 2015). Metformin inhibira diferencijaciju monocita u makrofage i smatra se da ima ulogu u redukciji ateroskleroze u osoba sa šećernom bolesti Tipa 2. Kod miševa tretiranih metforminom i angiotenzinom II dokazano je smanjeno stvaranje aterosklerotskog plaka u usporedbi s miševima tretiranim samo angiotenzinom II (Sathish i sur., 2015). Smanjuje i omjer neutrofila i limfocita (NLR- neutrophil to lymphocyte ratio). NLR je marker upale koji se koristi za predviđanje smrtnosti i kardiovaskularnih bolesti. Metformin smanjuje i upalne citokine u plazmi kod osoba bez šećerne bolesti (Cameron i sur., 2016). Krajnji utjecaj metformina na imunološki sustav ostaje nepoznat budući da istraživanja u području tumorske imunologije pokazuje aktivaciju imunološkog sustava metforminom, a u nekim drugim područjima, npr. kod tuberkuloze i multiple skleroze, dokazani su protuupalni učinci (Eikawa i sur., 2015; Moiseeva i sur., 2013). Provedeno je istraživanje metformina kao antitumorskog lijeka na kontrolnim miševima i imunodeficijentnim miševima i otkrivena je pojačana antitumorska aktivnost u miševa s funkcionalnim imunološkim sustavom. Metformin je povećao broj CD8+ tumor infiltrirajućih limfocita preko mehanizma povezanog s AMPK (Eikawa i sur., 2015). Također je dokazan i pozitivno djelovanje metformina na učinkovitost antitumorskih cjepiva na laboratorijskim modelima (Pearce i sur., 2009). Svakako je meta istraživanja u budućnosti ekspresija membranskih transportera na imunološkim stanicama, npr. OCT-1, koji je odgovoran za unos metformina. Postoje eksperimentalni dokazi da metformin smanjuje upalne procese u organizmu povezane sa starenjem i tumorima. Metformin u oba slučaja inhibira translokaciju NF- κ B u jezgru i daljnju aktivaciju ovog puta koja vodi do lučenja upalnih citokina, neovisno o AMPK aktivaciji (Moiseeva i sur., 2013). U većini istraživanja smanjenje CRP-a (C reaktivni protein) se koristilo kao marker protuupalnog učinka, a kako je CRP nespecifičan upalni biljeg, ne mogu se dokazati konkretne prednosti korištenja metformina u te svrhe.



Slika 9. Djelovanje metformina na metabolizam i upalu. Metformin u krvi smanjuje NLR (Neutrophil-Lymphocyte Ratio), omjer neutrofila i limfocita, smanjuje diferencijaciju monocita u makrofage i proupalne citokine. U crijevima djeluje na crijevnu floru i potiče iskorištavanje glukoze u enterocitima. U jetri metformin smanjuje glukoneogenezu i lipogenezu (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4318-z>)

4.3. Metformin u liječenju šećerne bolesti Tipa 2

Prednosti metformina koje su mu omogućile da postane najpropisivaniji lijek za šećernu bolest Tip 2 su, osim njegove učinkovitosti u smanjenju koncentracije glukoze u krvi bez nuspojava, poboljšanje lipidnog profila, pozitivan utjecaj na upalu i smanjenje kardiovaskularnih oboljenja. Smatra se da su ti dodatni učinci metformina neovisni o njegovom mehanizmu smanjenja koncentracije glukoze. Pristupačna cijena i dobar sigurnosni profil su dodatno doprinijeli današnjoj popularnosti metformina (Inzucchi i sur., 2015). Precizan mehanizam lijeka još nije poznat, iako većina podataka upućuje na to da metformin smanjuje endogenu sintezu glukoze u jetri. Metformin se propisuje pacijentima koji ne mogu uspostaviti normoglikemiju usprkos dijeti i fizičkoj aktivnosti (Williams, 1994). DeFronzo i suradnici provodili su istraživanja o učinkovitosti metformina 1995. godine. Ispitanici s nekontroliranom šećernom bolesti i prekomjernom tjelesnom težinom uzimali su metformin ili placebo lijek. Nakon 29 tjedana glukoza natašte je smanjena kod svih pacijenata koji su uzimali metformin, a blago povišena kod pacijenata koji su dobivali placebo. HbA_{1c} je također smanjen kod pacijenata tretiranih metforminom i povišen kod druge skupine ispitanika (Slika 10) (DeFronzo i sur., 1995). Dokazano je i da učinkovitost lijeka ovisi o dozi. Veće doze lijeka (do 2500 mg dnevno) imale su bolji utjecaj na smanjenje glukoze natašte i HbA_{1c} (Garber i sur., 1997). U usporedbi s drugim lijekovima za šećernu bolest, metformin se pokazao učinkovitiji u održavanju normoglikemije od sulfonilureja, a manje učinkovit od tiazolidindiona. (Kahn i sur., 2016). Metformin se, osim kao prvi izbor terapije šećerne bolesti, koristi i u kombiniranim terapijama. Potreba za kombiniranom terapijom proizašla je iz činjenice da osobe oboljele od šećerne bolesti Tipa 2 gube i funkciju beta stanica pankreasa, a metformin nema utjecaja na očuvanje funkcije beta stanica (Knowler i sur., 2002). Najčešće korištena kombinacija lijekova za šećernu bolest Tip 2 je kombinacija metformina i sulfonilureja. Osim boljeg učinka na koncentraciju glukoze u krvi pacijenata, kombinacija se pokazala znatno učinkovitija u smanjenju HbA_{1c} (Charpentier i sur., 2001). Pacijenti sa šećernom bolesti Tip 2 koji su koristili kombinaciju metformina i inzulina ostvarili su bolje učinke na kontrolu glikemijskog statusa, poboljšan HbA_{1c}, manje su dobivali na tjelesnoj težini i imali su manje potrebe za inzulinom (Wulffele i sur., 2002). Treća opcija kombinirane terapije s metforminom bila je s tiazolidindionima, preciznije s troglitazonom. Budući lijekovi djeluju različitim mehanizmima, metformin na hepatičku proizvodnju glukoze, a tiazolidindioni poboljšavaju periferni unos glukoze u mišiće, kombinacija ima aditivan učinak na koncentraciju glukoze u krvi (Inzucchi i sur., 1998).



Slika 10. Srednje vrijednosti promjena u glukozi natašte (a) i HbA_{1c} (b). Sudionici s nekontroliranom šećernom bolesti podvrgnuti su terapiji metforminom (trokuti) i placebo lijekom (kvadrati). Terapija metforminom pokazala se učinkovitom za smanjenje koncentracije glukoze natašte i HbA_{1c}. Ispitanici koji su uzimali placebo lijek nemaju većih promjena navedenih parametara (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4336-x#Fig1>).

