

Diplomarbeit

# Metformin - eine Literaturübersicht

eingereicht von

Jakob David Jöbstl

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Innere Medizin

Klinische Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Dr.<sup>in</sup> med.univ. Karin AMREIN, MSc

# Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Neudörfel, am 23. August 2024

*Jakob Jöbstl eh.*

# Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen ein paar Worte des Danks an all jene Menschen zu richten, die mich während meiner Studienzeit begleitet und unterstützt haben. Allenvoran danke ich meinen Eltern für den stetigen Rückhalt und die bedingungslose Unterstützung, welche ich durch sie in allen Lebenslagen erfahren darf.

Desweiteren danke ich meinen Brüdern, Familie, Freunden und Theresa für die vielen unvergesslichen Stunden, welche ihr mir in den vergangenen Jahren beschert habt

Ein besonderen Dank möchte ich meiner Betreuerin, Frau PD Dr.<sup>in</sup> Karin Amrein für die geduldige und kompetente Unterstützung beim Erstellen dieser Arbeit aussprechen.

# Zusammenfassung

Metformin ist weltweit das meistverwendete Medikament zur Behandlung von Typ-2-Diabetes mellitus (DM2) und wird täglich von über 200 Millionen Menschen eingenommen. Trotz seiner langjährigen Anwendung sind die zugrunde liegenden Mechanismen noch nicht vollständig verstanden. Ursprünglich wurde angenommen, dass Metformin hauptsächlich über die Leber wirkt, um den Blutzuckerspiegel zu senken. Neuere Forschung legt jedoch nahe, dass auch der Magen-Darm-Trakt, das Darmmikrobiom und Immunzellen beteiligt sind. Auf molekularer Ebene wirkt Metformin durch die Aktivierung der AMPK (Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase), wodurch die Glukoseproduktion in der Leber reduziert wird. Neuere Erkenntnisse deuten darauf hin, dass es auch auf Lysosomen wirkt, was auf einen zusätzlichen Wirkmechanismus hinweist.

Neben seiner antihyperglykämischen Wirkung hat Metformin pleiotrope Effekte auf verschiedene Systeme und Prozesse. Es verringert die Produktion von fortgeschrittenen Glykationsendprodukten und reaktiven Sauerstoffspezies, was kardiovaskuläre Risiken minimiert. Zudem hat es krebshemmende und neuroprotektive Eigenschaften, die in präklinischen Studien untersucht wurden. Es gibt Hinweise darauf, dass Metformin bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Parkinson, Alzheimer und Multipler Sklerose eine schützende Rolle spielen und die Lebenserwartung erhöhen könnte.

Insgesamt wird Metformin weiterhin als Erstlinientherapie bei DM2 empfohlen, insbesondere bei Patient\*innen ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren oder fortgeschrittene Niereninsuffizienz. Zukünftige Studien könnten seine Anwendung auf weitere chronische Erkrankungen ausdehnen und seine Rolle als vielseitiges Therapeutikum weiter festigen.

# Abstract

Metformin is the most widely used drug worldwide for the treatment of type 2 diabetes mellitus (DM2) and is taken by over 200 million people every day. Despite its many years of use, the underlying mechanisms are not yet fully understood. It was originally assumed that metformin mainly acts via the liver to lower blood glucose levels. However, more recent research suggests that the gastrointestinal tract, gut microbiome and immune cells are also involved. At the molecular level, metformin works by activating AMPK (adenosine monophosphate-activated protein kinase), which reduces glucose production in the liver. Recent findings indicate that it also acts on lysosomes, which points to an additional mechanism of action.

In addition to its antihyperglycaemic effect, metformin has pleiotropic effects on various systems and processes. It reduces the production of advanced glycation end products and reactive oxygen species, which minimises cardiovascular risks. It also has anti-cancer and neuroprotective properties, which have been investigated in preclinical studies. There is evidence that metformin plays a protective role in neurodegenerative diseases such as Parkinson's, Alzheimer's and multiple sclerosis and could increase life expectancy.

Overall, metformin continues to be recommended as first-line therapy for DM2, especially in patients without cardiovascular risk factors or advanced renal insufficiency. Future studies could extend its use to other chronic diseases and further consolidate its role as a versatile therapeutic agent.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen und deren Erklärung</b>	<b>2</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>4</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>5</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>6</b>
1.1 Historischer Überblick . . . . .	6
1.2 Wirkmechanismus . . . . .	11
1.3 Rolle in der Diabetes-Therapie . . . . .	18
1.4 Unerwünschte Nebenwirkungen . . . . .	22
<b>2 Methoden</b>	<b>25</b>
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>26</b>
3.1 Metformin und das Immunsystem . . . . .	26
3.2 Antineoplastische Effekte . . . . .	32
3.3 Neuroprotektive Wirkung . . . . .	34
3.4 Polyzystisches Ovarialsyndrom . . . . .	39
3.5 Anti-Ageing . . . . .	41
3.6 Mikrobiom . . . . .	46
3.7 Gewichtsregulation . . . . .	51
3.8 Nichtalkoholische Fettleber . . . . .	54
<b>4 Diskussion</b>	<b>56</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>59</b>

# Abkürzungen und deren Erklärung

**ACC** Acetyl-CoA carboxylase

**ADP** Adenosindiphosphat

**AGE** Advanced glycation end-products

**AMP** Adenosinmonophosphat

**AMPK** Adenosin-Monophosphat-aktivierte Proteinkinase

**APP** A $\beta$ -Vorläuferprotein

**ATP** Adenosintriphosphat

**BMI** Body Mass Index

**cAMP** zyklisches Adenosinmonophosphat

**CRTC** CREB regulated transcription coactivator

**DM2** Diabetes Mellitus Typ 2

**FASN** Fettsäuresynthase

**FDA** Food and Drug Administration

**G3P** Glycerinaldehyd-3-phosphat

**GPD2** Glycerol-3-phosphat dehydrogenase

**HGP** hepatische Glukoseproduktion

**IGF-1** Insulin-like growth factor 1

**ISIS** Insulin-Sensibilisators

**LDH** Laktatdehydrogenase

**LKB1** Liver Kinase B1

**NADPH** Nikotinamidadenindinukleotidphosphat

**NASH** Nichtalkoholische Steatohepatitis

**NSAR** Nichtsteroidaler Antiphlogistika

**OCT** Organic cation transporter

**PBMC** mononukleäre Zellen des peripheren Blutes

**PCO** Polyzystisches Ovarialsyndrom

**PON-1** Paraoxonase-1

**ROS** Reactive oxygen species

**ZNS** zentrales Nervensystem

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Galega officinalis . . . . .	6
1.2	Wirkmechanismus von Metformin . . . . .	14
1.3	Kumulative Inzidenz von Diabetes je nach Studiengruppe . . . . .	21
1.4	Pathophysiologie der Laktatazidose . . . . .	23
3.1	Antineoplastische Effekte von Metformin . . . . .	33
3.2	Mögliche molekulare Wirkungen von Metformin auf neurodegenerative Erkrankungen . . . . .	36
3.3	Indirekte (systemische) und direkte (lokale) Wirkungen von Metformin auf das Endometrium bei Frauen mit PCOS . . . . .	40
3.4	Wirkungen von Metformin aufs Altern . . . . .	42
3.5	Mechanismen, durch die Metformin Fettleibigkeit, Appetit und Gewichtsverlust beeinflusst . . . . .	52
3.6	Günstige Auswirkungen von Metformin auf die Leber . . . . .	55
4.1	Anzahl an Publikationen, welche Metformin zum Thema haben . . . . .	56

# Tabellenverzeichnis

1.1	Eckpunkte in der Geschichte von Metformin . . . . .	8
1.2	Aktuelle Erkenntnisse um Metformin . . . . .	10
1.3	Zusammenfassung der pharmakokinetischen Eigenschaften von Metformin	12
3.1	Zusammenfassung der Gewichtsabnahme für die gängigsten oralen Antidiabetika . . . . .	54

# 1 Einleitung

## 1.1 Historischer Überblick

### Kräutergeschichte

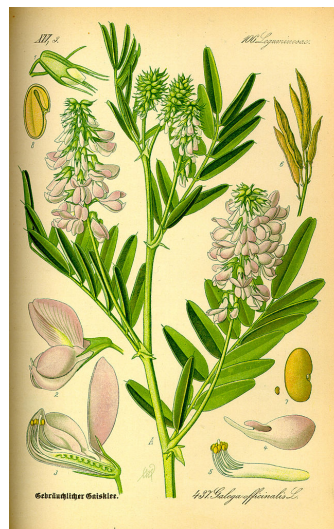


Abbildung 1.1: **Galega officinalis** [1]

Der pflanzliche Ursprung von Metformin geht auf die Verwendung der *Galega officinalis* (Geißbraute) als traditionelle Medizin im Europa des Mittelalters zurück [2]. Mitte des 17. Jahrhunderts wurde die Pflanze in *Culpeper's Complete Herbal* als Mittel gegen Fieber, Würmer, Epilepsie und Pestilenz eingesetzt [3]. Der englische Arzt, Apotheker und Botaniker John Hill empfahl das Gewächs 1772 zur Behandlung von Durst und häufigem Wasserlassen [4]. Mitte des 18. Jahrhunderts ergaben ersten chemische Analysen, dass die Pflanze reich an Guanidin sowie verwandten Verbindungen sei [5]. In den 1920er Jahren wurde darauf festgestellt, dass unterschiedliche Mono-Guanidin-Derivate, vor allem Galegin und Diguanidine den Blutzuckerspiegel bei Tieren senken konnten [5, 6, 7, 8].

