

Received: 2011.03.08
Accepted: 2011.04.21
Published: 2011.05.06

Metformina – mechanizmy działania i zastosowanie w terapii cukrzycy typu 2

Metformin – mechanisms of action and use for the treatment of type 2 diabetes mellitus

Marzena Grzybowska, Joanna Bober, Maria Olszewska

Zakład Chemii Medycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Streszczenie

Metformina jest obecnie najczęściej zalecanym lekiem w terapii cukrzycy typu 2. Mimo iż ta pochodna biguanidu jest stosowana od ponad 50 lat, mechanizm jej działania nie został dokładnie poznany. W pracy przedstawiono najnowsze doniesienia o mechanizmach antyhiperglikemicznego działania metforminy. Obejmują one: zmniejszenie wchłaniania glukozy w jelicie cienkim, zwiększony transport glukozy do komórek, obniżenie osoczowego stężenia wolnych kwasów tłuszczowych oraz hamowanie glukoneogenezy. Szczególną rolę w tych procesach odgrywa aktywacja kinazy białkowej aktywowanej przez AMP. Najnowsze odkrycia umożliwiły poznanie mechanizmów działania przeciwniażdżycowego, hipotensyjnego i przeciwnowotworowego metforminy oraz jej wpływu na czynność śródbłónka naczyń. Pleiotropowe działanie metforminy obejmuje wpływ na profil lipidowy osocza, zmniejszenie stresu oksydacyjnego, a także zwiększenie aktywności fibrynolitycznej osocza. Mimo że metformina nie jest metabolizowana, najnowsze badania wykazały, że jest aktywnie transportowana do hepatocytów, a także do komórek nabłonka kanalików nerkowych, odpowiednio przez OCT1 (organic cation transporter 1, kodowany przez gen *SLC22A1*) oraz OCT2 (kodowany przez *SLC22A2*). Z kolei transporter MATE1 (multidrug and toxin extrusion 1 protein, kodowany przez gen *SLC47A1*) umożliwia wydzielenie metforminy z tych komórek do żółci lub moczu. Polimorfizm genów transporterów metforminy może się przyczynić do istotnych różnic w reakcji na lek.

Dalsze badania mechanizmów działania metforminy w przyszłości mogą doprowadzić do jej szerszego zastosowania w prewencji cukrzycy typu 2, nowotworów złośliwych, choroby Alzheimera, a także w terapii cukrzycy typu 1 i w zespole policystycznych jajników.

Słowa kluczowe:

metformina • cukrzyca typu 2 • kinaza białkowa aktywowana przez AMP • metabolizm glukozy • farmakogenetyka

Summary

Metformin is widely used for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Although this biguanide derivative has been used for more than 50 years, its mechanism of action has not been fully elucidated. In this article we describe the latest achievements concerning the mechanisms of anti-hyperglycemic action of metformin. They include: decrease of glucose absorption in the small intestine, increase of glucose transport into cells, decrease in the plasma free fatty acid concentrations and inhibition of gluconeogenesis. Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) plays an important role in these processes. The latest discoveries have revealed mechanisms of anti-atherosclerotic, hypotensive and anticancer action of metformin and its impact on vein endothelial function. The pleiotropic actions of metformin include impact on plasma lipid profile,

decrease of oxidative stress, and increase in plasma fibrinolytic activity. Although metformin is not metabolized, the latest research has shown that it is actively transported into hepatocytes and renal tubular epithelium, by OCT1 (*organic cation transporter 1*, encoded by the *SLC22A1* gene) and OCT2 (*organic cation transporter 2*, encoded by the *SLC22A2* gene), respectively. However, MATE1 transporter (*multidrug and toxin extrusion 1* protein) is encoded by the *SLC47A1* gene and facilitates metformin excretion from these cells into bile and urine. Metformin transporter gene polymorphisms may contribute to significant variation in drug response.

Further studies of mechanisms of metformin action could contribute to its wider use for the prevention of type 2 diabetes mellitus, cancer, and Alzheimer's disease, and for the treatment of type 1 diabetes mellitus, and polycystic ovary syndrome (PCOS).

Key words: metformin • diabetes mellitus type 2 • AMP-activated protein kinase • glucose metabolism • pharmacogenetics

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=941655>

Word count: 3678

Tables: –

Figures: 2

References: 75

Adres autorki: mgr inż. Marzena Grzybowska, Zakład Chemii Medycznej PUM, ul. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin; e-mail: MarzenaGrzybek@interia.pl

HISTORIA ZASTOSOWANIA METFORMINY

Metformina jest doustnym lekiem hipoglikemicznym, pochodną biguanidu stosowaną w leczeniu pacjentów chorych na cukrzycę typu 2. Historia zastosowania pochodnych guanidyny w Europie sięga czasów Średniowiecza, kiedy to w medycynie ludowej używano rutwicy lekarskiej (*Galega officinalis*) w leczeniu symptomów przypisanych cukrzycy typu 2. W XVII wieku Nicholas Culpeper w traktacie „The English Physitian or an astrologo-physical discourse on the vulgar herbs of this nation” przypisał rutwicy lekarskiej właściwości przeciwcukrzycowe [4].

Badania przeprowadzone na przełomie XIX i XX wieku wykazały, że rutwica lekarska zawiera guanidynę o działaniu hipoglikemicznym. Jednak sama guanidyna nie znalazła zastosowania w lecznictwie z powodu zbyt dużej toksyczności. Mniej toksycznym ekstraktem pozyskanym z rutwicy lekarskiej była galegina (izoamylenguanidyna), którą stosowano przez krótki okres w latach dwudziestych ub.w., jako lek przeciwcukrzycowy. W 1926 r. Frank, Nothmann i Wagner wykazali silne działanie przeciwcukrzycowe dwóch syntetycznych diguanidów: dekametylenodiguanidyny (syntalina A) i dodekametylenodiguanidyny (syntalina B) o lepszej tolerancji niż galegina. Tymczasem insulina stawała się bardziej dostępna, a wzrastała świadomość toksyczności i ograniczonej skuteczności hipoglikemizujących pochodnych diguanidyny. Prowadziło to do zaprzestania stosowania syntaliny A i B na początku lat trzydziestych XX wieku, chociaż w Niemczech syntalina B była stosowana do połowy lat czterdziestych ub.w. W 1929 r. otrzymano pierwszy syntetyczny biguanid – siarczan biguanidu. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach nie wykazano toksycznego działania biguanidu, jednakże lek ten nie był stosowany u ludzi. W 1957 r. Jean Sterne wykazał przeciwcukrzycowe działanie dimetylobiguanidu – metforminy. Silniejsze właściwości hipoglikemizujące od

metforminy miały inne pochodne biguanidu: buformina i fenformina, które pod koniec lat siedemdziesiątych ub.w. zostały wycofane z użycia w wielu krajach, z powodu dużego ryzyka rozwoju kwasicy mleczanowej. Na podstawie wyników badań de Fronzo i wsp. oraz Stumvoll i wsp. metformina została ponownie wprowadzona do użycia w USA w 1995 r. przez Food and Drug Administration (FDA) [4].