4.4. Metformin u liječenju šećerne bolesti Tipa 1

Tip 1 šećerne bolesti je autoimuna bolest koju karakterizira apsolutni manjak inzulina uzrokovan uništavanjem beta stanica gušterače. Osobe kojima je dijagnosticiran Tip 1 šećerne bolesti na terapiji su inzulinom (Čvorišćec i Čepelak, ured., 2009). Najveći problem u terapiji inzulinom je nedovoljna glikemička kontrola koja može dovesti do mikrovaskularnih i kardiovaskularnih komplikacija (Nathan i sur., 1993). Istraživanje koje su provodili Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) pokazalo je da se na terapiji inzulinom, približavanjem željenim HbA_{1c} vrijednostima eksponencijalno povećava rizik od hipoglikemije (Nathan i sur., 1993). Drugi problem je činjenica da su osobe s dijagnozom šećerne bolesti Tipa 1 na terapiji inzulinom podložne dobitku na tjelesnoj težini, što dovodi do inzulinske rezistencije, povećane potrebe za inzulinom i povećanju krvnog tlaka i LDL (low density lipoprotein)- kolesterola (Cleland i sur., 2013). Javlja se potreba za dodatnom terapijom kod takvih pacijenata i idealan lijek trebao bi smanjiti potrebne doze inzulina, smanjiti HbA_{1c} (bez povećanja rizika hipoglikemije), tjelesnu težinu i rizik od kardiovaskularnih komplikacija te poboljšati kvalitetu života u takvih pacijenata (Livingstone i sur., 2012). Metformin se pokazao kao dobar kandidat s obzirom na njegov učinak kod pacijenata sa šećernom bolesti Tipa 2. Provedeno je nekoliko manjih istraživanja u kojima je dokazano da su pacijenti koji su primali metformin uz inzulin imali smanjene potrebe za inzulinom. U nekim manjim istraživanjima dokazane su i smanjenje tjelesne težine i LDL-

kolesterola na terapiji inzulinom, ali nije dokazano smanjenje HbA_{1c} (Livingstone i sur., 2017). Najveće istraživanje koje je trajalo tri godine i provodilo se na ispitanicima starijim od 40 godina bilo je REMOVAL istraživanje. Cilj istraživanja bilo je odrediti može li metformin kao dodatna terapija inzulinu smanjiti aterosklerozu, a birani su ispitanici koji su imali tri ili više faktora za rizik od kardiovaskularnih komplikacija. Primarni cilj istraživanja nije potvrđen, ali dokazano je da metformin smanjuje potrebe za inzulinom, LDL- kolesterol i tjelesnu težinu (Petrie i sur., 2017).

Rezultati istraživanja učinka metformina kao dodatne terapije inzulinu na pojedince sa šećernom bolešću Tipa 1:

1. Dodatna terapija metforminom preporučuje se pretilim pojedincima sa šećernom bolešću Tipa 1 za poboljšanu kontrolu glikemije i smanjenu potrebu doze inzulina (dokazano u nekoliko manjih istraživanja).
2. Nije dokazano da metformin djeluje na smanjenje HbA_{1c} vrijednosti u tromjesečnom roku (REMOVAL, 2017).
3. Malo smanjenje LDL- kolesterola i tjelesne težine je opaženo tijekom trogodišnjeg istraživanja na ispitanicima srednjih godina (REMOVAL, 2017)

4.5. Nuspojave i kontraindikacije primjene metformina

Fenformin i buformin su povezani s rizikom od laktatne acidoze, što je dovelo do povlačenja fenformina s tržišta u većini država Europe (Nattrass i Alberti, 1978; Luft i sur., 1978; University Group Diabetes Program, 1975; Walker i Linton, 1959). Nakon povlačenja fenformina s tržišta otkriveno je da 9% Europida ima mutaciju *cyp2D6* gena koji kodira za hidrosilacijski enzim citokrom P450 2D6 odgovoran za metabolizam fenformina. Mutacija uzrokuje gomilanje fenformina u organizmu što dovodi do laktatne acidoze. Problem je to, koji bi danas bio rješiv modernom farmakogenetikom (Bosisio i sur., 1981; Shah i sur., 1980). Metformin se također povezivao s laktatnom acidozom radi srodnosti s ostalim bigvanidima, iako je to izrazito rijetka nuspojava kod pacijenata koji ga koriste (Tablica 1). Bigvanidi djeluju na respiracijski lanac, inhibirajući sintezu ATP-a, što vodi do pojačane

potrebe za anaerobnim metabolizmom i proizvodnje laktata. Laktatnu acidozu uglavnom su uzrokovale koncentracije lijeka iznad 5 mg/L (terapijska doza je 0,5-2,0 mg/L) uzrokovane neadekvatnom funkcijom bubrega (DeFronzo i sur., 2016). Ostali rizici za razvoj laktatne acidoze na terapiji metforminom su neka stanja koja uzrokuju povećanu proizvodnju laktata, npr. sepsa, kardiogeni šok (smanjena perfuzija srca) i alkoholizam. Prvotno je FDA (The US Food and Drug Administration) preporučila izbjegavanje metformina kod pacijenata s oštećenjem bubrega ili pacijentima koji imaju preko 80 godina zbog smanjenog klirensa kreatinina. Preporučene vrijednosti kreatinina u serumu za korištenje metformina bile su manje od 114 $\mu\text{mol/L}$ za muškarce i manje od 107 $\mu\text{mol/L}$ za žene. Kasnija istraživanja ipak su pokazala da je rizik od laktatne acidoze s metforminom izrazito nizak i da ga smiju koristiti pacijenti koji imaju eGFR (estimated glomerular filtration rate) preko 30 mL/min x 1,73 m² (Inzucchi i sur., 2014). eGFR je vrijednost koja se danas preporučuje za procjenu stupnja bubrežne bolesti, a isto tako u procjeni sigurnosti korištenja metformina. Osim koncentracije kreatinina u serumu, eGFR obuhvaća i spol, dob, postotak mišićne mase i rasu pacijenta (Mula-Abed i sur., 2012). Kako bi se izbjegle gastro-intestinalne nuspojave, metformin se preporučuje uzimati uz obrok (Davidson i Peters, 1997). Kod nekih pacijenata uočena je i smanjena apsorpcija B₁₂ vitamina te pojava anemije nakon dugotrajnog korištenja metformina (Aroda i sur., 2016). Kod pacijenata sa smanjenom koncentracijom B₁₂ uočene su i češće periferne neuropatije. Danas je preporučeno periodično mjeriti B₁₂ pacijentima na dugotrajnoj terapiji metforminom te korištenje B₁₂ suplementacije (Aroda i sur., 2016).