Aufbauend auf diesen Forschungsergebnissen wurde Galegin sowie das stärker wirksame Synthalin (Diguanidin) zur Diabetesbehandlung eingeführt [9]. Nach anfänglichem Optimismus wich dieser jedoch zunehmend einer Ernüchterung, da vermehrt Toxizität beobach-

tet wurde. In den 1930er Jahren wurde der Einsatz reduziert, nachdem gleichzeitig Insulin in relevanten Mengen verfügbar wurde [5, 10, 11].

## Von der Pflanze zu Biguaniden

Der chemische Ursprung von Metformin geht auf die Herstellung von Guanidin durch Adolph Strecker und den Arbeiten von Bernhard Rathke im Jahr 1879 zurück, die zur Verschmelzung zweier Guanidin-Molekülen zu Biguanid führte [9]. Auf dieser Grundlage wurde Metformin (Dimethylbiguanid) erstmalig 1922 durch Werner und Bell synthetisiert [12]. Der erste klinische Nachweis der blutzuckersenkenden Wirkung im Tierversuch (Hasen und Hunde) wurde jedoch erst 1929 durch Hesse/Taubmann und Slotta/Tschesche erbracht [13, 14]. Dabei wurde festgestellt, dass Biguanide weniger toxisch als Mono- und Diguanidine sind und Metformin von allen getesteten Methyl-Biguaniden die geringste Toxizität aufweist [14]. Das Potential wurde seinerzeit jedoch unterschätzt, da es hohe Dosen benötigte, um bei nicht-diabetischen Tieren eine lediglich geringe blutzuckersenkende Wirkung herbeizuführen. Daher wurde die Entwicklung der Biguanide nicht für die Diabetestherapie weiterentwickelt und sie gerieten in den folgenden Jahren in Vergessenheit [9].

## Malaria und Influenza

Ein weiterer Aspekt in der Geschichte von Metformin stellt die Entwicklung eines Malaria-Medikaments auf Basis von Guanidin dar. Proguanil (*Paludrine*) führte in klinischen Untersuchungen zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels [15, 16]. In weiterer Folge wurde Proguanil in Metformin umgewandelt und bei Untersuchungen 1949 in den Philippinen durch Eusebio Garcia wurde Metformin bei der Behandlung eines Grippe-Ausbruchs eingesetzt [17]. Daraufhin wurde Metforminhydrochlorid als Grippemedikament unter dem Namen *Flumamin* lanciert. Bei einigen Grippepatient\*innen wurde dabei beobachtet, dass sich deren Blutglukosespiegel unter der Behandlung verringerte [5, 17].

## Jean Stern

Erst durch den französische Arzt Jean Stern ist das blutzuckersenkende Potential von Metformin wieder in den Fokus gerückt [9]. Nach Durchsicht der Erkenntnisse über Flumamin

führte er gemeinsam mit der Apothekerin Denise Duval 1956 Untersuchungen zur Pharmakodynamik diverser auf Guanidin basierender Wirkstoffe (u.a. Metformin) in normalen und diabetischen Tiermodellen durch [9]. Aufgrund des geringen Nebenwirkungspotentials, der glukosesenkenden Wirkung sowie der Erfahrung mit Flumamin beim Menschen wurde Metformin schlussendlich für Studien an der Diabetesklinik am Hopital Laennec in Paris ausgewählt [5]. Im Rahmen dieser Studien wurde Metformin an Probanden mit Diabetes Typ I und II verabreicht, welche bisher mit Insulin behandelt wurden. Während sich der Insulinbedarf bei Typ I Diabetikern nicht veränderte, konnte der Insulinbedarf bei Patient\*innen mit Typ II Diabetes teilweise verringert werden. Zusätzlich traten bei keinem Patient\*innen Hypoglykämien auf [5]. Diese Studie gilt heute als wegweisend für die Entwicklung von Metformin als Diabetes-Therapie. Sterne schlug für das Präparat den Namen "Glucophage" vor, unter dem das Medikament noch heute vermarktet wird [9].

Jahr	Ereignis	Quelle
1772	Galega officinalis wird bei Symptomen von Diabetes eingesetzt (Hill)	[4]
1844-1861	Synthese von Guanidin (Strecker)	[5]
1922	Synthese von Dimethylbiguanid ( <b>Metformin</b> ) (Werner und Bell)	[12]
1929	Metformin und andere Biguanide senken den Blutzucker bei Tieren (Hesse/Taubmann; Slotta/Tschesche)	[13, 14]
1944-1947	Malariamittel Proguanil (Paludrine) auf Guanidinbasis senkt den Blutzucker bei Tieren	[15, 16]
1949-1950	Dimethylbiguanid (Flumamin) wird als Malariamittel getestet und zur Behandlung der Grippe auf den Philippinen eingesetzt	[17]
1956	Jean Sterne und Denise Duval erforschen auf Guanidin basierende Blutzuckersenker	[5]
1977-1980	Phenformin und Buformin werden in vielen Ländern aufgrund der Gefahr einer Laktatazidose vom Markt genommen	[18]
1995	Nach erneuter Prüfung durch die FDA wird Metformin in den USA zugelassen	[5]
1998	UKPD-Studie zeigt langfristige Stoffwechseleffekte von Metformin und verringertes kardiovaskuläres Risiko bei der Einnahme	[19]
2008	UKPDS-10-Jahres Follow-up: fortgesetzte Verringerung des kardiovaskulären Risikos bei Verwendung von Metformin	[20]

Tabelle 1.1: **Eckpunkte in der Geschichte von Metformin** [9]

## Biguanid-Turbulenzen

Parallel zu Sterne forschten Gruppen in den USA zu Guanidinderivaten und Studien ergaben eine starke glukosesenkende Wirkung von Phenformin, woraufhin der Wirkstoff weltweit, besonders jedoch in den USA an Popularität gewann und eine Alternative zu Sulfonylharnstoffen darstellte [21, 22, 23, 24]. Im Verlauf wurden auch Metformin und Buformin zugelassen, der Einsatz blieb jedoch hinter dem von Phenformin [25, 26]. Das Risiko einer Laktatazidose bei der Anwendung von Phenformin und Buformin war stets bekannt, doch flammte die Diskussion darüber neu auf, als Phenformin 1971 aus einer amerikanischen Studie des 'University Group Diabetes Program (UGDP)' zurückgezogen wurde [27, 28, 29]. 1978 wurde es schließlich in den USA sowie in weiten Teilen Europas vom Markt genommen [18].

Bei Metformin war die Inzidenz der Laktatazidose weitaus geringer und in den meisten Fällen war eine unsachgemäße Anwendung bei Patient\*innen mit Kontraindikationen (akuten/chronischen Nierenerkrankungen) ursächlich [28, 30, 31]. Dennoch litt der Ruf von Metformin aufgrund der Assoziation mit anderen Biguaniden und es wurde beinahe vom Markt genommen [18].