FARMAKOKINETYKA METFORMINY

Metformina nie jest metabolizowana i prawie 90% dawki zaabsorbowanej jest wydalane z moczem w czasie 12 godzin [68]. Żołądkowo-jelitowa absorpcja metforminy jest niepełna, prawie 20–30% jest wydalane z kałem w stanie niezmiennym. Całkowita biodostępność po podaniu doustnym w dawce 0,5–1,5 g wynosi 50–60% [15].

FARMAKOGENETYKA METFORMINY

Najnowsze badania wykazały, że metformina jest aktywnie transportowana do hepatocytów, a także do komórek nabłonka kanalików nerkowych odpowiednio przez OCT1 (*organic cation transporter 1*, kodowany przez gen *SLC22A1*) oraz OCT2 (kodowany przez *SLC22A2*) [74]. Natomiast MATE1 (*multidrug and toxin extrusion 1* protein) kodowany przez gen *SLC47A1* umożliwia wydzielenie metforminy z tych komórek do żółci lub moczu [46]. Polimorfizm genów transporterów metforminy może różnicować reakcje na lek. U myszy OCT1^{-/-} stężenia tkankowe metforminy w wątrobie i jelicie cienkim były znacznie niższe niż u zwierząt z funkcjonalnym transporterem [67]. W hepatocytach wyizolowanych od myszy OCT1^{-/-} wpływ metforminy na aktywność AMPK i glukoneogenezę został zahamowany [59]. U ludzi wykazano istotny wpływ genotypu OCT1 na farmakokinetykę metforminy: nosiciele alleli związanych z upośledzoną funkcją transportera (R61C, G401S, 420del, G465R) mieli wyższe maksymalne

stężenia w osoczu, oraz mniejszą objętość dystrybucji [58]. Natomiast polimorfizmy genu *SLC22A2* kodującego OCT2 (c.596C>T, c.602C>T, c.808G>T) związane są ze zmniejszeniem klirensu nerkowego metforminy [60]. Jednakże Shikata i wsp. nie wykazali, aby polimorfizmy genów kodujących OCT1 i OCT2 istotnie wpływały na kliniczną skuteczność metforminy w leczeniu cukrzycy [57].

Dotychczas wykazano związek jednego polimorfizmu genu *SLC47A1* z poziomem HbA1C u leczonych metforminą [5], lecz nie obserwowano wpływu wariantów tego genu na nerkowy klirens metforminy [65].

DZIAŁANIE ANTYHIPERGLIKEMICZNE

Hamowanie glukoneogenezy

Wyniki badań *in vivo* są zgodne z badaniami *in vitro*, które wykazały hamujące działanie metforminy na proces glukoneogenezy.

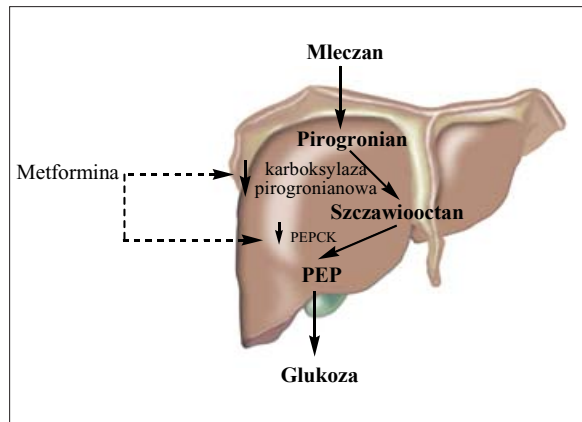
Hundal i wsp. w badaniach przeprowadzonych u pacjentów z cukrzycą typu 2 wykazali, że metformina zmniejsza stężenie glukozy w osoczu na czczo o 25–30% [29]. W perfundowanej wątrobie metformina hamuje glukoneogenezę głównie przez zmniejszenie wychwytu mleczanu przez wątrobę [51]. Inne doniesienia wskazują, że stosowanie metforminy zmniejsza stężenie adenylozotrifosforanu (ATP) w wyizolowanych hepatocytach szczura.

Ponieważ ATP jest allosterycznym inhibitorem kinazy pirogronianowej sugerowano, że metformina zmniejsza wytwarzanie glukozy w wątrobie w wyniku wzrostu aktywności tego enzymu, prowadzącego do zmniejszenia dostępności fosfoenolpirogronianu dla glukoneogenezy [2]. Z kolei Large i Beylot stwierdzili, że metformina zmniejsza szybkość glukoneogenezy przez hamowanie aktywności karboksylazy pirogronianowej i karboksykinazy fosfoenolpirogronianowej [39].

Dokładny mechanizm działania metforminy w zmniejszeniu wytwarzania glukozy przez wątrobę nie został poznany. Uważa się, że podstawowym miejscem jej działania są mitochondria hepatocytów, w których metformina hamuje aktywność kompleksu I łańcucha oddechowego [35,47]. Hamowanie oddychania komórkowego zmniejsza dostępność ATP i szybkość glukoneogenezy oraz może indukować ekspresję transporterów glukozy i zwiększać zużycie glukozy. Dotychczas nie udało się wyjaśnić czy działanie metforminy na oddychanie komórkowe zachodzące w mitochondrium polega na bezpośrednim zwolnieniu przenikania przez wewnętrzną błonę, czy przez niezidentyfikowane szlaki sygnalizacyjne komórki (ryc. 1) [35].

Aktywacja AMPK

Najnowsze badania wykazały, że hamowanie przez metforminą glukoneogenezy w hepatocytach wymaga aktywacji kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK). AMPK jest enzymem heterotrimerycznym składającym się z podjednostki katalitycznej (α) i dwóch podjednostek regulatorowych (β i γ). Istnieją dwie izoformy podjednostki katalitycznej: AMPK $\alpha 1$ – występuje we wszystkich rodzajach tkanek i AMPK $\alpha 2$ – występuje w mięśni



Ryc. 1. Hamowanie glukoneogenezy przez metforminą (na podstawie [35] zmodyfikowano); PEP – fosfoenolpirogronian, PEPCK – karboksykinaza fosfoenolpirogronianowa

szkieletowym, sercu i wątrobie. AMPK działa jak wewnątrzkomórkowy czujnik energii, który ulega aktywacji przy zmniejszeniu stosunku ATP/ADP i fosfokreatyny/kreatyny [45]. Prawdopodobnie w aktywacji AMPK przez metforminą uczestniczą również mechanizmy niezależne od stężeń nukleotydów adeninowych [26]. Jednym z nich może być stymulacja AMPK przez pochodzące z mitochondriów reaktywne formy azotu (RNS), których synteza zwiększa się pod wpływem metforminy [75].