Svojstvo	Metformin	fenformin	Buformin
Topljivost	najviše hidrofilan	najviše lipofilan	Između
Log P (oktanol/voda)	-1,43	-0,83	-1,20
Vežanje za membranu mitohondrija i inhibicija respiratornog lanca	Slabo	jako	Jako
Lokacija anaerobne glikolize	tkivo tankog crijeva	generalizirano, mišići	generalizirano, mišići
Metabolizam	-	CYP2D6 1/3	-
Rizik od laktatne acidoze	0,03-0,09	0,40-0,90	>0,10

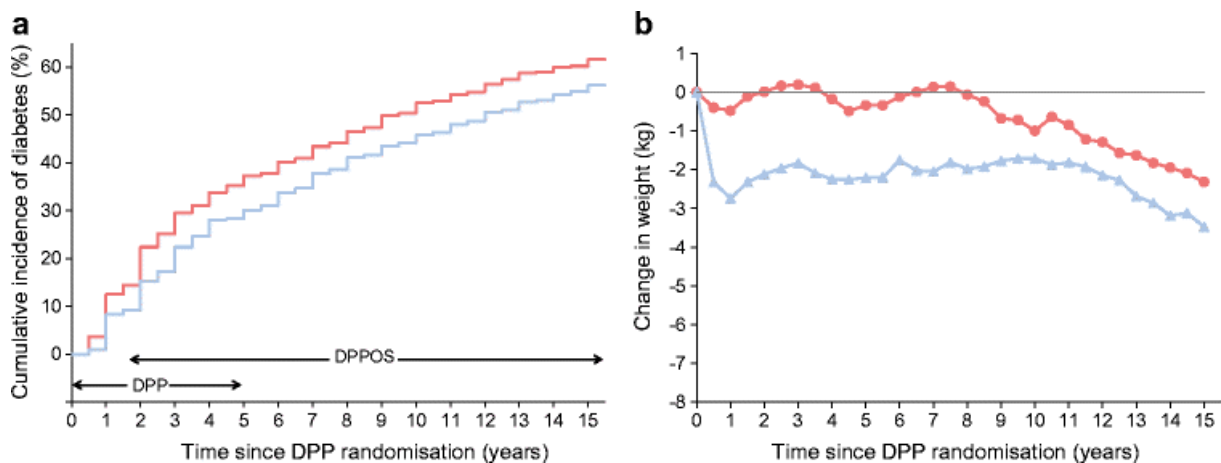
Tablica 1. Usporedba metformina, fenformina i buformina (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4318-z>).

4.6. Metformin u prevenciji šećerne bolesti

Najveće kliničko istraživanje uloge metformina u prevenciji šećerne bolesti bilo je Diabetes Prevention Program/Diabetes Prevention Program Outcomes Study (DPP/DPPOS). Istraživanje je provedeno na 3234 odraslih osoba koji su imali visok rizik od razvoja šećerne bolesti. Populacija ispitanika bila je heterogena. Prosjek godina ispitanika bio je 51 godina, a srednja vrijednost BMI iznosila je 34 kg/m². Jedan dio ispitanika podvrgnut je terapiji metforminom, drugi dio je uzimao placebo, a treća skupina nije uzimala terapiju nego je morala promijeniti životne navike. Promjena životnih navika prvenstveno se odnosila na niskokaloričnu dijetu i preko 150 minuta fizičke aktivnosti tjedno (Knowler i sur., 2002). DPP je osmišljen 1990-ih godina i jedan od eksperimenata vezan uz prevenciju ili odgodu razvoja šećerne bolesti uključivao je metformin. Metformin je bio dobar kandidat za istraživanje zbog sigurnog mehanizma djelovanja i poprilične tolerancije (Knowler i sur., 2002; Diabetes Prevention Program Research Group, 1999). DPPOS predstavlja najveće kliničko istraživanje o prevenciji šećerne bolesti metforminom u visokorizičnoj populaciji. Visokorizična

populacija uključivala je pojedince s poremećenom tolerancijom glukoze, povišenom GUK natašte (5,3-6,9 mmol/L) i koji su imali BMI (Body Mass Index) preko 24 kg/m². Dijagnoza šećerne bolesti postavljala se na temelju OGGT (oralni test tolerancije glukoze) ili GUK natašte koristeći pri tome kriterije ADA (American Diabetes Association, 1997). DPP je prekinut godinu dana prije predviđenog termina, 2001. godine, zbog dokazane učinkovitosti metformina i promjene životnih navika na prevenciju šećerne bolesti (Knowler i sur., 2002). 2002. godine DPP je objavio rezultate koji su pokazivali 58% manju učestalost razvoja šećerne bolesti u skupini s metforminom, a u skupini koja je mijenjala životne navike 31% manju učestalost razvoja šećerne bolesti (Knowler i sur., 2002). Sudionici koji su imali BMI veći od 35 kg/m² pokazivali su bolje rezultate na terapiji metforminom od onih koji su imali BMI manji od 30 kg/m². Također, sudionici s višom GUK natašte su imali bolje rezultate. Nisu uočene razlike na temelju spola i rase, ali mlađi sudionici su imali veće smanjenje rizika razvoja šećerne bolesti od starijih (Knowler i sur., 2002). Žene koje su imale povijest razvoja gestacijske šećerne bolesti su isto tako imale bolje rezultate na terapiji s metforminom (Ratner i sur., 2008). Ubrzo se nametnulo pitanje radi li se zapravo o prevenciji šećerne bolesti ili su jednostavno simptomi liječeni metforminom i tako "maskirana" šećerna bolest. DPP je to pitanje riješio ponovnim testiranjem pacijenata koji nisu razvili šećernu bolest nakon 2 tjedna perioda bez lijeka. Rezultati su pokazali da je učestalost šećerne bolesti i dalje manja nego u placebo skupini (Diabetes Prevention Program Research Group, 2003). Smatra se da je jedan od glavnih razloga prevencije šećerne bolesti pri terapiji metforminom gubitak tjelesne težine (Slika 11). Promjene su uočene i u drugim faktorima pretilosti kao što su opseg struka, omjer obujma struka i kukova te koncentracija inzulina i proinzulina natašte. Između placebo grupe i grupe na metforminu nisu primijećene razlike u fizičkoj aktivnosti ili sekreciji inzulina (Lachin i sur., 2007). Grupa koja je bila na dijeti i pojačanoj fizičkoj aktivnosti pokazala je najbolje rezultate s obzirom na incidenciju šećerne bolesti, poboljšanje funkcije beta stanica gušterače i HbA_{1c} (Kitabchi i sur., 2005; Knowler i sur., 2002). Promjena životnih navika pokazala se uspješnijom u prevenciji šećerne bolesti, temeljeno mjerenjem GUK natašte i OGGT-a. Međutim, kada je uveden kriterij postavljanja dijagnoze šećerne bolesti putem HbA_{1c}, nije bilo značajnijih razlika u uspješnosti prevencije šećerne bolesti metforminom i promjenom životnih navika (Diabetes Prevention Program Research Group, 2015). DPP je istraživao i genetsku predispoziciju za razvoj šećerne bolesti Tipa 2 i otkriveno je da su homozigoti s mutacijom *TCF7L2* gena imali 81% veću incidenciju šećerne bolesti u placebo grupi. U grupi s metforminom incidencija je smanjena na 62% (Florez i sur., 2006). Učinak metformina na pojedince s genetskom predispozicijom bio je jednak (Hivert i sur., 2011). Što

se tiče mikrovaskularnih komplikacija šećerne bolesti, npr., retinopatija, nefropatija i neuropatija, metformin nije pokazao nikakav učinak u roku istraživanja (Diabetes Prevention Program Research Group, 2015). Metformin je imao pozitivan utjecaj na nekoliko faktora povezanih s razvojem kardiovaskularnih bolesti. Pozitivan utjecaj imao je na lipoproteinske subfrakcije, CRP i tkivni aktivator plazminogena (TPA) te je smanjio incidenciju razvoja metaboličkog sindroma (Goldberg i sur., 2014; Goldberg i sur., 2013; Orchard i sur., 2005). Nije opažen utjecaj na krvni tlak ili lipide u krvi (Ratner i sur., 2005). Na 2029 sudionika procijenjena je i učestalost subkliničke ateroskleroze temeljena na razini kalcija u koronarnim arterijama (CAC- coronary artery calcium). Metformin je značajno snizio CAC u muškaraca, a kod žena nije imao nikakav utjecaj na CAC. Nije opažena redukcija klinički značajnih plakova, pa se pretpostavlja da metformin djeluje samo na ranije i manje plakove (Goldberg i sur., 2017).