## Die moderne Anwendung von Metformin

Die klinische Erfahrung sowie pharmakokinetische Daten von Metformin deuten auf ein günstigeres Sicherheitsprofil im Vergleich zu Phenformin hin [26, 32]. Als in den 1980er Jahren schließlich die Bezeichnung "nicht insulinabhängiger Diabetes" dem bisher benutzten Terminus „Altersdiabetes“ wich und die Erkrankung sowohl hinsichtlich der peripheren Insulinresistenz als auch dem Versagen der pankreatischen  $\beta$ -Zellen betrachtet wurde, rückten die Fähigkeiten von Metformin zur Verringerung der Insulinresistenz wieder in den Blickpunkt [33, 34]. Erkenntnisse in den 1980er und 1990er Jahren zeigten, wie Metformin die hepatische Glukoneogenese verringern und die periphere Glukoseverwertung steigern konnte [35]. 1986 wurde von Seiten des pharmazeutischen Herstellers Liplha Pharmaceuticals eine Neubewertung von Metformin durch die Food and Drug Administration (FDA) beantragt, was zu einer Genehmigung von Metformin in den USA Anfang 1995 führte.

**Die UKPDS-Studie** beobachtete über ein Jahrzehnt Patient\*innen mit neu diagnostiziertem Diabetes Mellitus Typ -2, welche blutzuckersenkende Behandlungen erhielten. Darin

wurde festgestellt, dass eine Langzeitbehandlung mit Metformin eine glukosesenkend war, zu keiner Gewichtszunahme führte, nur ein geringes Hypoglykämierisiko mit sich brachte sowie kardiovaskuläre reduzieren und das Überleben verbessern konnte [19]. Auch ein 10-Jahres Follow-up der Studie im Jahr 2008 zeigte den anhaltenden Nutzen von Metformin [20].

**Aufgrund zahlreicher Studien** die sowohl die klinische Wirksamkeit als auch die pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften untersuchten, konnte sich Metformin seinen Platz als bevorzugte pharmakologische Erstlinientherapie bei Diabetes Mellitus Typ 2 sichern [9].

In der folgenden Arbeit werden auch pleiotrope Effekte von Metformin beleuchtet, welche einen Nutzen abseits der angestammten Diabetestherapie versprechen.

### **Metformin**

---

Ist ein wirksames und sicheres Antihyperglykämikum sowohl in der Monotherapie als auch in Kombination mit anderen Antidiabetika

---

Ist als Erstlinientherapie bei neu diagnostiziertem DM2 angezeigt hemmt oder verzögert das Risiko des Übergangs von Prädiabetes zu DM2

---

Senkt die Hyperglykämie vor allem durch Hemmung der hepatischen Glukoneogenese und erhöht die Insulinempfindlichkeit der Skelettmuskulatur

---

Unterdrückt die hepatische Glukoseproduktion durch die Hemmung der mitochondrialen Atmungskette Komplex 1

---

Wirkt AMPK-abhängig und AMPK-unabhängig Zeigt mehrere Glukose-unabhängige pleiotrope Effekte Besitzt kardioprotektive Eigenschaften

---

Hat möglicherweise eine neuroprotektive Wirkung

---

Der Off-Label-Einsatz nimmt bei PCOS, NAFLD und Adipositas zu

---

Gilt als vielversprechender Wirkstoff in der Krebsprävention und -behandlung sowie als Anti-Aging-Mittel

---

Tabelle 1.2: Aktuelle Erkenntnisse um Metformin

## 1.2 Wirkmechanismus

### Pharmakokinetik

**Die orale Bioverfügbarkeit** von Metformin beträgt zwischen 50% und 60%. Nach der intestinalen Absorption und dem Eintritt in den Pfortaderkreislauf akkumuliert es in der Leber [36]. Die Spitzenplasmakonzentration nach oraler Aufnahme wird nach ungefähr drei Stunden erreicht [37]. Die Absorption endet sechs bis zehn Stunden nach Verabreichung, unabhängig von der bis zu diesem Zeitpunkt eingenommenen Dosis. Dies entspricht der für die Passage von Arzneimitteln durch den Magen und den Dünndarm benötigten Zeit [38].

Die hauptsächliche Absorption von Metformin ist weitgehend auf den Dünndarm beschränkt, jene im Magen und aus dem Dickdarm scheinen vernachlässigbar zu sein [39]. Diese Annahme wird von Untersuchungen mit Metforminlösungen, die einen Gammastrahler enthalten, gestützt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Plasmakonzentration von Metformin zu sinken beginnt, wenn das Medikament den Dickdarm erreicht [40].

Bei einer durchschnittlichen (therapeutischen) Dosis von 1-2g Metformin pro Tag (entspricht ungefähr 20mg pro kg Körpergewicht) ergibt sich klinisch eine Plasmakonzentration von 10-40  $\mu\text{M}$  [39]. Die genaue Konzentration von Metformin in der Leber im Menschen ist nach wie vor unbekannt, da eine genaue Messung bis dato nicht erfolgt ist. Jedoch geht man aufgrund von Untersuchungen bei Ratten [41] sowie bei Verteilungsanalysen von  $^{11}\text{C}$  markiertem Metformin im Gewebe von Menschen [42] davon aus, dass die hepatische Konzentration drei bis viermal höher als jene im Plasma ist [41].

### Aufnahme in die Hepatozyten

Metformin liegt als Molekül als hydrophile Base vor, die bei einem physiologischen pH-Wert positiv geladen ist. Dadurch ist eine passive Diffusion durch die Zellmembran nur eingeschränkt möglich [39]. Daher ist ein Transporter erforderlich, um das Molekül aktiv durch die Plasmamembran zu transportieren. Verantwortlich dafür scheint der Organic cation transporter (OCT)1, welcher vor allem in der Leber, Niere und im Darm exprimiert wird [44]. Die Verteilung von Metformin im Gewebe deckt sich auch mit der Expression der Transporter OCT [42].

<b>Pharmakokinetische Parameter</b>	<b>Werte</b>
Absolute Bioverfügbarkeit	50-60% bei gesunden Personen
Zeit bis zum Erreichen der Cmax (Tmax)	2,5 Stunden
Kinetik der Metforminabsorption	Nicht-linear
Bei den vorgesehenen und empfohlenen Dosen Zeit bis zum Erreichen der Steady-State Plasmakonzentration	24-48 Stunden
Steady-State-Plasmakonzentration	Weniger als 1µg/mL
Mittleres Verteilungsvolumen (Vd)	Zwischen 63-276 L
Ausscheidung	Unverändert im Urin
Renale-Clearance	>400mL/min (was auf glomeruläre Filtration und tubuläre Sekretion hinweist)
Terminale Eliminationshalbwertszeit	Ungefähr 6,5 Stunden

Tabelle 1.3: Zusammenfassung der pharmakokinetischen Eigenschaften von Metformin [43]

In späteren Untersuchungen konnte zusätzlich bei Polymorphismen von OCT1 eine veränderte Pharmakokinetik von Metformin und auch eine reduzierte therapeutische Wirkung gezeigt werden. Ob genetische Variationen eine Rolle bei der klinischen Anwendung spielen, ist jedoch noch nicht geklärt[45, 46, 47].

## **Einfluss auf den Glukosestoffwechsel**

Um die möglichen Wirkmechanismen von Metformin verstehen zu können, muss zunächst ein kurzer Überblick über den Glukosestoffwechsel gegeben werden.

## **Mechanismen der Regulation der Gluconeogenese**

### **Allosterisch**

Die hepatische Gluconeogenese wird durch Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) reguliert, einem allosterischen Aktivator der Pyruvat-Carboxylase (katalysiert die Umwandlung von Pyruvat zu Oxalacetat und damit einem Schlüsselschritt für die Gluconeogenese). [48, 49, 50, 51].

Nach der Lipolyse werden Fettsäuren aus den Adipozyten in die Leber aufgenommen, wo mittels  $\beta$ -Oxidation wiederum Acetyl-CoA entsteht. Dieser Mechanismus spielt eine große Rolle bei der Aufrechterhaltung der Euglykämie.

### **Substrat (Glycerin)**

Die hepatische Gluconeogenese wird indirekt über Glycerin reguliert, welches durch die Lipolyse im Fettgewebe entsteht (trägt 20-30% zur Gluconeogenese bei) [49, 48, 52]. Glycerin wird von dem Enzym Glycerol-3-phosphat dehydrogenase (GPD2) phosphoryliert und zu Dihydroxyacetonphosphat umgewandelt. Diese Reaktion ist auch redox-abhängig (siehe *Redox*)

### **Redox**

Das Redox-Gleichgewicht hängt sowohl von dem  $[NADH]:[NAD^+]$  Verhältnis als auch von redox-abhängigen Substraten ab. Diese sind vornehmlich Laktat und Glycerin. Die Balance wird von zwei Redox-Shuttles aufrechterhalten: dem Malat-Aspartat-Shuttle und dem Glycerin-3-Phosphat-Shuttle. Im Rahmen der durch die LDH katalysierte Reaktion von Laktat zu Pyruvat, wird  $NAD^+$  zu  $NADH$  reduziert. Durch die vom Glycerin-3-Phosphat-Shuttle katalysierte Reaktion wird Dihydroxyacetonphosphat zu Glycerin-3-Phosphat umgewandelt und im Rahmen dieser Reaktion  $NADH$  zur  $NAD^+$  regeneriert. Sowohl ein erhöhter Dihydroxyacetonphosphat-Spiegel als auch Pyruvat stimulieren die Gluconeogenese.