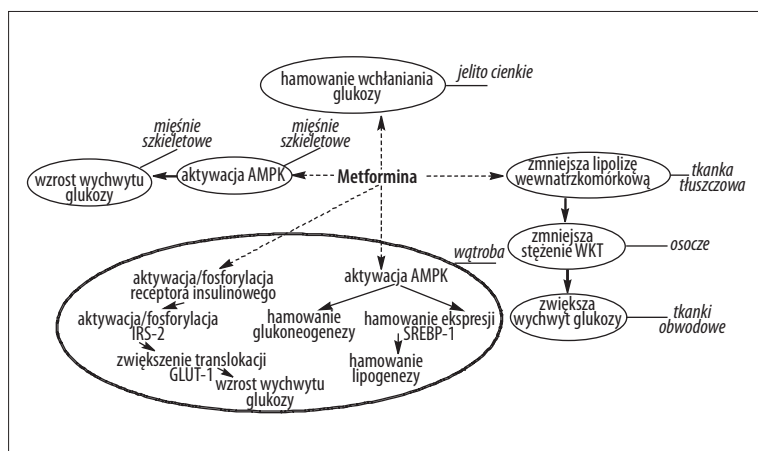
Aktywacja AMPK również stymuluje wychwyt glukozy przez mięśnie szkieletowe. Zhou i wsp. wykazali wzrost aktywności obu katalitycznych podjednostek AMPK w wyniku inkubacji metforminy z wyizolowanymi mięśniami szczura [73]. Mimo wieloletnich badań, działanie metforminy na wychwyt glukozy przez mięśnie szkieletowe pozostaje kontrowersyjne [45].

Na podstawie badań *in vivo* przeprowadzonych u chorych na cukrzycę typu 2 Musi i wsp. wykazali, że metformina zwiększa aktywność AMPK $\alpha 2$ w mięśniach szkieletowych i wychwyt glukozy przez tkanki obwodowe [45].

Zwiększony transport glukozy

Pacjenci z cukrzycą typu 2 charakteryzują się zmniejszonym wychwytem glukozy zależnym od insuliny, który prowadzi do zahamowania transportu glukozy w komórkach mięśni szkieletowych. Zaburzenie wpływu sygnalizacji insuliny na transport glukozy wynika ze zmniejszenia ilości białka GLUT4 na powierzchni komórki [55]. Podczas stosowania metforminy u otyłych szczurów z insulinoopornością wykazano wzrost zależnej od insuliny translokacji transporterów GLUT4 i GLUT1 do błony komórkowej adipocytów bez wzrostu syntezy *de novo* transporterów [44].

Gunton i wsp. wykazali, że w komórkach ludzkich hepatocytów metformina aktywuje receptor insulinowy poprzez jego fosforylację. Prowadzi to do selektywnej fosforylacji i aktywacji substratu receptora insulinowego (IRS-2) oraz wzrostu wychwytu glukozy przez zwiększenie translokacji GLUT-1 [22]. Hamann i wsp. w badaniu przeprowadzonym na ludzkich fibroblastach pochodzących od chorych na cukrzycę wykazali, że metformina powoduje



Ryc. 2. Działanie antyhiperglikemiczne metforminy; IRS-2 – substrat receptora insulinowego, WKT – wolne kwasy tłuszczowe, GLUT-1 – transporter glukozy

ekspresję genu transportera glukozy i wzrostu wytwarzania białka GLUT-1 [23].

Zmniejszenie jelitowego wchłaniania glukozy

Metformina wpływa również na zmniejszenie hiperglikemii poprzez hamowanie wchłaniania glukozy w środkowej części jelita cienkiego [69]. Działanie to może zmniejszyć poposiłkowe stężenie glukozy w krwi. Badania przeprowadzone na szczurach wykazały, że metformina hamuje ponad dwukrotnie absorpcję glukozy z perfundowanego jelita [30].

Obniżenie stężenia wolnych kwasów tłuszczowych (WKT)

U osób chorych na cukrzycę typu 2 występuje podwyższone stężenie WKT. W prospektywnym badaniu epidemiologicznym wykazano, że zwiększone stężenie WKT jest czynnikiem ryzyka progresji cukrzycy typu 2. Wzrost stężenia WKT w krążeniu obwodowym prawdopodobnie hamuje stymulowany insuliną wychwyt glukozy w mięśniach i być może upośledza wydzielanie insuliny przez komórki beta wysp trzustki [3].

W ten sposób, podwyższone stężenie WKT jest nie tylko niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2, ale również prowadzi do zaburzeń czynności metabolicznych wątroby i prawdopodobnie wysp trzustki, tym samym przyspieszając progresję choroby [3].

Randle i wsp. stwierdzili, że wzrost oksydacji WKT zwiększa mitochondrialne stężenie acetylo-CoA i stosunek NADH/NAD⁺, powodując inaktywację dehydrogenazy pirogronianowej. Wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cytrynianu powoduje hamowanie fosfofruktokinazy i wzrost stężenia glukozy-6-fosforanu, który hamując aktywność heksokinazy II prowadzi do zmniejszenia wychwytu glukozy [14].

Natomiast Dresner i wsp. odkryli, że zwiększone stężenie WKT powoduje insulinooporność w mięśniach szkieletowych. Hamowanie stymulowanego insuliną transportu glukozy następuje w wyniku zmniejszenia aktywności związanej z substratem receptora insulinowego I (IRS-1) 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (PI3) [14].

Działanie metforminy na tkankę tłuszczową odgrywa ważną rolę w poprawie kontroli glikemii u pacjentów z cukrzycą typu 2. Dane opublikowane przez Abbasiego i wsp. wykazały, że metformina zmniejsza wydzielanie WKT z tkanki tłuszczowej. Prowadzi to do zmniejszenia stężenia krążących WKT, a tym samym zwiększenia wychwytu glukozy przez tkanki obwodowe [1].

W szczurzych adipocytach metformina hamuje lipolizę stymulowaną katecholaminami [26].

Zhou i wsp. udokumentowali, że aktywacja AMPK przez metforminę hamuje ekspresję SREBP-1, głównego czynnika transkrypcyjnego genów kodujących enzymy lipogenezy. SREBP-1 odgrywa ważną rolę w patogenezie insulinooporności, dyslipidemii i cukrzycy typu 2. Wzrost aktywności AMPK zmniejsza aktywność karboksylazy acetylo-CoA i syntezy malonylo-CoA, będącego produktem pośrednim lipogenezy [73].

Jak wynika z danych uzyskanych przez Dresnera i wsp. metformina poprzez obniżenie stężenia WKT może również przywracać prawidłowe wydzielanie insuliny przez komórki β, których funkcja wydzielnicza została upośledzona przez długotrwałe działanie zwiększonego stężenia WKT [14].

Riccio i wsp. wykazali, że miesięczna terapia metforminą zmniejsza stężenie WKT oraz szybkość oksydacji z jednoczesnym wzrostem oksydacji glukozy [52,63]. U pacjentów z cukrzycą typu 2 metformina zmniejsza oksydację WKT o 25% (ryc. 2) [49].

DZIAŁANIE NA CZYNNOŚĆ ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ

Dysfunkcja śródbłonna u pacjentów chorych na cukrzycę jest związana z hiperglikemią, zwiększeniem wytwarzania wolnych kwasów tłuszczowych, tworzeniem końcowych produktów glikacji, chemiczną modyfikacją lipoprotein, nadciśnieniem tętniczym, insulinoopornością oraz zmniejszoną biodostępnością tlenu azotu (NO) pochodzącego ze śródbłonna [53]. NO działa ochronnie na ściany naczyń krwionośnych [24]. Hamuje aktywację płytek krwi, rozwój procesu zapalnego przez zmniejszenie adhezji leukocytów i migracji do ściany naczynia oraz zmniejsza proliferację i migrację komórek mięśni gładkich naczyń [6].