Slika 11. Kumulativna incidencija šećerne bolesti (a) i promjena tjelesne težine (b) u 15 godina istraživanja DPP/DPPOS. Plava linija predstavlja grupu koja je koristila metformin, a crvena placebo grupu. (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-017-4361-9>)

5. ZAKLJUČCI

Metformin je danas najpropisivaniji lijek za šećernu bolest Tip 2.

Mehanizam djelovanja je kompleksan i postoji više ciljnih mjesta u organizmu na koje metformin djeluje. Glavna ciljna mjesta metformina su jetra i crijeva. Apsorpcija metformina u crijevima odvija se preko plazmatskog membranskog transportera (PMAT), a hepatička apsorpcija preko organskog kationskog transportera (OCT1 i OCT3). U jetri metformin smanjuje endogenu proizvodnju glukoze, a u crijevima smanjuje apsorpciju glukoze povećanjem potrošnje u enterocitima.

Smatra se da je glavni put djelovanja metformina aktivacija AMPK (AMP-om aktivirana protein kinaza). Metformin inhibira Kompleks 1 u lancu prijenosa elektrona što dovodi do smanjene sinteze ATP-a. AMPK aktiviran manjkom ATP-a inhibira ekspresiju glukoneogenetskih enzima. Drugo djelovanje aktiviranog AMPK povezano je s povećanjem inzulinske osjetljivosti. AMPK fosforilira i inaktivira acetil-CoA karboksilazu, enzim odgovoran za sintezu masnih kiselina, što dovodi do povećane oksidacije masti. Metformin također ima i AMPK neovisno djelovanje, pretpostavlja se da je to inhibicija fruktoza-1,6-bisfosfataze AMP-om.

Dokazan je i učinak metformina na mikrobiotu u crijevima, a važnost tog otkrića je u tome što je dokazano da osobe sa šećernom bolesti imaju specifičnu mikrobiotu. Učinci metformina na upalu još se istražuju, a zasad su dokazani i protuupalni učinci u nekim slučajevima, a i aktivacija imunološkog sustava metforminom.

U terapiji šećerne bolesti Tipa 2 metformin je učinkovitiji u održavanju normoglikemije od sulfonilureja, a manje učinkovit od tiazolidindiona. Koristi se kao monoterapija, a kod nekih pacijenata, npr. pacijenti sa smanjenom funkcijom beta stanica gušterače, potrebna je i kombinirana terapija s drugim lijekovima za šećernu bolest.

Podnošljivost metformina je izrazito povoljna. Najčešće su gastro-intestinalne nuspojave pa se preporučuje uzimati metformin s obrokom. Laktatna acidoza je rijetka nuspojava i puno je češća kod ostalih bigvanida. Što se tiče bubrene funkcije, dokazano je da metformin smiju koristiti pacijenti koji imaju eGFR (estimated glomerular filtration rate) preko 30 mL/min x 1,73 m². Pri korištenju metformina moguća je i smanjena apsorpcija B₁₂ vitamina te pojava anemije pa se preporučuje suplementacija vitaminom.

Metformin se može propisati i kao dodatna terapija uz inzulin kod pacijenata sa šećernom bolešću Tipa 1 jer dokazano smanjuje potrebne doze inzulina.

Istraživanja su pokazala da se metformin može koristiti i u prevenciji ili odgoditi šećerne bolesti kod visokorizičnih pojedinaca, iako je u prevenciji najuspješnija promjena životnih navika i kontrola tjelesne težine.

6. LITERATURA

About diabetes, 2013., www.who.int, pristupljeno 19.8.2019.

American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1997, 20, 1183–1197.

Aroda VR, Edelstein SL, Goldberg RB, Knowler WC, Marcovina SM, Orchard TJ, Bray GA, Schade DS, Tempresa MG, White NH, Crandall JP; Diabetes Prevention Program Research Group. Long-term Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101, 1754–1761.

Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*, 2015, 58, 429–442.

Azerad E, Lubetzki J. Treatment of diabetes with N,N-dimethyl diguanide (LA6023). *Presse Med*, 1959, 67, 765–767.

Bahne E, Sun EWL, Young RL, Hansen M, Sonne DP, Hansen JS, Rohde U, Liou AP, Jackson ML, de Fontgalland D, Rabbitt P, Hollington P, Sposato L, Due S, Wattchow DA, Rehfeld JF, Holst JJ, Keating DJ, Vilsbøll T, Knop FK. Metformin-induced glucagon-like peptide-1 secretion contributes to the actions of metformin in type 2 diabetes. *JCI Insight*, 2018, 6, 3, 93936.

Bailey CJ, Day C. Metformin: its botanical background. *Pract Diabetes Int*, 2004, 21, 115–117.

Bailey CJ, Mynett KJ, Page T. Importance of the intestine as a site of metformin-stimulated glucose utilization. *Brit J Pharmacol*, 1994, 112, 671–675.

Bailey CJ, Nattrass M. Treatment—metformin. *Ballière's Clin Endocrinol Metab*, 1988, 2, 455–476.

Bailey CJ, Pua JA. Effect of metformin on glucose metabolism in mouse soleus muscle. *Diabete Metab*, 1986, 12, 212–218.

Bailey CJ, Wilcock C, Day C. Effect of metformin on glucose metabolism in the splanchnic bed. *Br J Pharmacol*, 1992, 105, 1009–1013.

Bailey CJ, Wilcock C, Scarpello JH. Metformin and the intestine. *Diabetologia*, 2008, 51, 1552–1553.

Bailey CJ. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*, 1992, 15, 755–772.

Baur JA, Birnbaum MJ. Control of gluconeogenesis by metformin: does redox trump energy charge? *Cell Metab*, 2014, 20, 197–199.

Beckmann R. Biguanide (Experimenteller Teil). *Handb Exp Pharmacol*, 1971, 29, 439–596.