**Metformin** nimmt in der Therapie des Diabetes Mellitus Typ 2 keinen Einfluss auf Insulin, stattdessen rührt die antidiabetische Wirkung primär daher, dass die hepatische Glukoseproduktion (HGP) verringert wird [53]. Diese setzt sich zusammen aus

- hepatischer Glukoneogenese
- Glykogenolyse
- Glykogensynthese
- Glykolyse

85-90% der endogenen Glukoseproduktion wird nach einer längeren Fastenperiode (zum Beispiel über Nacht) durch die Leber gedeckt [54]. Die Glukoneogenese macht 50% der

HGP aus. Bei Patient\*innen mit schlecht eingestelltem DM2 ist die Glukoneogenese hauptverantwortlich für hyperglykämische Zustände nach Fastenperioden [55].

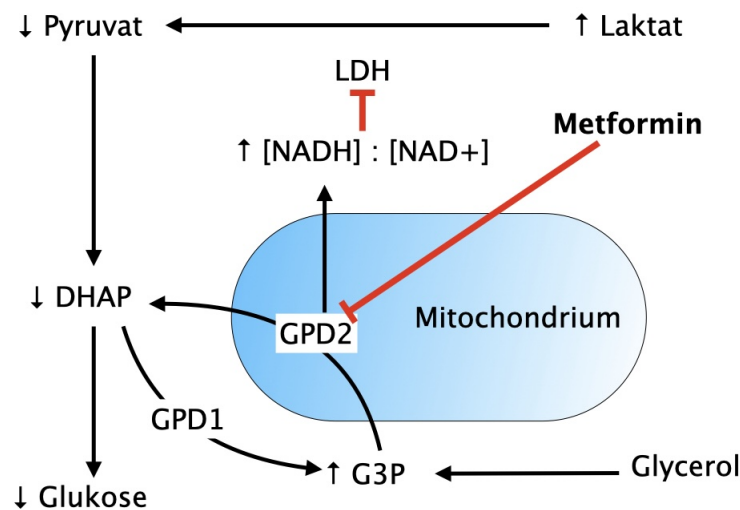


Abbildung 1.2: **Wirkmechanismus von Metformin** Laktatdehydrogenase (LDH), Glycerinaldehyd-3-phosphat (G3P), Nicotinamidadenindinukleotid (NAD), Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase (GPD), Dihydroxyacetophosphat (DHAP) Abbildung nach [56]

### Mögliche Wege der Inhibierung der hepatischen Glukoneogenese durch Metformin

**Hemmung des Komplex I** Die Hemmung des Komplex I der Atmungskette ist eine der beststudierten Mechanismen der Metformin-Wirkung und wurde in den frühen 2000er Jahren erstmalig in einem in vitro Versuch nachgewiesen [57]. Diese Daten decken sich mit Studien, welche bereits vor 50 Jahren belegten, dass Phenformin und andere Guanide den Komplex I hemmen können [58, 59]. Der Komplex I überträgt zwei Protonen von NADH/H<sup>+</sup> auf Ubichinon und trägt damit erheblich zum Protonengradient des Mitochondriums bei. Aufgrund des hohen Energiebedarfs der Glukoneogenese schloss man darauf, dass eine Hemmung des Komplex 1 zu einer verringerten hepatischen Glukoseproduktion beiträgt [36]. Dabei werden mehrere Mechanismen diskutiert, welche die Unterdrückung der Glukoneogenese erklären könnten. Sowohl die veränderte hepatische Ladung als auch die Aktivierung von AMPK sind mögliche Erklärungen[60, 61, 62]. Dennoch ist die physiologische Relevanz dieser Prozesse fraglich, da in den genannten Studien supra-pharmakologische, millimolare Konzentrationen von Metformin angewendet wurden [36].

Zusätzlich widersprechen einige Studien dem Punkt, dass durch Metformin-Gabe in vivo keine hepatische Ladungsveränderung herbeigeführt wurde und auch keine AMPK Aktivierung notwendig ist, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen [36].

Die Hemmung des Komplex I und die damit einher gehende verringerte Arbeit der Atmungskette verursacht reduzierte [ATP]:[ADP] und [ATP]:[AMP] Verhältnisse in der Zelle. Dies ist möglicherweise für antidiabetische Effekte von Metformin verantwortlich [36].

Eine weitere Studie berichtete, dass eine erhöhte hepatische AMP Konzentration, gemessen nach Verabreichung von Metformin, allosterisch die Adenylyl-Cyclase hemmt. Daraufhin verringerte sich die intrazelluläre cAMP Produktion und die hepatische Glukagon-Synthese wurde antagonisiert [60]. Doch auch dieser postulierte Effekt (Metformin auf cAMP) hat sich in Studien bei klinisch relevanten Metforminkonzentrationen nicht erhärtet [63, 64]. Eine weitere klinische Studie fand keinen Zusammenhang zwischen Metformin und einer verminderten Glukagon-abhängigen hepatischen Glukoseproduktion. Damit scheint dieser Effekt für Menschen ohne Bedeutung [65].

Eine von Miller et al postulierte These lautet, dass AMP direkt die Gluconeogenese durch allosterische Hemmung von Fruktose 1,6-Biphosphatase unterbindet[60]. Unterstützend hat eine Arbeit beschrieben, dass die Expression einer mutierten Fruktose 1,6-Biphosphatase, welche nicht über AMP reguliert ist, die glukosesenkenden Effekte von Metformin aufhebt [66]. Einschränkend muss jedoch erwähnt werden, dass die in dieser Studie angewendeten Metformin-Dosen (250mg/kg) sehr hoch waren und die Plasmakonzentration von Patient\*innen mit DM2 unter Behandlung mit Metformin um das Zehnfache überschritt [39].

Ob klinisch relevante Konzentrationen von Metformin hepatozelluläre Adenin-Nukleotid-Spiegel ändern, ist also nach wie vor ungewiss [36]. Dadurch dass in den meisten Studien suprapharmakologische Dosen von Metformin angewendet wurden (unter diesen Bedingungen tritt ein klarer Effekt auf den Komplex I ein) kann selbiges über geringere Dosen (und damit klinisch relevanter) nicht abschließend beurteilt werden.

### **Adenosin-Monophosphat-aktivierte Proteinkinase (AMPK)**

AMPK ist ein zellulärer Sensor, welcher über Adenin-Nukleotide aktiviert wird (ATP wird zu ADP oder AMP verbraucht, diese aktivieren allosterisch AMPK). Dies geschieht, wenn die Zelle unter metabolischem Stress (längere Fastenperiode, sportliche Betätigung) steht.

Die vermuteten metabolischen Effekte von einer erhöhten AMPK Aktivität liegen einerseits in der transkriptionellen Down-Regulierung von glukoneogenetischen Genen, was zu einer reduzierten hepatischen Glukoseproduktion führt und andererseits in der Phosphorylierung von Acetyl-CoA carboxylase (ACC) 1 und ACC 2. Dadurch verringert sich die Fettsäuresynthese und die mitochondriale Oxidation in der Leber wird erhöht. Das führt zu einer Reduzierung von in der Leber gelagertem Diacylglycerol und erhöht die hepatische Insulinsensitivität.

Anfang der 2000er stellte man fest, dass Liver Kinase B1 (LKB1) als vorgeschaltete Kinase verantwortlich für Phosphorylierung und Aktivierung von AMPK ist. In diesen Studien wurde dieser Mechanismus als möglicher Angriffspunkt für Metformin betrachtet [61, 67].

Dieser Pfad induziert in weiterer Folge die Zerlegung des *CREB-CBP-CRTC2 Komplexes*, welcher auf transkriptionellem Weg die Genexpression für die Gluconeogenese reguliert. [68] [69].

Eine Studie untermauert dabei die Theorie, dass Metformin im Signalweg rund um LKB1-AMPK-CRTC2 angreift. Dabei wurden bei Mäusen mit einer Hyperglykämie die LKB1 ausgeschaltet, wodurch AMPK inaktiv blieb. Bei diesen Nagern konnte Metformin keine glukosesenkende Wirkung entfalten [61].