Śródbłonek odgrywa główną rolę w regulacji napięcia ściany naczyniowej poprzez uwalnianie NO, związku o silnym działaniu wazodylatacyjnym. Marfella i wsp. dowiedli, że stosowanie metforminy u pacjentów z wcześniej rozpoznaną cukrzycą typu 2 zwiększa przepływ krwi w tętnicach przedramienia indukowany l-argininą (prekursorem tlenku azotu) oraz hamuje aktywność płytek krwi [41]. Także Mather i wsp. potwierdzili, że 12-tygodniowe leczenie metforminą poprawia funkcję śródbłonna zwiększając przepływ krwi indukowany acetylocholiną [42].

Przypuszczalnie jednym z mechanizmów wyjaśniających korzystne działanie metforminy na poprawę funkcji śródbłonna jest aktywacja kinazy białkowej aktywowanej przez AMP. Kinaza ta nasila sygnalizację insuliny w komórkach śródbłonna oraz hamuje wiele procesów związanych z patogenezą insulinooporności, takich jak: estryfikacja kwasów tłuszczowych, aktywacja kinazy białkowej C, nasilenie stresu oksydacyjnego oraz aktywacja inhibitora kinazy κB (IKK) i czynnika transkrypcyjnego NF κB [54].

Hattori i wsp. udokumentowali, że metformina hamuje indukowaną czynnikiem martwicy nowotworów (TNF- α) aktywację transkrypcyjnego czynnika jądrowego NF- κB w komórkach śródbłonna naczyniowego. W ten sposób hamuje zależną od NF- κB ekspresję genów prozapalnych i cząsteczek wspomagających adhezję komórek, takich jak: VCAM-1, E-selektyny, ICAM-1 i MCP-1. Metformina poprzez aktywację AMPK hamuje aktywność IKK i indukowaną przez TNF- α fosforylację I κB - α (inhibitora czynnika transkrypcyjnego NF- κB). W ten sposób metformina może hamować indukowaną cytokiną aktywność NF- κB w komórkach śródbłonna naczyniowego [25].

Metformina działa korzystnie na profil lipidowy osocza przez zmniejszenie stężenia triglicerydów, obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu VLDL i LDL, a także przez wzrost stężenia cholesterolu HDL [48,70]. Niskie stężenie cholesterolu HDL charakterystyczne dla otyłości, nadciśnienia tętniczego, miażdżycy tętnic i słabo wyrównanej cukrzycy typu 2 uważane jest za istotny czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [48].

Metformina zwiększa aktywność fibrynolityczną osocza przez zmniejszenie stężenia inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) [16]. Wykazuje również bezpośrednie działanie stabilizujące płytki krwi [21].

Cukrzyca typu 2 towarzyszy nasilony stres oksydacyjny. Metformina zmniejsza uszkodzenie śródbłonna naczyniowego spowodowane działaniem wolnych rodników i peroksydacją lipidów. Korzystny wpływ na poziom produktów peroksydacji lipidów wynika najprawdopodobniej z poprawy kontroli glikemii [19,64].

DZIAŁANIE PRZECIWMIAŻDZĄCE

Zwiększenie grubości kompleksu intima-media (IMT) w tętnicy szyjnej jest wskaźnikiem postępu zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych. Grubość IMT jest pomocna w ocenie ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych. Katakami i wsp. dowiedli przeciwmiażdżycowego działania metforminy u pacjentów chorych na cukrzycę typu 2. Na podstawie trzyletniej obserwacji stwierdzili

zahamowanie progresji grubości kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej pod wpływem leczenia skojarzonego metforminą z pochodną sulfonilomocznika w porównaniu z pochodną sulfonilomocznika stosowaną w monoterapii [34]. Także Matsumoto i wsp. na podstawie dwuletniej obserwacji dowiedli przeciwmiażdżycowego działania metforminy przez zmniejszenie grubości kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej u pacjentów z cukrzycą typu 2.

Dokładny mechanizm działania metforminy na grubość kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej wspólnej (CCA-IMT) nie został wyjaśniony [43].

DZIAŁANIE HIPOTENSYJNE

Oslabione działanie insuliny w obrębie tętnic może zmniejszać zależną od tlenku azotu relaksację naczyń, aktywność pompy sodowo-potasowej oraz zwiększać stężenie Ca^{2+} w komórkach mięśni gładkich naczyń. Zaburzenia w przenoszeniu sygnału insuliny mogą powodować wzrost oporu naczyniowego [35]. U pacjentów z cukrzycą typu 2 nadciśnienie tętnicze występuje cztery razy częściej niż u zdrowych osób [61].

Zmniejszenie ciśnienia skurczowego krwi nawet o 10 mm Hg zmniejsza o 15% ryzyko zgonu związanego z cukrzycą [35]. U chorych na cukrzycę typu 2 wykazano, że metformina zwiększa upośledzoną aktywność pomp sodowo-potasowych w błonie erytrocytów [9]. Analogiczne działanie w komórkach mięśni gładkich naczyń może zmniejszyć napięcie ścian naczyń i obniżyć ciśnienie tętnicze [31].

Na podstawie pilotażowego badania Landin i wsp. wykazali, że stosowanie metforminy u pacjentów z nieleczonym nadciśnieniem powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego krwi [37]. Również wyniki badań opublikowane przez Giugliano i wsp. wykazały hipotensyjne działanie metforminy u otyłych pacjentów chorych na cukrzycę [20]. Mechanizm hipotensyjnego działania metforminy obejmuje działanie wazodylatacyjne zależne i niezależne od insuliny. Stosowanie metforminy u szczurów z nadciśnieniem wywołuje relaksację tętnicy przez repolaryzację, w wyniku zmniejszenia stężenia Ca^{2+} w komórkach mięśni gładkich naczyń [10,13]. Bhalla i wsp. potwierdzili, że metformina zmniejsza ciśnienie tętnicze krwi przez osłabienie odpowiedzi wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} stymulowanej trombiną w komórkach mięśni gładkich naczyń. Autorzy wykazali również, że stosowanie metforminy u szczurów z nadciśnieniem zwiększa wytwarzanie azotanów w komórkach mięśni gładkich [7].

METFORMINA W MONOTERAPII I LECZENIU SKOJARZONYM Z POCHODNĄ SULFONYLOMOCZNIKA

Badanie United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) przeprowadzone u ponad 4000 pacjentów z nowo wykrytą cukrzycą typu 2 wskazuje, że metformina w terapii skojarzonej z pochodną sulfonilomocznika może zwiększać śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych w porównaniu z leczeniem pochodną sulfonilomocznika [66].

W badaniu tym metformina nie była stosowana na początku terapii, lecz została wprowadzona do leczenia, gdy terapia pochodną sulfonilomocznika nie przyniosła

skutku. Pacjenci leczeni metforminą w skojarzeniu z pochodną sulfonilomocznika mieli gorzej wyrównaną cukrzycę przed zastosowaniem biguanidu. Ponadto charakteryzowali się większą otyłością, która mogła niezależnie zwiększać śmiertelność. Zatem wzrost czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów leczonych terapią skojarzoną prawdopodobnie mógł być raczej wynikiem długotrwałej cukrzycy niż niekorzystnym działaniem terapii skojarzonej [66].