- Beringer A. Zur Behandlung der Zuckerkrankheiten mit Biguaniden. *Wien Med Wschr*, 1958, 108, 880–882.
- Blagih J, Coulombe F, Vincent EE. The energy sensor AMPK regulates T cell metabolic adaptation and effector responses in vivo. *Immunity*, 2015, 42, 41–54.
- Bosisio E, Kienle MG, Galli G et al. Defective hydroxylation of phenformin as a determinant of drug toxicity. *Diabetes*, 1981, 30, 644–649.
- Bouchoucha M, Uzzan B, Cohen R. Metformin and digestive disorders. *Diabetes Metab*, 2011, 37, 90–96.
- Bridges HR, Jones AJ, Pollak MN, Hirst J. Effects of metformin and other biguanides on oxidative phosphorylation in mitochondria. *Biochem J*, 2014, 462, 475–487.
- Bryrup T, Thomsen CW, Kern T, Allin KH, Brandslund I, Jørgensen NR, Vestergaard H, Hansen T, Hansen TH, Pedersen O, Nielsen T. Metformin-induced changes of the gut microbiota in healthy young men: results of a non-blinded, one-armed intervention study. *Diabetologia*, 2019, 62, 1024–1035.
- Buse JB, DeFronzo RA, Rosenstock J. The primary glucose-lowering effect of metformin resides in the gut, not the circulation: results from short-term pharmacokinetic and 12-week dose-ranging studies. *Diabetes Care*, 2016, 39, 198–205.
- Butterfield WJ. The effects of phenformin on peripheral glucose utilization and insulin action in obesity and diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*, 1968, 148, 724–733.
- Cameron AR, Morrison VL, Levin D. Anti-inflammatory effects of metformin irrespective of diabetes status. *Circ Res*, 2016, 119, 652–665.
- Campbell IW, Howlett HC. Worldwide experience of metformin as an effective glucose-lowering agent: a meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev* 11, 1995, 57–62.
- Chandel NS, Avizonis D, Reczek CR. Are metformin doses used in murine cancer models clinically relevant? *Cell Metab*, 2016, 23, 569–570.
- Charpentier G, Fleury F, Kabir M, Vaur L, Halimi S. Improved glycaemic control by addition of glimepiride to metformin monotherapy in type 2 diabetic patients. *Diabet Med*, 2001, 18, 828–834.
- Chen KK, Anderson RC. The toxicity and general pharmacology of N1-p-chlorophenyl-N5-isopropyl biguanide. *J Pharmacol Exp Ther*, 1947, 91, 157–160.
- Clarke B, Campbell IW. Comparison of metformin and chlorpropamide in non-obese maturity-onset diabetic uncontrolled on diet. *Br Med J*, 1977, 275, 1576–1578.
- Clarke BF, Duncan LJP. Comparison of chlorpropamide and metformin treatment on weight and blood-glucose response of uncontrolled obese diabetics. *Lancet*, 1968, 291, 123–126.

Cleland SJ, Fisher BM, Colhoun HM, Sattar N, Petrie JR. Insulin resistance in type 1 diabetes: what is 'double diabetes' and what are the risks?

Corton JM, Gillespie JG, Hawley SA, Hardie DG. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside: a specific method for activating AMP-activated protein kinase in intact cells? *Eur J Biochem*, 1995, 229, 558–565.

Cubeddu LX, Bonisch H, Gothert M. Effects of metformin on intestinal 5-hydroxytryptamine (5-HT) release and on 5-HT₃ receptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2000, 361, 85–91.

Culpeper N. Culpeper's complete herbal: a book of natural remedies for ancient ills. Ware, Hertfordshire, Wordsworth Editions Ltd, 1995, str. 335.

Curd FHS, Davey DG, Rose FL. Studies on synthetic antimalarial drugs. Some biguanide derivatives as new types of antimalarial substances with both therapeutic and causal prophylactic activity. *Ann Trop Med Parasitol*, 1945, 39, 208–216.

Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 114–118.

Davidson MB, Peters AL. An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med*, 1997, 102, 99–110.

DeFronzo R, Fleming GA, Chen K, Bicsak TA. Metformin-associated lactic acidosis: current perspectives on causes and risk. *Metabolism*, 2016, 65, 20–29.

DeFronzo RA, Goodman AM, The Multicenter Metformin Study Group. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1995, 333, 541–549.

DeFronzo RA. The triumvirate: β -cell, muscle, liver: a collusion responsible for NIDDM. *Diabetes*, 1988, 37, 667–687.

Diabetes Control and Complications Trial Research Group., Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, Rand L, Siebert C. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1993, 329, 977–86.

Diabetes Prevention Program Research Group. Effects of withdrawal from metformin on the development of diabetes in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care*, 2003, 26, 977–980.

Diabetes Prevention Program Research Group. HbA_{1c} as a predictor of diabetes and as an outcome in the Diabetes Prevention Program: a randomized clinical trial. *Diabetes Care*, 2015, 38, 51–58.

Diabetes Prevention Program Research Group. Long-term effects of lifestyle intervention or metformin on diabetes development and microvascular complications over 15-year follow-up:

the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2015, 3, 866–875.

Diabetes Prevention Program Research Group. The Diabetes Prevention Program. Design and methods for a clinical trial in the prevention of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 1999, 22, 623–634. *Diabetologia*, 2013, 56, 1462–70.

Dujic T, Zhou K, Donnelly LA, Tavendale R, Palmer CN, Pearson ER. Association of organic cation transporter 1 with intolerance to metformin in type 2 diabetes: a GoDARTS study. *Diabetes*, 2015, 64, 1786–1793.

Dujic T, Zhou K, Tavendale R, Palmer CN, Pearson ER. Effect of serotonin transporter 5-HTTLPR polymorphism on gastrointestinal intolerance to metformin: a GoDARTS study. *Diabetes Care*, 2016, 39, 1896–1901.

Dujic T, Zhou K, Yee SW. Variants in pharmacokinetic transporters and glycemic response to metformin: a metgen meta-analysis. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 101, 763–772.

Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E, Uono H. Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112, 1809–1814

El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, Averet N, Rigoulet M, Leverve X. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *J Biol Chem*, 2000, 275, 223–228.

FDA Approves New Diabetes Drug, 1994., <https://web.archive.org/web/20070929152824/http://www.fda.gov/bbs/topics/ANSWERS/ANS00627.html>, pristupljeno 23.7.2019.

Ferguson AW, De La Harpe PL, Farquhar JW. Dimethyl biguanide in the treatment of diabetic children. *Lancet*, 1961, 1, 1367–1369.

Florez JC, Jablonski KA, Bayley N. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med*, 2006, 355, 241–250.

Foretz M, Hebrard S, Leclerc J et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest*, 2010, 120, 2355–2369.

Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*, 2015, 528, 262–266.

Fullerton MD, Galic S, Marcinko K. Single phosphorylation sites in ACC1 and ACC2 regulate lipid homeostasis and the insulin-sensitizing effects of metformin. *Nat Med*, 2013, 19, 1649–1654.

Galega officinalis. https://en.wikipedia.org/wiki/Galega_officinalis.

Garber AJ, Duncan TG, Goodman AM, Mills DJ, Rohlf JL. Efficacy of metformin in type II diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, dose-response trial. *Am J Med*, 1997, 103, 491–497.

Garcia EY. Flumamine, a new synthetic analgesic and anti-flu drug. *J Philippine, Med Assoc*, 1950, 26, 287–293.

Goldberg R, Temprosa M, Otvos J. Lifestyle and metformin treatment favorably influence lipoprotein subfraction distribution in the Diabetes Prevention Program. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98, 3989–3998.

Goldberg RB, Aroda VR, Bluemke DA. Effect of long-term metformin and lifestyle in the Diabetes Prevention Program and its outcome study on coronary artery calcium. *Circulation*, 2017, 136, 52–64.