Jedoch zeigten andere Daten, dass LKB1 deaktivierte Mäuse sehr wohl anfällig auf Metformin im Sinne einer Blutzuckersenkung waren. [70]. Die scheinbar gegensätzlichen Aussagen der zwei Studien kann durch eine unterschiedliche Dosis Metformin, Verabreichungsweg oder Diät verursacht sein [36].

ACC 1 und 2 sind wichtige Enzyme im Fettstoffwechsel (sie katalysieren die Reaktion von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA (einem Vorläufer für die *de novo Lipogenese* und Regulator der mitochondrialen Fettoxidation [71, 72, 73]). Sie werden durch erhöhtes AMPK phosphoryliert und damit gehemmt. Daraus ergibt sich, dass AMPK auch die hepatische Lipogenese und Fettoxidation moduliert [74] und damit die Akkumulation von Lipiden in der Leber verringert und die Insulinsensitivität verbessert [36].

Weiters könnte sich, wenn Wirkmechanismus von Metformin vom LKB1-AMPK-ACC Signalweg abhängig ist, eine Langzeit-Metformin-Therapie positiv auf eine Nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH) auswirken [36]. In mehreren Arbeiten wurde gezeigt, dass eine pharmakologisch-induzierte Hemmung der ACC und Induktion der AMPK unabhängig voneinander eine hepatische Steatose und Insulinsensitivität verbessern konnten [75, 76]. Bei

Nicht-Diabetikern trat dieser Effekt ist allerdings nicht ein, wenn nicht zusätzlich Körpergewicht reduziert wurde [77].

In einer placebokontrollierten, klinischen Studie mit DM2 Patient\*innen zeigte sich unter Metforminbehandlung keine Veränderung der Lipide in der Leber oder der Fettoxidation, was daraus schließen lässt, dass jene Effekte sekundär zu Gewichtsabnahme und der verbesserten glykämischen Kontrolle zu sehen sind [78].

Zusammenfassend lässt sich die Datenlage so beschreiben, dass AMPK-abhängige Mechanismen als Beitrag zur Metformin-Wirkung ambivalent zu betrachten sind. Während es in geringem Maß durchaus positive metabolische Effekte haben kann, ist anhand der derzeitigen Literatur davon auszugehen, dass die AMPK Aktivierung keine tragende Säule der Metformin-Wirkung bei DM2 Patient\*innen zu sein scheint [36].

### **Zytosolischer Redox-Zustand**

Ein rezent vorgeschlagener Wirkmechanismus postuliert die erhöhte zytosolische Redoxwirkung von Metformin durch die Hemmung der GPD2-Aktivität in der Leber. Das Enzym ist für die Glukogenese von redoxabhängigen Substraten (Glycerin und Laktat) und als Schlüsselenzym des Glycerin-3-phosphat-Shuttle (neben dem Malat-Aspartat-Shuttle einer der großen Redox-Shuttles) verantwortlich. Die Redox-Shuttles sind am Redox-Gleichgewicht zwischen Zytosol und Mitochondrium beteiligt [79, 80, 81]. Die Substratselektivität (nur Glycerin und Laktat) für die Hemmung hepatischer Glukoneogenese wurde sowohl in vitro als auch in vivo nachgewiesen [82, 83]. In mehreren Studien wird von der Hemmung auf die GPD2-Aktivität vor allem auch in klinisch relevanten Konzentrationen ( $\mu\text{M}$ ) berichtet [64, 84, 85]. Zusätzlich unterstützt wird die These durch Untersuchungen von Patient\*innen unter Metforminbehandlung, bei denen eine Erhöhung von Glycerin- und G3PKonzentrationen in der Leber festgestellt wurde. Dieser Befund lässt sich mit einer GPD2-Hemmung vereinbaren [86].

Der Glycerinumsatz ist bei Patient\*innen mit DM2 aufgrund von Insulinresistenz und Entzündungen im weißen Fettgewebe erhöht. Dadurch trägt Glycerin auch in größerem Maß zur Glukoneogenese bei (Substrat-Push-Mechanismus) [87, 88, 89].

Die derzeitige Studienlage lässt also vermuten, dass die GPD2-Hemmung/ zytosolische Redox-Modulation einen möglichen Wirkmechanismus von Metformin darstellt [36].

## **Direkte/Indirekte Inhibition von GPD2**

Metformin kann die hepatische Gluconeogenese aus redox-abhängigen Substraten (Glycerin und Laktat) durch Hemmung der GPD2 Aktivität verringern. Einzig unklar ist, ob dies auf direktem oder indirektem Weg geschieht [41, 64]. GPD2 wird auch bei niedrigen Metformin-Konzentrationen ( $50\mu\text{M}$ ) gehemmt, während eine Hemmung des Komplex I nur bei supra-pharmakologischen Konzentrationen erreicht wurde. Andere Hypothesen sprechen für einer indirekten Hemmung: es wird vermutet, dass Metformin auch andere Komplexe der Atmungskette beeinflusst, was in weitere Folge auch eine Hemmung von GPD2 bedeuten würde. Zusätzlich wurde gezeigt, dass Biguanide Bindungen mit Metall-Ionen (Kupfer, Eisen) eingehen können und als Schiff'sche Base wirken und mit Cytochrom C oder Häm interagieren [90, 91, 92]. Ob Metformin tatsächlich mit Kupfer- oder Eisenionen der Atmungskette interagiert, muss jedoch noch untersucht werden.

## **1.3 Rolle in der Diabetes-Therapie**

### **Diabetes Mellitus Typ 2**

Metformin wird von den meisten Leitlinienausschüssen als Erstlinientherapie bei Personen bevorzugt, die trotz Diät und anderer Lebensstilmaßnahmen die Blutzuckerziele nicht erreichen können [93]. Seine Anwendung ist so weit verbreitet, dass praktisch alle Programme zur Entwicklung von Diabetesmedikamenten eine Reihe von Studien umfassen, in denen das Prüfpräparat zusätzlich zur Metformin-Therapie eingesetzt wird.

Die Wirksamkeit des Medikaments wurde am besten von DeFronzo et al. in einem Bericht aus dem Jahr 1995 dargestellt. In „Protokoll 1“ dieser Studie wurden 289 fettleibige Teilnehmer mit unkontrolliertem Diabetes, die ausschließlich mit einer Diät behandelt wurden, für die Behandlung mit Metformin oder Placebo ausgewählt (erzwungene Titration von 850 mg täglich auf 850 mg dreimal täglich, wenn der Nüchtern-Plasmaglukose-Wert  $7,8\text{ mmol/l}$  überstieg und die Nebenwirkungen tolerierbar waren). Nach 29 Wochen führte Metformin zu einem niedrigeren mittleren Nüchtern-Plasmaglukose-Wert von  $10,6$  gegenüber  $13,7\text{ mmol/l}$  mit Placebo ( $p < 0,001$ ); im Vergleich zu den entsprechenden Ausgangswerten war der Nüchtern-Plasmaglukose-Wert in der Metformin-Gruppe um  $2,9\text{ mmol/l}$  gesenkt und in der Placebo-Gruppe um  $0,3\text{ mmol/l}$  erhöht. Mit Metformin sank der mittlere HbA1c-Wert von

8,4% (68,3 mmol/mol) auf 7,1% (54,1 mmol/mol), während er mit Placebo von 8,2% (66,1 mmol/mol) auf 8,6% (70,5 mmol/mol;  $p < 0,001$ ) anstieg [94]. Die Wirksamkeit des Medikaments ist dosisabhängig, wie von Garber und Kollegen gezeigt wurde, die die pharmakodynamischen Wirkungen mit verschiedenen Dosierungsschemata im Vergleich zu Placebo über 14 Wochen bei 451 Personen mit Typ-2-Diabetes untersuchten. Die minimal wirksame Dosis von Metformin betrug 500 mg täglich, und die maximale Wirksamkeit wurde bei einer Dosis von 2000 mg täglich erreicht. Während einige Patient\*innen von Dosen bis zu 2500 mg täglich profitieren können, gab es in dieser Studie insgesamt keine wesentlichen Unterschiede beim Nüchternplasmaglukose- und HbA1c-Wert im Vergleich zur nächstniedrigeren Tagesdosis von 2000 mg. Bei 500 mg senkte Metformin die Nüchternplasmaglukose um einen bereinigten Mittelwert von 1,1 mmol/l und den HbA1c-Wert um 0,9% (9,8 mmol/mol; placebosubtrahiert); bei 2000 mg betrugen die entsprechenden Reduktionen 4,3 mmol/l und 2,0% (21,9 mmol/mol;  $p \leq 0,01$ ) [95]. Sowohl in den Studien von DeFronzo et al. als auch von Garber et al. wurde das Medikament gut vertragen, wobei leichte gastrointestinale (GI) Nebenwirkungen vorherrschten und kein erhöhtes Risiko für Hypoglykämie bestand.