Johnson i wsp. dowiedli, że stosowanie metforminy zarówno w monoterapii, jak i terapii skojarzonej z pochodną sulfonilomocznika, w porównaniu z monoterapią pochodną sulfonilomocznika, zmniejsza całkowitą śmiertelność oraz śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych [33].

Na podstawie nowych doniesień o zastosowaniu metforminy w monoterapii, a także i terapii skojarzonej z pochodną sulfonilomocznika, u pacjentów z cukrzycą i niewydolnością serca, odnotowano niższą śmiertelność, niż u pacjentów leczonych pochodną sulfonilomocznika [17].

W 1998 r. po opublikowaniu wyników badań UKPDS, metformina jest najczęściej zalecanym lekiem w leczeniu cukrzycy typu 2. Badanie to wykazało, że u pacjentów z nadwagą leczenie metforminą w porównaniu z grupą leczonych za pomocą diety, zredukowało występowanie zgonów z powodu cukrzycy o 42% oraz zgonów niezależnie od przyczyny o 36% [66]. Jak dowiedziono stosowanie metforminy w porównaniu z terapią pochodnymi sulfonilomocznika zmniejsza ryzyko wystąpienia nowotworu złośliwego oraz związane z nim ryzyko zgonu. Pochodne sulfonilomocznika zwiększają stężenie insuliny we krwi, która pobudza wzrost komórek organizmu i wykazuje działanie mitogenne. Przypuszcza się, że hiperinsulinemia może aktywować karcynogenezę [38,40].

DZIAŁANIE PRZECIWNOWOTWOROWE

Evans i wsp. jako pierwsi zasugerowali, że stosowanie metforminy u pacjentów z cukrzycą typu 2 może się wiązać ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej [18]. Na podstawie obserwacyjnego badania kohortowego Libby i wsp. potwierdzili słuszność hipotezy, że pacjenci leczeni metforminą charakteryzują się mniejszym ryzykiem powstawania nowotworu w porównaniu z chorymi na cukrzycę typu 2, u których nigdy nie stosowano metforminy.

Podczas 10-letniej obserwacji nowotwór rozpoznano u 7,3% z 4085 osób stosujących metforminę w porównaniu z 11,6% spośród 4084 badanych z grupy porównawczej [40]. Badanie kliniczno-kontrolne przeprowadzone przez Bodmera i wsp. u 22 621 kobiet z cukrzycą typu 2 wykazało, że długotrwałe leczenie metforminą zmniejsza ryzyko rozwoju nowotworu piersi [8]. Prawdopodobny mechanizm biologiczny związany jest z kinazą LKB1, która jest regulatorem AMPK i supresorem nowotworowym. Aktywacja AMPK przez LKB1 odgrywa znaczącą rolę w hamowaniu wzrostu komórek, podczas gdy poziom energii komórkowej jest niski.

Metformina aktywuje AMPK przez hamowanie oddychania mitochondrialnego i zwiększenie stężenia 5'-AMP, który zwiększa aktywację AMPK przez LKB1.

Najprawdopodobniej przeciwnowotworowe działanie metforminy związane jest ze zdolnością AMPK do zachowywania poziomów energii komórkowej, która przez fosforylację białek, takich jak p27KIP i TSC2, prowadzi do zahamowania wzrostu i proliferacji sieci sygnałowych [40].

Wykazano również, że metformina ma potencjalnie korzystne działanie u pacjentów z nowotworami o różnym umiejscowieniu. Na przykład u pacjentów z cukrzycą typu 2, stosowanie zarówno metforminy, jak i neoadiuwantowej chemioterapii z powodu leczenia raka piersi, częściej obserwowano całkowitą remisję, niż u pacjentów nieleczonych metforminą. Ponadto okazało się, że u osób przyjmujących metforminę częstość zachorowań na raka prostaty i trzustki była mniejsza [38].

Natomiast Hirsch i wsp. wykazali, że metformina może hamować transformację komórkową i selektywnie niszczyć macierzyste komórki nowotworowe czterech genetycznie różnych nowotworów piersi. Przypuszcza się, że nowotworowe komórki macierzyste w odróżnieniu od większości komórek nowotworowych są odporne na leki chemioterapeutyczne i mogą regenerować różne rodzaje nowotworów, tym samym powodując nawrót choroby. Dlatego leki, które selektywnie działają na macierzyste komórki nowotworowe dają nadzieję w leczeniu nowotworów, zwłaszcza w połączeniu z chemioterapią.

Metformina dodana do hodowli komórek w połączeniu ze środkiem chemioterapeutycznym – doksorubicyną – niszczy macierzyste komórki nowotworowe. Ponadto obserwacje ksenograftów u myszy wykazały, że terapia skojarzona zmniejsza masę nowotworu i zapobiega nawrotom choroby bardziej skutecznie niż stosowanie obu leków w monoterapii [27].

U pacjentów z cukrzycą typu 2 występuje większe ryzyko zgonu z powodu nowotworu. Po raz pierwszy w prospektywnym badaniu ZODIAC-16 (Zwolle Outpatient Diabetes project Integrating Available Care), dowiedziono że stosowanie metforminy od początku badania związane jest z mniejszą umieralnością z przyczyn nowotworowych oraz że związek ten wydaje się zależny od dawki. Ryzyko śmiertelności z przyczyn chorób nowotworowych zmalało o 42% przy każdym zwiększeniu dawki dobowej metforminy o 1 g. U pacjentów z cukrzycą typu 2, którzy nie przyjmowali metforminy, wykazano zwiększoną śmiertelność na nowotwory w porównaniu do ogółu populacji [38].

DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

Kwasica mleczanowa

Stumvoll i wsp. przeprowadzili badanie w celu ustalenia wpływu metforminy na poprawę regulacji glikemii u pacjentów z cukrzycą typu 2. Po pięciomiesięcznej obserwacji dowiedli, że działanie metforminy na metabolizm mleczanu znacznie różni się od pozostałych biguanidów [62].

Metformina i fenformina są strukturalnie odmiennymi lekami o różnych biochemicznych mechanizmach działania. Wpływ fenforminy na stężenie mleczanu wynika z właściwości fizykochemicznych i biochemicznych. Fenformina ma długi lipofilny łańcuch boczny, dzięki któremu łączy się z błonami mitochondrialnymi, tym samym hamując

system transportu elektronów przez błonę komórkową. Prowadzi to do zmniejszenia oksydacji mleczanu, a ponadto do zwiększenia wydzielania mleczanu z mięśni szkieletowych. Z kolei metformina ma dwa podstawniki metylowe, które wpływają na mniejszą lipofilność cząsteczki. W wyniku tego metformina słabo wiąże się z błonami mitochondrialnymi, a zatem nie hamuje fosforylacji oksydacyjnej, ani nie wpływa na przemianę i utlenianie mleczanu [36].

W 1995 r. de Fronzo i wsp. wykazali, że częstość występowania kwasicy mleczanowej związanej z metforminą jest około 10–20 razy mniejsza, niż w przypadku stosowania fenforminy. W przeprowadzonym badaniu stężenie mleczanu w osoczu na czczo, u pacjentów przyjmujących metforminę, nie było znacząco wyższe [12].