Goldberg RB, Temprosa MG, Mather KJ. Lifestyle and metformin interventions have a durable effect to lower CRP and tPA levels in the Diabetes Prevention Program except in those who develop diabetes. *Diabetes Care*, 2014, 37, 2253–2260.

Gong L, Goswami S, Giacomini KM, Altman RB, Klein TE. Metformin pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics*. 2011, 22, 820–7.

Gormsen LC, Sundelin EI, Jensen JB et al. In vivo imaging of human ¹¹C-metformin in peripheral organs: dosimetry, biodistribution, and kinetic analyses. *J Nucl Med*, 2016, 57, 1920–1926.

Graham GG, Punt J, Arora M et al. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*, 2011, 50, 81–98.

Hadden DR. Goat's rue—French lilac – Italian fitch – Spanish sainfoin: *gallega officinalis* and metformin: the Edinburgh connection. *J R Coll Physicians Edinb*, 2005, 35, 258–260.

Hadigan C, Corcoran C, Basgoz N, Davis B, Sax P, Grinspoon S. Metformin in the treatment of HIV lipodystrophy syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2000, 284, 472–477.

Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13, 251–262.

Hawley SA, Ross FA, Chevtzoff C et al. Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation. *Cell Metab*, 2010, 11, 554–565.

Hermann LS. Metformin: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Diabete Metab*, 1979, 5, 233–245.

Hesse G, Taubmann G. Die Wirkung des Biguanids und seiner Derivate auf den Zuckerstoffwechsel. *Arch Exp Path Pharmacol*, 1929, 142, 290–308.

Hill J. The vegetable system. Or the internal structure and the life of plants; their parts, and nourishment, explained; their classes, orders, genera, and species, ascertained, and described; in a methods altogether new: comprehending an artificial index, and a natural system. With figures of all the plants; designed and engraved by the author. The whole from nature only. Vol. XXI, containing plants and four-petal'd irregular flowers. London, 1772, str. 54.

Hirsch C, Sterne J. Experimental basis for combined treatment of diabetes with the biguanide-sulfonamide association. *Diabete*, 1964, 12, 171–175.

Hivert MF, Jablonski KA, Perreault L. Updated genetic score based on 34 confirmed type 2 diabetes loci is associated with diabetes incidence and regression to normoglycemia in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*, 2011, 60, 1340–1348.

Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev*, 2007, 87, 1409–39.

Hostalek U, Gwilt M, Hildemann S. Therapeutic use of metformin in prediabetes and diabetes prevention. *Drugs*, 2015, 75, 1071–1094.

Howell JJ, Hellberg K, Turner M. Metformin inhibits hepatic mTORC1 signaling via dose-dependent mechanisms involving AMPK and the TSC complex. *Cell Metab*, 2017, 25, 463–471.

Howlett HCS, Bailey CJ. Galegine and antidiabetic plants. In: Bailey CJ, Campbell IW, JCN C et al (eds) *Metformin—the gold standard: a scientific handbook*. Wiley, Chichester, 2007, str. 3–9.

Howlett HCS, Bailey CJ. Metformin: a chemical perspective. In: Bailey CJ, Campbell IW, Chan JCN et al (eds) *Metformin, the gold standard. A scientific handbook*. Chichester, Wiley, 2007, str. 23–28.

Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, Inzucchi SE, Schumann WC, Petersen KF, Landau BR, Shulman GI. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2000, 49, 2063–9.

Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centered approach. Update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*, 2015, 58, 429–442.

Inzucchi SE, Lipska KJ, Mayo H, Bailey CJ, McGuire DK. Metformin in patients with type 2 diabetes and kidney disease: a systematic review. *JAMA*, 2014, 312, 2668–2675.

Inzucchi SE, Maggs DG, Spollett GR. Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1998, 338, 867–872.

Johanns M, Lai YC, Hsu MF et al. AMPK antagonizes hepatic glucagon-stimulated cyclic AMP signalling via phosphorylation-induced activation of cyclic nucleotide phosphodiesterase 4B. *Nat Commun*, 2016, 7, 10856.

- Jorsal T, et al. Altered enteroendocrine expression of glucagon and somatostatin in the gut of patients with type 2 diabetes compared with healthy matched controls. *Diabetologia*, 2014, 57.
- Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab*, 2005, 1, 15–25.
- Kahn SE, Haffner SM, Heise MA. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med*, 2006, 355, 2427–2443.
- Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med*, 2002, 137, 25–33.
- Kitabchi AE, Temprosa M, Knowler WC. Role of insulin secretion and sensitivity in the evolution of type 2 diabetes in the Diabetes Prevention Program: effects of lifestyle intervention and metformin. *Diabetes*, 2005, 54, 2404–2414.
- Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*, 2002, 346, 393–403.
- Lachin JM, Christophi CA, Edelstein SL. Factors associated with diabetes onset during metformin versus placebo therapy in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*, 2007, 56, 1153–1159.
- Lalau JD. Lactic acidosis induced by metformin: incidence, management and prevention. *Drug Saf*, 2010, 33, 727–740.
- Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*, 2010, 5, 5, 9085.
- Leclerc H. Le galega. *Presse Med*, 1928.
- Livingstone R, Boyle JG, Petrie JR; REMOVAL Study Team. A new perspective on metformin therapy in type 1 diabetes. *Diabetologia*, 2017, 60(9), 1594-1600.
- Livingstone SJ, Looker HC, Hothersall EJ, Wild SH, Lindsay RS, Chalmers J, Cleland S, Leese GP, McKnight J, Morris AD, Pearson DW, Peden NR, Petrie JR, Philip S, Sattar N, Sullivan F, Colhoun HM. Risk of cardiovascular disease and total mortality in adults with type 1 diabetes: Scottish registry linkage study. *PLoS Med*, 2012, 9(10), 1001321.
- Lochhead PA, Salt IP, Walker KS, Hardie DG, Sutherland C. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCCK and glucose-6-phosphatase. *Diabetes*, 2000, 49, 896–903.
- Luft D, Schmulling RM, Eggstein M. Lactic acidosis in biguanide-treated diabetics. *Diabetologia*, 1978, 14, 75–87.

Massollo M, Marini C, Brignone M. Metformin temporal and localized effects on gut glucose metabolism assessed using 18F-FDG PET in mice. *J Nucl Med*, 2013, 54, 259, 266.

Mawe GM, Hoffman JM. Serotonin signalling in the gut--functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10, 473–486.

McKendry JB, Kuwayti K, Rado PP. Clinical experience with DBI (phenformin) in the management of diabetes. *Can Med Assoc J*, 1959, 80, 773–778.

Mehnert H, Seitz W. Weitere Ergebnisse der Diabetesbehandlung mit blutzuckersenkenden Biguaniden. *Münch Med Wochenschr*, 1958, 100, 1849–1851.

Meštrović, Tomislav. 2018. *Metformin Contraindications*. News-Medical, <https://www.news-medical.net/health/Metformin-Contraindications.aspx>., pristupljeno 23.7.2019.

Miller RA, Chu Q, Xie J, Foretz M, Viollet B, Birnbaum MJ. Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. *Nature*, 2013, 494, 256–260.