Seit diesen ersten Studien haben Folge- und Kurzzeitstudien (in der Regel 3-6 Monate) mit Metformin eine mittlere HbA1c-Senkung in der Größenordnung von 1% (10,9 mmol/mol) bis 1,5% (16,4 mmol/mol) gezeigt, die zum Teil vom Ausgangswert abhängt. In direkten Studien hat sich das Medikament als gleichwertig mit Sulfonylharnstoffen, Thiazolidindionen und Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1)-Rezeptor-Agonisten erwiesen und ist im Allgemeinen wirksamer als Dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4)-Inhibitoren [96, 97]. Bei der Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT; 2006) handelte es sich um eine randomisierte, doppelblinde, kontrollierte klinische Langzeitstudie, in der die Dauerhaftigkeit der glykämischen Kontrolle eines Sulfonylharnstoffs (Glibenclamid, in den USA und Kanada als Glyburid bekannt), Metformin und eines Thiazolidindions (Rosiglitazon) als Erstbehandlung für kürzlich diagnostizierten Typ-2-Diabetes verglichen wurde. Nach 5 Jahren war das Fortschreiten zum "glykämischen Versagen" (frei definiert als Nüchternplasmaglukose  $>10,0$  mmol/l) bei Rosiglitazon am geringsten (15% der Teilnehmer), bei Metformin mittel (21%) und bei Glibenclamid am größten (34%). Ähnliche Ergebnisse ergaben sich bei Verwendung der alternativen und vielleicht konventionelleren Definition des glykämischen Versagens (Plasmaglukose  $>7,8$  mmol/l). Im Vergleich zu Glibenclamid war Metformin mit einer 46%igen ( $p < 0,001$ ) relativen Verringerung des Risikos eines Versagens der Monotherapie verbunden. Allerdings war die Dauerhaftigkeit der Blutzuckerkontrolle mit Metformin nicht so groß wie mit Rosiglitazon (63% weniger Monotherapieversagen als bei Glibenclamid und 32% weniger als bei

Metformin;  $p < 0,001$  für beide). Die optimale Blutzuckerkontrolle, gemessen an der Zeit, in der der mittlere HbA1c-Wert bei  $<7\%$  (53,0 mmol/mol) gehalten wurde, war bei Rosiglitazon am höchsten (57 Monate), bei Metformin mittel (45 Monate) und bei Glibenclamid am niedrigsten (33 Monate) [98]. Diese wegweisende Studie veranschaulicht einmal mehr den progressiven Charakter des Typ-2-Diabetes, wie er bereits 1998 in der UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) beschrieben wurde [19]. Sie erinnert auch daran, dass Metformin, obwohl es dieses Fortschreiten scheinbar besser abschwächt als Insulinsekretagoga, die Betazellfunktion nicht wesentlich zu erhalten scheint. Dies könnte auch als eine der Schlussfolgerungen des Diabetes-Präventionsprogramms (DPP) angesehen werden, in dem festgestellt wurde, dass der Übergang von einer gestörten Glukosetoleranz zu einem Typ-2-Diabetes am stärksten durch eine Änderung des Lebensstils abgeschwächt wurde, die eine fast doppelt so starke Wirkung wie Metformin hatte [99].

## **Prädiabetes**

Neben der medikamentösen Erstlinientherapie von DM2 wird Metformin bei Prädiabetes eingesetzt, um das Auftreten von Diabetes zu verzögern oder zu verhindern [100]. Der jüngste Anstieg der Prävalenz von Prädiabetes unterstreicht die Bedeutung des Bewusstseins für Prädiabetes und der Bemühungen, das Auftreten von DM2 zu reduzieren oder zu verzögern. Die beste Strategie zur Kontrolle des Diabetesrisikos bei Prädiabetes ist ein Lebensstilmanagement, gefolgt von pharmakologischen Interventionen. Zu den verfügbaren pharmakologischen Optionen gehören Metformin, Alpha-Glucosidase-Hemmer, Thiazolidindione und GLP-1-Agonisten. Im Vergleich zu anderen Antidiabetika bietet Metformin jedoch gute Beweise für Sicherheit und Wirksamkeit und wird zur bevorzugten pharmakologischen Option für die Diabetesprävention [101, 102].

In der DPP-Studie (Diabetes-Präventionsprogramm) wurden 3234 Prädiabetiker nach dem Zufallsprinzip in drei Gruppen eingeteilt, darunter eine Lebensstil-Intervention, Metformin 850 mg zweimal täglich und Placebo. Nach einer durchschnittlichen Nachbeobachtungszeit von 2,8 Jahren sank die Inzidenz von Diabetes in der „Metformin-Gruppe“ um 31 % und in der Gruppe mit Lebensstilmodifikation um 58 % im Vergleich zur Placebo-Gruppe [99]. Metformin erwies sich als ebenso vorteilhaft wie eine Lebensstilanpassung bei Personen mit einem Body Mass Index (BMI)  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> oder einem Alter von weniger als sechzig Jahren. Die Wirkung von Metformin war bei schlanken Personen mit einem niedrigeren Body-Mass-Index praktisch aufgehoben. Auch bei niedrigeren Nüchternglukosekonzentration war

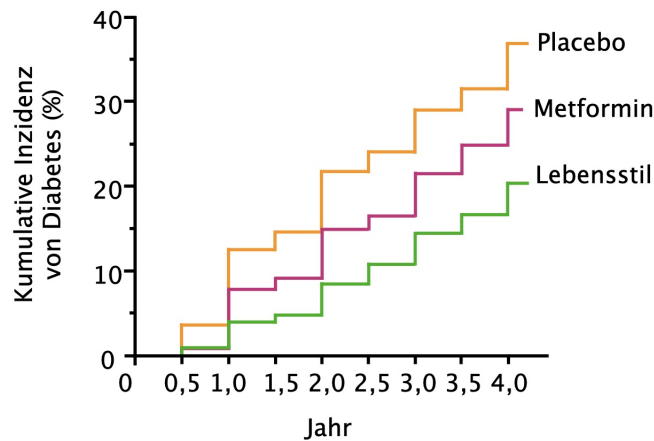


Abbildung 1.3: **Kumulative Inzidenz von Diabetes je nach Studiengruppe.** Die Diabetesdiagnose basierte auf den Kriterien der American Diabetes Association [103]. Die Inzidenz von Diabetes unterschied sich signifikant zwischen den drei Gruppen ( $P < 0,001$  für jeden Vergleich) [99]

die Wirkung geringer. Keine der beiden Wechselwirkungen wurde durch die jeweils andere Variable oder durch das Alter erklärt. Der Vorteil der Lebensstilintervention gegenüber Metformin war bei älteren Personen und solchen mit einem niedrigeren Body-Mass-Index größer als bei jüngeren Personen und solchen mit einem höheren Body-Mass-Index [99].

In der gleichen Studie war nach einer 15-jährigen Nachbeobachtungszeit das durchschnittliche jährliche Auftreten von Diabetes bei den Patient\*innen, die einer Lebensstilintervention zugewiesen wurden, um 27 % und bei denjenigen, die Metformin erhielten, um 18 % niedriger als bei Placebo[99]. Im Jahr 2022 empfahl die ADA (American Diabetes Association) eine Metformin-Therapie für Erwachsene mit Prädiabetes, insbesondere im Alter zwischen 25 und 59 Jahren mit einem BMI von  $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ , einem höheren HbA1C-Wert ( $\geq 6,0 \%$ ), einem höheren Nüchternplasmaglukosespiegel ( $\geq 110 \text{ mg/dL}$ ) und bei Frauen, die in der Vergangenheit einen Gestationsdiabetes mellitus hatten. Die langfristige Einnahme von Metformin wird mit einem Mangel an Vitamin B12 in Verbindung gebracht; daher hat die Gruppe auch eine regelmäßige Messung des Vitamin-B12-Spiegels bei Personen vorgeschlagen, die Metformin einnehmen. Trotz der Empfehlungen der ADA wurde Metformin von der US-amerikanischen Arzneimittelbehörde FDA jedoch noch immer nicht für Prädiabetes zugelassen [101]. Jüngste Erkenntnisse aus klinischen Studien legen nahe, dass SGLT2-Hemmer als Therapie der ersten Wahl zur Prävention von DM2 in Betracht gezogen werden können [56].