W badaniu COSMIC (Comparative Outcomes Study of Metformin Intervention vs. Conventional) obejmującym siedem tysięcy chorych przyjmujących ten lek, w porównaniu z grupą kontrolną nie zaobserwowano przypadków kwasicy mleczanowej [11].

W Szwecji w latach 1987–1991 u pacjentów leczonych metforminą odnotowano 2,4 przypadki kwasicy mleczanowej na 100 000 osób w ciągu roku [28].

Metaanaliza 194 badań opublikowanych w latach 1959–2002 wykazała, że stosowanie metforminy u ponad 30 000 pacjentów z cukrzycą typu 2, w porównaniu z innym leczeniem hipoglikemizującym, nie było związane ze zwiększonym ryzykiem kwasicy mleczanowej zakończonej lub niezakończonej zgonem oraz ze wzrostem stężenia mleczanu w krwi [56].

Metformina przy prawidłowym dawkowaniu i uwzględnieniu standardowych przeciwwskazań (niewydolność nerek, dysfunkcja wątroby, choroby serca) nie wywołuje kwasicy mleczanowej.

Zaburzenia metabolizmu i odżywiania

W badaniu przeprowadzonym przez de Fronzo zaobserwowano u wszystkich pacjentów przyjmujących metforminę obniżenie stężenia witaminy B₁₂ w surowicy, jednak nie stwierdzono przypadków anemii [12]. Może to jednak tłumaczyć wyniki Aarsanda i wsp. którzy wykazali, że stosowanie metforminy u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca zwiększa całkowite stężenie homocysteiny w surowicy [71]. Homocysteina jest silnym, niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy tętnic, a witamina B₁₂ jest niezbędna do jej przemiany do metioniny. Nie wiadomo jeszcze czy ten wpływ metforminy może mieć negatywne następstwa kliniczne.

Objawy podmiotowe odpowiadające łagodnej hipoglikemii odnotowano u 18% pacjentów w leczeniu skojarzonym z pochodną sulfonilomocznika [12]. Jednak nie stwierdzono hipoglikemii przy stosowaniu metforminy w monoterapii. Dlatego w leczeniu pacjentów chorych na cukrzycę typu 2 może być traktowana jako lek pierwszego wyboru [28]. Z kolei metaanaliza badań randomizowanych

opublikowanych w latach 1957–1996 dowiodła, że skuteczność hipoglikemiczna metforminy i pochodnej sulfonilomocznika jest identyczna. Statystyczną różnicę wykazano jedynie we wpływie na masę ciała. Ponieważ otyłość jest głównym problemem w cukrzycy typu 2, leczenie metforminą pod tym względem jest korzystniejsze niż pochodnymi sulfonilomocznika [32].

ZALECENIA KLINICZNE POLSKIEGO TOWARZYSTWA DIABETOLOGICZNEGO

Zgodnie z zaleceniami klinicznymi dotyczącymi postępowania u chorych na cukrzycę na 2011 rok, leczenie cukrzycy typu 2 musi być progresywne i dostosowane etapami do postępującego charakteru schorzenia. W pierwszym etapie leczenia chorych z towarzyszącą nadwagą wskazane jest stosowanie monoterapii metforminą ze zmniejszeniem kaloryczności posiłków. W drugim etapie doustnej terapii skojarzonej zalecane jest dołączenie do metforminy pochodnej sulfonilomocznika lub leku z grupy inkretynowej. Na tym etapie możliwa jest również terapia trójlekowa z zastosowaniem metforminy (zawsze) i dwóch innych leków o różnych mechanizmach działania z następujących grup: pochodne sulfonilomocznika, inhibitory α -glukozydazy (akarboza), inhibitory DPP-4, agoniści receptora GLP-1. Możliwe jest także dołączenie do metforminy insuliny bazowej, czyli bezpośrednie przejście z etapu 1 do etapu 3, z pominięciem etapu 2.

W insulinoterapii prostej przy utrzymującej się nadwadze rekomendowana jest kontynuacja stosowania metforminy [72].

INNE WSKAZANIA DO STOSOWANIA METFORMINY

Program Diabetes Prevention obejmujący ponad trzy tysiące pacjentów z nieprawidłową tolerancją glukozy wykazał, że leczenie metforminą zmniejsza ryzyko rozwoju cukrzycy podobnie jak stosowanie diety i ćwiczeń fizycznych [45,51]. Udowodniono również, że metformina poprawia kontrolę metaboliczną u pacjentów z cukrzycą typu 1. Ponadto wykazano korzystne działanie u kobiet z zespołem policystycznych jajników. Najnowsze badania sugerują, że stosowanie metforminy w terapii skojarzonej z insuliną może wpływać na złagodzenie postępu choroby Alzheimera.

PODSUMOWANIE

Obecnie metformina jest najczęściej stosowana w leczeniu cukrzycy typu 2. Wyniki badań prowadzonych w ostatnich kilkudziesięciu latach dowiodły, oprócz aktywności antyhiperglikemicznej, dodatkowe działanie zmniejszające ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych. Ponadto potwierdzono korzystny wpływ metforminy na masę ciała, profil lipidowy, ciśnienie tętnicze oraz poprawę funkcji śródbłonna naczyniowego.