Moiseeva O, Deschenes-Simard X, St-Germain E. Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with IKK/NF- κ B activation. *Aging Cell*, 2013, 12, 489–498.

Moreira PI. Metformin in the diabetic brain: friend or foe? *Ann Transl Med*, 2014, 2, 54.

Mula-Abed WA, Al Rasadi K, Al-Riyami D. Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR): A Serum Creatinine-Based Test for the Detection of Chronic Kidney Disease and its Impact on Clinical Practice. *Oman Med J*, 2012, 27, 108-13.

Muller H, Reinwein H. Zur Pharmakologie des Galegins. *Arch Exp Path Pharmacol*, 1927, 125, 212–228.

Natali A, Ferrannini E. Effects of metformin and thiazolidinediones on suppression of hepatic glucose production and stimulation of glucose uptake in type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetologia*, 2006, 49, 434–441.

Natras M, Alberti KGMM. Biguanides. *Diabetologia*, 1978, 14, 71–74.

Nestler JE. Metformin for the treatment of the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*, 2008, 358, 47–54.

Orchard TJ, Temprosa M, Goldberg R. The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. *Ann Intern Med*, 2005, 142, 611–619.

Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J*, 2000, 348, 607–614.

Parturier H, Hugnot G. Le galega dans le traitement du diabète. *Massons*, Paris, 1935.

Pasik C, Jean Sterne: a passion for research. In: Pasik C (ed) *Glucophage: serving diabetology for 40 years*. Lyon, Groupe Lipha, 1997, str. 29–31.

Pasik C. Diabetes and the biguanides: the mystery of each. In: Pasik C (ed) *Glucophage: serving diabetology for 40 years*. Lyon, Groupe Lipha, 1997, str. 79.

Pearce EL, Walsh MC, Cejas PJ. Enhancing CD8 T-cell memory by modulating fatty acid metabolism. *Nature*, 2009, 460, 103–107.

Petrie JR, Chaturvedi N, Ford I, Hramiak I, Hughes AD, Jenkins AJ, E Klein B, Klein R, Ooi TC, Rossing P, Sattar N, Stehouwer CD, Colhoun HM, REMOVAL Trial Team. Metformin in adults with type 1 diabetes: Design and methods of REducing with MetfOrmin Vascular Adverse Lesions (REMOVAL): An international multicentre trial. *Diabetes Obes Metab*, 2017, 19(4), 509–516.

Rabinowiz IM. Observations on the use of synthalin in the treatment of diabetes mellitus. *Can Med Assoc*, 1927, 17, 901–904.

Rathke B. Uber Biguanid. *Ber Dtsch Chem Ges*, 1879, 12, 776–784.

Ratner R, Goldberg R, Haffner S. Impact of intensive lifestyle and metformin therapy on cardiovascular disease risk factors in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care*, 2005, 28, 888–894.

Ratner RE, Christophi CA, Metzger BE. Prevention of diabetes in women with a history of gestational diabetes: effects of metformin and lifestyle interventions. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93, 4774–4779.

Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988, 37, 1595–1607.

Ross FA, MacKintosh C, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a cellular energy sensor that comes in 12 flavours. *FEBS J*, 2016, 283, 2987–3001.

Rowan JA, Hague WM, Gao W, Battin MR, Moore MP for the MiG Trial Investigators. Metformin versus insulin for the treatment of gestational diabetes. *N Engl J Med*, 2008, 358, 2003–2015.

Sathish Babu Vasamsetti, Santosh Karnewar, Anantha Koteswararao Kanugula, Avinash Raj Thatipalli, Jerald Mahesh Kumar, Srigiridhar Kotamraju. Metformin Inhibits Monocyte-to-Macrophage Differentiation via AMPK-Mediated Inhibition of STAT3 Activation: Potential Role in Atherosclerosis. *Diabetes*, 2015, 64, 2028–2041.

Schäfer G. Biguanides: a review of history, pharmacodynamics and therapy. *Diabete Metab*, 1983, 9, 148–163.

Shah RR, Oates NS, Idle JR, Smith RL. Genetic impairment of phenformin metabolism. *Lancet*, 1980, 315, 1147.

- Shapiro SL, Parrino VA, Freedman L. Hypoglycemic agents. III.¹⁻³N1-alkyl- and aralkylbiguanides. *J Am Chem Soc*, 1959, 81, 3728–3736.
- Shin NR, Lee JC, Lee HY. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut*, 2014, 63, 727–735.
- 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, 1422–1431.
- Slota KH, Tschesche R. Über Biguanide. Die blutzuckersenkende Wirkung der Biguanides. *Ber Dtsch Chem Ges*, 1929, 62, 1398–1405.
- Sterne J, Duval D, Junien JL. Aspects of pharmacology and mechanisms of action. In: Cudworth AG (ed) Metformin: current aspects and future developments. *Research and Clinical Forums, Vol. 1*, Tunbridge Wells, 1979, str. 13–20.
- Sterne J. Blood sugar-lowering effect of 1,1-dimethylbiguanide. *Therapie*, 1958, 13, 650–659.
- Sterne J. Du nouveau dans les antidiabétiques. La NN diméthylamine guanyl guanidine (N.N.D.G.) *Maroc Med*, 1957, 36, 1295–1296.
- Sterne J. Mechanism of action of antidiabetic biguanides. *Presse Med*, 1964, 72, 17–19.
- Sterne J. Pharmacology and mode of action of the hypoglycemic guanidine derivatives. In: Campbell GD (ed) Oral hypoglycemic agents. *Academic Press*, London, 1969, str. 193–245.
- Sterne J. Report on 5-years' experience with dimethylbiguanide (metformin, glucophage) in diabetic therapy. *Wien Med Wochenschr*, 1963, 113, 599–602.
- Sterne J. Treatment of diabetes mellitus with N,N-dimethylguanylguanidine (LA. 6023, glucophage). *Therapie*, 1959, 14, 625–630.
- Sundelin EI, Gormsen LC, Jensen JB. Genetic polymorphisms in organic cation transporter 1 attenuates hepatic metformin exposure in humans. *Clin Pharmacol*, 2017, 10, 841–848.
- Šećerna bolest, 2017., <https://www.hzjz.hr>, pristupljeno 9.9.2019.
- Tankova T, Koev D, Dakovska L, Kirilov G. Therapeutic approach in insulin resistance with acanthosis nigricans. *Int J Clin Pract*, 2002, 56, 578–581.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet*, 1998, 352, 854–865.
- Ungar G, Freedman L, Shapiro SL. Pharmacological studies of a new oral hypoglycemic drug. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1957, 95, 190–192.

University Group Diabetes Program. A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes. Evaluation of phenformin therapy. *Diabetes*, 1975, 24, 65–184.

Vasamsetti SB, Karnewar S, Kanugula AK, Thatipalli AR, Kumar JM, Kotamraju S. Metformin inhibits monocyte-to-macrophage differentiation via AMPK-mediated inhibition of STAT3 activation: potential role in atherosclerosis. *Diabetes*, 2015, 64, 2028–2041.