## 1.4 Unerwünschte Nebenwirkungen

### Laktatazidose

Die gefährlichste unerwünschte Arzneimittelnebenwirkung ist die Laktatazidose. Wenngleich diese nur in sehr seltenen Fällen auftritt (in der Regel bei Nichtbeachtung der Kontraindikationen) ist sie mit einer Letalität von 50% vergesellschaftet [104]. Das Risiko erhöht sich bei Patient\*innen mit einer beeinträchtigten renalen Elimination von Metformin sowie bei erhöhter Laktatproduktion aufgrund zum Beispiel hypoxischer Zustände im Gewebe (zum Beispiel bei Herzinsuffizienz) [104]. Die Pathophysiologie hinter der metformininduzierten Laktatazidose erklärt sich folgendermaßen: Dosisabhängig wird durch Metformin die mitochondriale oxidative Phosphorylierung und damit einhergehend die ATP Produktion gehemmt, was zu einer gesteigerten Pyruvatproduktion führt. Dieses wird intrazellulär unter anaeroben Bedingung zu Laktat reduziert [105]. Laktat kann dann nur vermindert zur Glukosesynthesierung aufgewendet und akkumuliert im Körper ([106]; Abbildung 1.3.). Klinisch äußert sich eine Laktatazidose durch eine vertiefte Atmung, Übelkeit, Bauchschmerzen. Im Verlauf kann es zu einem Nierenversagen oder einem Schockzustand kommen [107].

Die Diagnose wird mittel Labor-, Blutgasuntersuchungen sowie dem Plasma-Metforminspiegel (therapeutischer Bereich liegt zwischen 0,5 und 3 mg/l [35]) gestellt [107]. Therapeutisch sollte nach Diagnosestellung rasch eine forcierte Diurese oder Hämodialyse begonnen werden, um den Wirkstoff zu eliminieren und die Letalität zu verringern [107, 108].

### Weitere Nebenwirkungen

Die mit Abstand am häufigsten auftretenden Nebenwirkungen sind gastrointestinaler Natur [109]. Dazu zählen Symptome wie Appetitlosigkeit, Übelkeit, Blähungen, Durchfälle, metallischer Geschmack oder eine Kombination der Beschwerden [109]. Diese Nebenwirkungen kommen bei bis zu 20% der mit Metformin behandelten Patient\*innen vor, vermehrt am Anfang der Therapie [104].

Eine seltenere Nebenwirkung ist eine Störung der Hämatopoese und einer megaloblastären Anämie, da es bei 20-30% der Patient\*innen zu einer Verminderung der Resorption von Vitamin B12 und Folsäure kommt [106, 109].

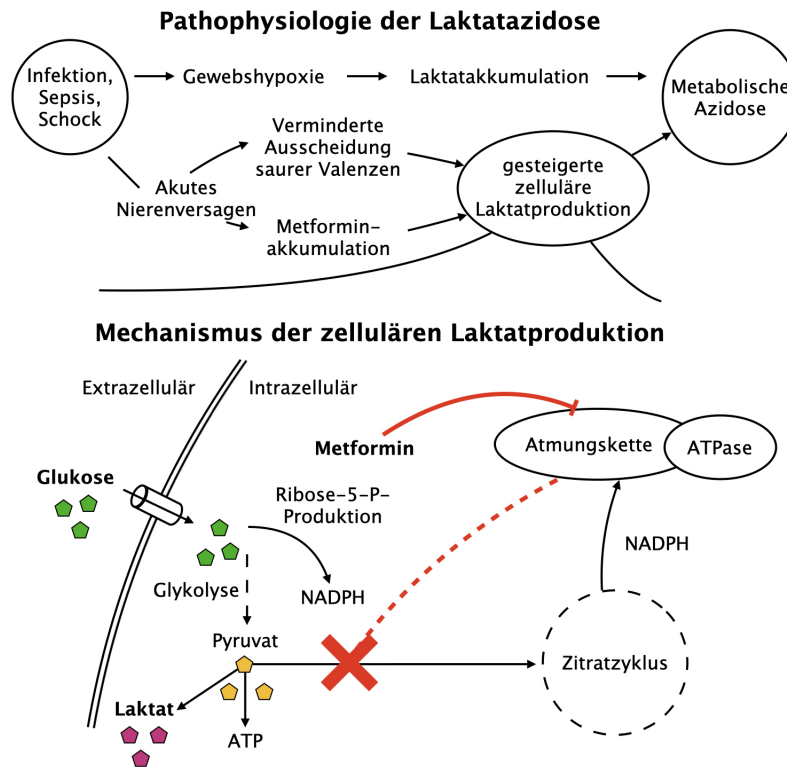


Abbildung 1.4: **Pathophysiologie der Laktatazidose.** Adenosintriphosphat (ATP), Nikotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH) Modifiziert nach [107]

Die meisten gastrointestinalen Nebenwirkungen reduzieren im Verlauf der Therapie oder lassen sich minimieren, indem die Dosis langsam auftritt und das Medikament gemeinsam mit einer Mahlzeit eingenommen wird [109].

## Interaktionen

Die Wirkung von Metformin auf den Blutzucker kann in Kombination mit unterschiedlichen Arzneistoffen alteriert sein.

Bei Gabe von Diuretika (insbesondere Schleifendiuretika) oder längerer Einnahme von NSAR kann die Nierenfunktion dahingehend verschlechtern, dass sich das Risiko einer Laktatazidose erhöht [106].

Nachdem Metformin über den OCT1 Transporter in die Zelle aufgenommen wird, kann die Wirksamkeit durch einen OCT1 Hemmer wie Verapamil verringert werden. OCT1 Induktoren (zB. Rifampicin) können im Gegensatz zu einer verstärkten Wirkung führen. Bei einer Hemmung von OCT2 kann eine verminderte renale Elimination zu einer Steigerung der Plasmaspiegel von Metformin führen [106].

## Kontraindikationen

Als absolute Kontraindikationen gelten metabolische Azidosen (unter anderem eine Laktatazidose, Ketoazidose) oder eine schwere Nierenfunktionsstörung mit einer glomerulären Filtrationsrate unter  $30\text{ml/min/1,73m}^2$  [109, 106].

Bei akuten Zustände (zB vor/während Operationen, schwere Herz-Kreislauf Erkrankungen) ) die eine plötzliche Nierenfunktionsstörung oder Hypoxie im Gewebe bedingen können, sollte die Dosis von Metformin ebenfalls angepasst werden [106].

Weitere Kontraindikationen stellen eine Leberinsuffizienz sowie Alkoholismus, Erkrankungen mit Fieber sowie eine stark kalorienreduzierte Diät (unter  $1000\text{kcal pro Tag}$ ) dar [104, 106].

Werden jodhaltige Kontrastmittel verabreicht oder Operationen unter Allgemeinanästhesie durchgeführt, empfiehlt es sich Metformin bis zwei Tage nach der Intervention abzusetzen und vor Wiedereinleitung die Nierenfunktion zu überprüfen [106].

## 2 Methoden

Diese Diplomarbeit ist eine literarische Übersichtsarbeit, welche auf einer systematischen Literatursuche im Zeitraum November 2023 bis Juni 2024 beruht. Die Suche wurde zeitlich nicht eingeschränkt. Als Suchplattform wurde PubMed genutzt und dadurch auf die Inhalte der *Medline* Datenbank zugegriffen. Informationen zu laufenden klinischen Studien wurde von der Plattform *clinicaltrials.gov* bezogen.

Für Texte zu Grundlagenthemen wurde auf die Lehrbuchsammlung der medizinischen Universität Graz zurückgegriffen.