Dokładne poznanie molekularnego podłoża działania metforminy może się w przyszłości przyczynić do jej szerszego zastosowania w prewencji i terapii chorób sercowo-naczyniowych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abbasi F., Carantoni M., Chen Y.D., Reaven G.M.: Further evidence for a central role of adipose tissue in the antihyperglycemic effect of metformin. *Diabetes Care*, 1998; 21: 1301–1305
- [2] Argaud D., Roth H., Wiernsperger N., Leverve X.M.: Metformin decreases gluconeogenesis by enhancing the pyruvate kinase flux in isolated rat hepatocytes. *Eur. J. Biochem.*, 1993; 213: 1341–1348
- [3] Arner P.: Free fatty acids – do they play a central role in type 2 diabetes? *Diabetes Obes. Metab.*, 2001; 3: S11–S19
- [4] Bailey C.J., Day C.: Metformin: its botanical background. *Practical Diabetes Int.*, 2004; 21: 115–117
- [5] Becker M.L., Visser L.E., van Schaik R.H., Hofman A., Uitterlinden A.G., Stricker B.H.: 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: 745–749
- [6] Beckman J.A., Creager M.A., Libby P.: Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA*, 2002; 287: 2570–2581
- [7] Bhalla R.C., Toth K.F., Tan E., Bhatti R.A., Mathias E., Sharma R.V.: Vascular effects of metformin. Possible mechanisms for its antihypertensive action in the spontaneously hypertensive rat. *Am. J. Hypertens.*, 1996; 9: 570–576
- [8] Bodmer M., Meier C., Krähenbühl S., Jick S.S., Meier C.R.: Long-term metformin use is associated with decreased risk of breast cancer. *Diabetes Care*, 2010; 33: 1304–1308
- [9] Chakraborty A., Chowdhury S., Bhattacharyya M.: Effect of metformin on oxidative stress, nitrosative stress and inflammatory biomarkers in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.* (w druku)
- [10] Chen X.L., Panek K., Rembold C.M.: Metformin relaxes rat tail artery by repolarization and resultant decreases in Ca^{2+} influx and intracellular $[Ca^{2+}]_i$. *J. Hypertens.*, 1997; 15: 269–274
- [11] Cryer D.R., Nicholas S.P., Henry D.H., Mills D.J., Stadel B.V.: Comparative outcomes study of metformin intervention *versus* conventional approach the COSMIC Approach Study. *Diabetes Care*, 2005; 28: 539–543
- [12] DeFronzo R.A., Goodman A.M.: Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 541–549
- [13] Dominguez L.J., Davidoff A.J., Srinivas P.R., Standley P.R., Walsh M.F., Sowers J.R.: Effects of metformin on tyrosine kinase activity, glucose transport, and intracellular calcium in rat vascular smooth muscle. *Endocrinology*, 1996; 137: 113–121
- [14] Dresner A., Laurent D., Marcucci M., Griffin M.E., Dufour S., Cline G.W., Slezak L.A., Andersen D.K., Hundal R.S., Rothman D.L., Petersen K.F., Shulman G.I.: Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Invest.*, 1999; 103: 253–259
- [15] Dunn C.J., Peters D.H.: Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs*, 1995; 49: 721–749
- [16] Ersoy C., Kiyici S., Budak F., Oral B., Guclu M., Duran C., Selimoglu H., Erturk E., Tuncel E., Imamoglu S.: The effect of metformin treatment on VEGF and PAI-1 levels in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2008; 81: 56–60
- [17] Eurich D.T., Majumdar S.R., McAlister F.A., Tsuyuki R.T., Johnson J.A.: Improved clinical outcomes associated with metformin in patients with diabetes and heart failure. *Diabetes Care*, 2005; 28: 2345–2351
- [18] Evans J.M., Donnelly L.A., Emslie-Smith A.M., Alessi D.R., Morris A.D.: Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ*, 2005; 330: 1304–1305
- [19] Formoso G., De Filippis E.A., Michetti N., Di Fulvio P., Pandolfi A., Bucciarelli T., Ciabattini G., Nicolucci A., Davi G., Consoli A.: Decreased *in vivo* oxidative stress and decreased platelet activation following metformin treatment in newly diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2008; 24: 231–237
- [20] Giugliano D., Quatraro A., Consoli G., Minei A., Ceriello A., De Rosa N., D'Onofrio F.: Metformin for obese, insulin-treated diabetic patients: improvement in glycaemic control and reduction of metabolic risk factors. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1993; 44: 107–112
- [21] Grant P.J.: Beneficial effects of metformin on haemostasis and vascular function in man. *Diabetes Metab.*, 2003; 29: 6S44–6S52
- [22] Gunton J.E., Delhanty P.J., Takahashi S., Baxter R.C.: Metformin rapidly increases insulin receptor activation in human liver and signals preferentially through insulin-receptor substrate-2. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003; 88: 1323–1332
- [23] Hamann A., Benecke H., Greten H., Matthaes S.: Metformin increases glucose transporter protein and gene expression in human fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993; 196: 382–387
- [24] Hamed S., Brenner B., Roguin A.: Nitric oxide: a key factor behind the dysfunctionality of endothelial progenitor cells in diabetes mellitus type-2. *Cardiovasc. Res.*, 2011; (w druku)
- [25] Hattori Y., Suzuki K., Hattori S., Kasai K.: Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor κ B activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Hypertension*, 2006; 47: 1183–1188
- [26] Hawley S.A., Gadalla A.E., Olsen G.S., Hardie D.G.: The antidiabetic drug metformin activates the AMP-activated protein kinase cascade via an adenine nucleotide-independent mechanism. *Diabetes*, 2002; 51: 2420–2425
- [27] Hirsch H.A., Iliopoulos D., Tsiachlis P.N., Struhl K.: Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res.*, 2009; 69: 7507–7511
- [28] Holstein A., Stumvoll M.: Contraindications can damage your health – is metformin a case in point? *Diabetologia*, 2005; 48: 2454–2459
- [29] Hundal R.S., Krssak M., Dufour S., Laurent D., Lebon V., Chandramouli V., Inzucchi S.E., Schumann W.C., Petersen K.F., Landau B.R., Shulman G.I.: Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2000; 49: 2063–2069
- [30] Ikeda T., Iwata K., Murakami H.: Inhibitory effect of metformin on intestinal glucose absorption in the perfused rat intestine. *Biochem. Pharmacol.*, 2000; 59: 887–890
- [31] Jaitovich A., Bertorello A.M.: Salt, Na^+ , K^+ -ATPase and hypertension. *Life. Sci.*, 2010; 86: 73–78
- [32] Johansen K.: Efficacy of metformin in the treatment of NIDDM. *Meta-analysis. Diabetes Care*, 1999; 22: 33–37
- [33] Johnson J.A., Majumdar S.R., Simpson S.H., Toth E.L.: Decreased mortality associated with the use of metformin compared with sulfonylurea monotherapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2002; 25: 2244–2248
- [34] Katakami N., Yamasaki Y., Hayaishi-Okano R., Ohtoshi K., Kaneto H., Matsuhisa M., Kosugi K., Hori M.: Metformin or gliclazide, rather than glibenclamide, attenuate progression of carotid intima-media thickness in subjects with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2004; 47: 1906–1913
- [35] Kirpichnikov D., McFarlane S.I., Sowers J.R.: Metformin: an update. *Ann. Intern. Med.*, 2002; 137: 25–33
- [36] Lalau J.D., Race J.M.: Lactic acidosis in metformin therapy. *Diabetes Obes. Metab.*, 2001; 3: 195–201
- [37] Landin K., Tengborn L., Smith U.: Treating insulin resistance in hypertension with metformin reduces both blood pressure and metabolic risk factors. *J. Intern. Med.*, 1991; 229: 181–187
- [38] Landman G.W., Kleefstra N., van Hateren K.J., Groenier K.H., Gans R.O., Bilo H.J.: Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. *Diabetes Care*, 2010; 33: 322–326
- [39] Large V., Beylot M.: Modifications of citric acid cycle activity and gluconeogenesis in streptozotocin-induced diabetes and effects of metformin. *Diabetes*, 1999; 48: 1251–1257
- [40] Libby G., Donnelly L.A., Donnan P.T., Alessi D.R., Morris A.D., Evans J.M.: New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2009; 32: 1620–1625
- [41] Marfella R., Acampora R., Verrazzo G., Ziccardi P., De Rosa N., Giunta R., Giugliano D.: Metformin improves hemodynamic and rheological responses to L-arginine in NIDDM patients. *Diabetes Care*, 1996; 19: 934–939
- [42] Mather K.J., Verma S., Anderson T.J.: Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2001; 37: 1344–1350
- [43] Matsumoto K., Sera Y., Abe Y., Tominaga T., Yeki Y., Miyake S.: Metformin attenuates progression of carotid arterial wall thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2004; 64: 225–228