Vincent MF, Marangos PJ, Gruber HE, Van den Berghe G. Inhibition by AICA riboside of gluconeogenesis in isolated rat hepatocytes. *Diabetes*, 1991, 40, 1259–1266.

Walker RS, Linton AL. Phenethylbiguanide: a dangerous side effect. *Br Med J*, 1959, 2, 1005–1006.

Wang J. The Plasma Membrane Monoamine Transporter (PMAT): Structure, Function, and Role in Organic Cation Disposition. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 100, 489–499.

Wang DS, Jonker JW, Kato Y, Kusuhara H, Schinkel AH, Sugiyama Y. Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 302, 510–515.

Werner EA, Bell J. The preparation of methylguanidine, and of $\beta\beta$ -dimethylguanidine by the interaction of dicyandiamide, and methylammonium and dimethylammonium chlorides respectively. *J Chem Soc Trans*, 1922, 121, 1790–1794.

Wiernsperger NF, Bailey CJ. The antihyperglycaemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs* 58, 1999, 1, 31–39.

Wilcock C, Bailey CJ. Accumulation of metformin by tissues of the normal and diabetic mouse. *Xenobiotica*, 1994, 24, 49–57.

Williams G. Management of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*, 1994, 343, 95–100.

Wollen N, Bailey CJ. Inhibition of hepatic gluconeogenesis by metformin: synergism with insulin. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37, 4353–4358.

World Health Organization. WHO model list of essential medicines. 2015., [www.who.int](http://www.who.int/pristupljeno), pristupljeno 21.5.2019.

Wulffele MG, Kooy A, Lehert P. Combination of insulin and metformin in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2002, 25, 2133–2140.

Xiao B, Sanders MJ, Underwood E, Heath R, Mayer FV, Carmena D, Jing C, Walker PA, Eccleston JF, Haire LF, Saiu P, Howell SA, Aasland R, Martin SR, Carling D, Gamblin SJ. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP. *Nature*, 2011, 472, 230–233.

Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C, Chen Y, Ji L. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*, 2013, 27, 8, 71108.

Zhou K, Donnelly LA, Kimber CH. Reduced-function SLC22A1 polymorphisms encoding organic cation transporter 1 and glycemic response to metformin: a GoDARTS study. *Diabetes*, 2009, 58, 1434–1439.

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.

7. SAŽETAK

Metformin, lijek sintetiziran još 20-ih godina prošlog stoljeća svoje odobrenje je dočekaao tek 1994. godine. Sintetiziran je po uzoru na prirodni spoj galegin, izoliran iz *Galege officinalis*. Danas se koristi kao zlatni standard u terapiji šećerne bolesti Tipa 2, a novija istraživanja pokazuju i njegovu širu primjenu. Metformin smanjuje glukozu u krvi i povećava inzulinsku osjetljivost. Glavna ciljna tkiva metformina su jetra i crijeva. U jetrima inhibira glukoneogenezu, a u crijevima smanjuje apsorpciju glukoze. Za liječenje šećerne bolesti Tipa 2 koristi se kao monoterapija ili u kombiniranoj terapiji, a istraživanja upućuju i na ulogu metformina u prevenciji šećerne bolesti. Metformin također djeluje i na upalu i mikrobiotu crijeva. Kod šećerne bolesti Tipa 1 može se primjenjivati kao dodatna terapija jer smanjuje potrebu za inzulinom. Nuspojave metformina su rijetke, a najčešće su gastro-intestinalne nuspojave. Uloga metformina u liječenju drugih bolesti još uvijek se istražuje.

8. SUMMARY

Metformin, a drug synthesized in the 1920s, was not approved until 1994. It was modeled on the natural compound galegin, isolated from *Galega officinalis*. Today, it is used as the gold standard in type 2 diabetes, and more recent studies show its widespread use. Metformin lowers blood glucose and increases insulin sensitivity. The main target tissues of metformin are the liver and intestines. In the liver it inhibits gluconeogenesis, and in the intestine it decreases glucose absorption. For the treatment of Type 2 diabetes, it is used as monotherapy or in combination therapy, and research has suggested the role of metformin in the prevention of diabetes. Metformin also acts on inflammation and gut microbiota. Metformin can be used in Type 1 diabetes as an adjunctive therapy as it reduces the need for insulin. Metformin side effects are rare, most commonly gastro-intestinal side effects. The role of metformin in the treatment of other diseases is still under investigation.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
Opća klinička biokemija
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

METFORMIN

Ina Tekić

SAŽETAK

Metformin, lijek sintetiziran još 20-ih godina prošlog stoljeća svoje odobrenje je dočeka tek 1994. godine. Sintetiziran je po uzoru na prirodni spoj galegin, izoliran iz *Galege officinalis*. Danas se koristi kao zlatni standard u terapiji šećerne bolesti Tipa 2, a novija istraživanja pokazuju i njegovu širu primjenu. Metformin smanjuje glukozu u krvi i povećava inzulinsku osjetljivost. Glavna ciljna tkiva metformina su jetra i crijeva. U jetrima inhibira glukoneogenezu, a u crijevima smanjuje apsorpciju glukoze. Za liječenje šećerne bolesti Tipa 2 koristi se kao monoterapija ili u kombiniranoj terapiji, a istraživanja upućuju i na ulogu metformina u prevenciji šećerne bolesti. Metformin također djeluje i na upalu i mikrobiotu crijeva. Kod šećerne bolesti Tipa 1 može se primjenjivati kao dodatna terapija jer smanjuje potrebu za inulinom. Nuspojave metformina su rijetke, a najčešće su gastro-intestinalne nuspojave. Uloga metformina u liječenju drugih bolesti još uvijek se istražuje.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 40 stranica, 11 grafičkih prikaza, 1 tablica i 160 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: metformin, šećerna bolest, prevencija, terapija, nuspojave

Mentor: **Dr. sc. Roberta Petlevski**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Roberta Petlevski**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Lidija Bach Rojcky, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Željka Vanić, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: rujan 2019.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical Biochemistry
Department of Medical Biochemistry and Haematology
General clinical biochemistry
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

METFORMIN

Ina Tekić

SUMMARY

Metformin, a drug synthesized in the 1920s, was not approved until 1994. It was modeled on the natural compound galegin, isolated from *Galega officinalis*. Today, it is used as the gold standard in type 2 diabetes, and more recent studies show its widespread use. Metformin lowers blood glucose and increases insulin sensitivity. The main target tissues of metformin are the liver and intestines. In the liver it inhibits gluconeogenesis, and in the intestine it decreases glucose absorption. For the treatment of Type 2 diabetes, it is used as monotherapy or in combination therapy, and research has suggested the role of metformin in the prevention of diabetes. Metformin also acts on inflammation and gut microbiota. Metformin can be used in Type 1 diabetes as an adjunctive therapy as it reduces the need for insulin. Metformin side effects are rare, most commonly gastro-intestinal side effects. The role of metformin in the treatment of other diseases is still under investigation.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 40 pages, 11 figures, 1 table and 160 references. Original is in Croatian language.

Keywords: metformin, diabetes, prevention, therapy, side effects

Mentor: **Robert Petlevski, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Robert Petlevski, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Lidija Bach Rojceky, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Željka Vanić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2019.