- [44] Matthaei S., Reibold J.P., Hamann A., Benecke H., Häring H.U., Greten H., Klein H.H.: *In vivo* metformin treatment ameliorates insulin resistance: evidence for potentiation of insulin-induced translocation and increased functional activity of glucose transporters in obese (fa/fa) Zucker rat adipocytes. *Endocrinology*, 1993; 133: 304–311
- [45] Musi N., Hirshman M.F., Nygren J., Svanfeldt M., Bavenholm P., Rooyackers O., Zhou G., Williamson J.M., Ljunqvist O., Efendic S., Moller D.E., Thorell A., Goodyear L.J.: Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002; 51: 2074–2081
- [46] Otsuka M., Matsumoto T., Morimoto R., Arioka S., Omote H., Moriyama Y.: A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 17923–17928
- [47] Owen M.R., Doran E., Halestrap A.P.: Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex I of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem. J.*, 2000; 348: 607–614
- [48] Palumbo P.J.: Metformin: effects on cardiovascular risk factors in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Diabetes Complications*, 1998; 12: 110–119
- [49] Perriello G., Misericordia P., Volpi E., Santucci A., Santucci C., Ferrannini E., Ventura M.M., Santeusano F., Brunetti P., Bolli G.B.: Acute antihyperglycemic mechanisms of metformin in NIDDM. Evidence for suppression of lipid oxidation and hepatic glucose production. *Diabetes*, 1994; 43: 920–928
- [50] Radziuk J., Zhang Z., Wiernsperger N., Pye S.: Effects of metformin on lactate uptake and gluconeogenesis in the perfused rat liver. *Diabetes*, 1997; 46: 1406–1413
- [51] Ratner R., Goldberg R., Haffner S., Marcovina S., Orchard T., Fowler S., Tempora M.: Impact of intensive lifestyle and metformin therapy on cardiovascular disease risk factors in the diabetes prevention program. Diabetes Prevention Program Research Group. *Diabetes Care*, 2005; 28: 888–894
- [52] Riccio A., Del Prato S., Vigili de Kreutzenberg S., Tiengo A.: Glucose and lipid metabolism in non-insulin-dependent diabetes. Effect of metformin. *Diabetes Metab.*, 1991; 17: 180–184
- [53] Roffi M., Brandle M., Robbins M.A., Mukherjee D.: Current perspectives on coronary revascularization in the diabetic patient. *Indian Heart J.*, 2007; 59: 124–136
- [54] Ruderman N.B., Cacicedo J.M., Itani S., Yagihashi N., Saha A.K., Ye J.M., Chen K., Zou M., Carling D., Boden G., Cohen R.A., Keaney J., Kraegen E.W., Ido Y.: Malonyl-CoA and AMP-activated protein kinase (AMPK): possible links between insulin resistance in muscle and early endothelial cell damage in diabetes. *Biochem. Soc. Trans.*, 2003; 31: 202–206
- [55] Ryder J.W., Yang J., Galuska D., Rincón J., Björnholm M., Krook A., Lund S., Pedersen O., Wallberg-Henriksson H., Zierath J.R., Holman G.D.: Use of a novel impermeable biotinylated photolabeling reagent to assess insulin- and hypoxia-stimulated cell surface GLUT4 content in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 2000; 49: 647–654
- [56] Salpeter S.R., Greyber E., Pasternak G.A., Salpeter E.E.: Risk of fatal and nonfatal lactic acidosis with metformin use in type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Arch. Intern. Med.*, 2003; 163: 2594–2602
- [57] Shikata E., Yamamoto R., Takane H., Shigemasa C., Ikeda T., Otsubo K., Ieiri I.: Human organic cation transporter (OCT1 and OCT2) gene polymorphisms and therapeutic effects of metformin. *J. Hum. Genet.*, 2007; 52: 117–122
- [58] Shu Y., Brown C., Castro R.A., Shi R.J., Lin E.T., Owen R.P., Sheardown S.A., Yue L., Burchard E.G., Brett C.M., Giacomini K.M.: Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1, OCT1, on metformin pharmacokinetics. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2008; 83: 273–280
- [59] Shu Y., Sheardown S.A., Brown C., Owen R.P., Zhang S., Castro R.A., Ianculescu A.G., Yue L., Lo J.C., Burchard E.G., Brett C.M., Giacomini K.M.: Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 1422–1431
- [60] Song I.S., Shin H.J., Shim E.J., Jung I.S., Kim W.Y., Shon J.H., Shin J.G.: Genetic variants of the organic cation transporter 2 influence the disposition of metformin. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2008; 84: 559–562
- [61] Sowers J.R., Epstein M., Frohlich E.D.: Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: an update. *Hypertension*, 2001; 37: 1053–1059
- [62] Stumvoll M., Nurjhan N., Perriello G., Dailey G., Gerich J.E.: Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 550–554
- [63] Szelachowska M., Zonenberg A.: Farmakologiczne leczenie insulinooporności. W: Patofizjologia i następstwa kliniczne insulinooporności, red.: I. Kinalska. WIG-Press, Warszawa 2005, 263–298
- [64] Tessier D., Maheux P., Khalil A., Fülöp T.: Effects of gliclazide *versus* metformin on the clinical profile and lipid peroxidation markers in type 2 diabetes. *Metabolism*, 1999; 48: 897–903
- [65] Tzvetkov M.V., Vormfelde S.V., Balen D., Meineke I., Schmidt T., Sehr D., Sabolić I., Koepsell H., Brockmöller J.: The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters OCT1, OCT2, and OCT3 on the renal clearance of metformin. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2009; 86: 299–306
- [66] 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
- [67] Wang D.S., Jonker J.W., Kato Y., Kusuhara H., Schinkel A.H., Sugiyama Y.: Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2002; 302: 510–515
- [68] Wilcock C., Bailey C.J.: Accumulation of metformin by tissues of the normal and diabetic mouse. *Xenobiotica*, 1994; 24: 49–57
- [69] Wilcock C., Bailey C.J.: Reconsideration of inhibitory effect of metformin on intestinal glucose absorption. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1991; 43: 120–121
- [70] Wu M.S., Johnston P., Sheu W.H., Hollenbeck C.B., Jeng C.Y., Goldfine I.D., Chen Y.D., Reaven G.M.: Effect of metformin on carbohydrate and lipoprotein metabolism in NIDDM patients. *Diabetes Care*, 1990; 13: 1–8
- [71] Wulffélé M.G., Kooy A., Lehert P., Bets D., Ogterop J.C., Borger van der Burg B., Donker A.J., Stehouwer C.D.: Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J. Intern. Med.*, 2003; 254: 455–463
- [72] Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2010. *Diabetol. Prakt.*, 2011; 12(Supl.A)
- [73] Zhou G., Myers R., Li Y., Chen Y., Shen X., Fenyk-Melody J., Wu M., Ventre J., Doebber T., Fujii N., Musi N., Hirshman M.F., Goodyear L.J., Moller D.E.: Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 1167–1174
- [74] Zhou K., Donnelly L.A., Kimber C.H., Donnan P.T., Doney A.S., Leese G., Hattersley A.T., McCarthy M.J., Morris A.D., Palmer C.N., Pearson E.R.: Reduced-function SLC22A1 polymorphisms encoding organic cation transporter 1 and glycemic response to metformin: a GoDARTS study. *Diabetes*, 2009; 58: 1434–1439
- [75] Zou M.H., Kirkpatrick S.S., Davis B.J., Nelson J.S., Wiles W.G., Schlattner U., Neumann D., Brownlee M., Freeman M.B., Goldman M.H.: Activation of the AMP-activated protein kinase by the anti-diabetic drug metformin *in vivo*. Role of mitochondrial reactive nitrogen species. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 43940–43951

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.