Die Suchbegriffe für die Recherche auf PubMed beinhalteten nachfolgende Schlagwörter und wurden mit den booleschen Operatoren AND, OR und NOT verknüpft: „metformin“ „diabetes mellitus typ 2“ „dm2“ „t2dm“ „Biguanide“ „Dimethylbiguanide“ „Galega officinalis“ „Guanidine“ „History“ „pharmacokinetics“ „metabolism“ „half-life“ „pharmacodynamics“ „lactate“ „transporter“ „OCT“ „Glucose-lowering therapy“ „Therapie“ „Laktatatzidose“ „Inflammation“ „AMPK“ „cardiovascular benefits“ „atherosclerosis“ „Acute coronary syndrome“ „Alzheimer’s disease“ „dementia“ „neurodegenerative disease“ „cancer“ „neoplasia“ „pcos“ „Polycystic ovary syndrome“ „aging“ „anti-aging“ „Inflammaging“ „Microbiome“ „Microbiota“ „Weightloss“ „obesity“ „NAFLD“

Die Referenzen wurden mit der Open-Source Applikation *BibDesk* verwaltet.

# 3 Ergebnisse

## 3.1 Metformin und das Immunsystem

Das Immunsystem spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung und dem Fortschreiten vieler Krankheiten [110]. Bei kardiometabolischen Erkrankungen ist der Beitrag chronischer Entzündungen niedrigen Grades zu Stoffwechselstörungen und der Entwicklung von Atherosklerose inzwischen gut dokumentiert [111, 112]. Adipositas führt zu Entzündungen unterschiedlichen Ausmaßes im Fettgewebe, den Pankreasinseln und der Leber. Dies führt im Verlauf zu einer Lebersteatose, systemischer Insulinresistenz, zur Entwicklung eines Diabetes Mellitus Typ 2 und Herz-Kreislauf-Erkrankungen [113, 114, 115]. Diese so genannte Metaflammation prädisponiert den Einzelnen auch für Komorbiditäten wie Infektionskrankheiten (*Mycobacterium tuberculosis* [116], SARS-CoV-2).

Obwohl die Wechselwirkungen zwischen parenchymatösen und gewebeansässigen Immunzellen innerhalb lokaler Nischen in Stoffwechselorganen noch nicht vollständig geklärt sind, spielen sie bei diesen Entzündungsprozessen eine zentrale Rolle [114, 117].

Bemerkenswerterweise konnten einige entzündungshemmende Wirkungen von Metformin sowohl durch AMPK-abhängige als auch AMPK-unabhängige Mechanismen in Querschnittstudien bei Patient\*innen mit DM2, verschiedenen Interventionsstudien in Nagetiermodellen von Adipositas und DM2 sowie in In-vitro- und Ex-vivo-Experimenten bei verschiedenen Immunzelltypen gezeigt werden [118, 119].

Die Behandlung mit Metformin verbessert auch die mitochondrialen Funktionen in mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) von Patient\*innen mit DM2, was mit einer erhöhten AMPK-Phosphorylierung und Mitophagie sowie einer Verringerung der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und der Serumspiegel der pro-inflammatorischen Zytokine TNF und IL-6 einhergeht [120, 121].

Darüber hinaus verringerte die Behandlung mit Metformin in einer placebokontrollierten Studie bei Patient\*innen mit Prädiabetes die Konzentrationen der von Neutrophilen stammenden *extrazellulären Fallen* (*NET*) wie Elastase, Proteinase 3, Histone und Doppelstrang-

DNA, unabhängig von ihrer Wirkung auf die Normalisierung des Glukosespiegels [122]. Dieser Befund deutet darauf hin, dass Metformin die NETose in aktivierten Neutrophilen dämpfen kann. Sie ist einerseits für die Wirtsabwehr gegen Krankheitserreger wichtig, jedoch an entzündungsvermittelten Gewebeschäden und Thrombose beteiligt [110]. Metformin bewirkt in vitro bei Konzentrationen innerhalb des therapeutischen Bereichs eine dosisabhängige Hemmung der durch *Phorbol-12-Myristat-13-Acetat* und *Ionomycin* induzierten NETosis [122]. Diese Wirkung war mit einer verringerten PKC- $\beta$ -II-Membrantranslokation verbunden, was auf eine unmittelbare Wirkung des Medikaments auf die NETose-Maschinerie schließen lässt [110]. Es sind jedoch weitere Studien erforderlich, um den genauen Mechanismus zu entschlüsseln, durch den die Funktionen von Neutrophilen direkt oder indirekt durch Metformin reguliert werden [110].

Es wird angenommen, dass Veränderungen des intrinsischen Stoffwechsels der im Gewebe ansässigen und neu rekrutierten Makrophagen ihre Funktionen beeinflussen und damit zu den Hauptfaktoren der mit Fettleibigkeit verbundenen Metabolisierung gehören [123]. In vitro konnte gezeigt werden, dass Metformin die entzündungsfördernde Aktivierung von Makrophagen reduziert, indem es in die der Entzündung zugrundeliegenden zellulären metabolische Aktivierung eingreift [124].

Auf molekularer Ebene reduzierte Metformin die durch die Fettsäuresynthase (FASN) vermittelte Fettsäuresynthase und unterdrückte die FASN-abhängige Palmitoylierung von AKT in Lipopolysaccharid-stimulierten Makrophagen aus dem Knochenmark von Mäusen, was zu einer verringerten NF- $\kappa$ B-Aktivierung und einer verringerten Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen führte [124].

Ein neuartiger Weg, über den Metformin unabhängig von der AMPK-NF- $\kappa$ B-Achse die Entzündung dämpfen könnte, wurde ebenfalls bei Mäusen gezeigt. Dieser Weg beinhaltet eine direkte Hemmung des Komplex I der mitochondrialen Atmungskette und eine nachgeschaltete Hemmung von Inflammasomen in Alveolarmakrophagen [125]. Metformin hemmte die Lipopolysaccharid-induzierte mitochondriale ATP-Synthese und die anschließende Produktion und zytosolische Freisetzung von mtDNA, einem potenten NLRP3-Liganden, was letztlich zu einer Verringerung der Inflammasom-Aktivierung und der IL-1 $\beta$ -Produktion in Makrophagen aus dem Knochenmark der Maus führte [125].

Bemerkenswert ist, dass die Behandlung mit Metformin in Mausmodellen des akuten Atemnotsyndroms die durch Lipopolysaccharid und SARS-CoV-2 ausgelöste Lungenentzündung abschwächt, ein Effekt, der durch die myeloidspezifische Ablation der *Cytidin-Monophosphat-*

*Kinase 2*, eines Enzyms der mtDNA-Synthese, nachgeahmt wird [125]. Im Gegensatz dazu wurde gezeigt, dass die hemmende Wirkung von Metformin auf den mitochondrialen Komplex I auch die entzündungsfördernde Aktivierung von Alveolarmakrophagen durch städtische Feinstaubbelastung verhindert, insbesondere durch die Verringerung der von Komplex III abgeleiteten ROS und die anschließende Verringerung der kalziumvermittelten IL-6-Freisetzung [126]. Es ist anzumerken, dass in einer beträchtlichen Anzahl von in vitro- und ex vivo-Mechanismusstudien Metforminkonzentrationen verwendet wurden, die den therapeutischen Bereich überschreiten und daher mit Vorsicht betrachtet werden sollten [110].

## **Wirkung auf die Immunomodulation**

Es wurde über eine Reihe weiterer immunmodulatorischer Eigenschaften von Metformin berichtet. Darunter kam es zu einer verbesserten immunsuppressiven Kapazität bei verschiedenen autoimmunen, hyperinflammatorischen Erkrankungen [127, 128, 129, 130], einer verbesserten Immunantwort auf Infektionen [131] und eine Potenzierung der Anti-Tumor-Immunität [132].

**Metformin kann die Infektion mit dem *Mycobacterium tuberculosis*** reduzieren, das Fortschreiten der aktiven Tuberkulose verringern und die Sterblichkeit sowohl bei Mäusen als auch bei Menschen senken [133, 134]. Zwei Studien haben gezeigt, dass ein Teil dieser positiven Wirkung durch eine verstärkte antimykobakterielle Immunantwort des Wirts vermittelt werden kann [135, 136]. Tatsächlich induziert die Ex-vivo-Behandlung von PBMCs gesunder Spender mit Metformin eine mTORC1-Hemmung und eine metabolische Umprogrammierung der Immunzellen. Dies führt zu einer verringerten Produktion proinflammatorischer Zytokine und einer erhöhten Phagozytoseaktivität als Reaktion auf die Stimulation mit *M. tuberculosis*-Lysat [135], auch wenn dabei suprathérapeutische Konzentrationen verwendet wurden. Darüber hinaus zeigen PBMCs von mit Metformin behandelten gesunden Spendern eine erhöhte AMPK-Aktivierung, eine Herabregulierung von Genen mit Proteinprodukten, die an der Typ-1-Interferon-Antwort beteiligt sind und eine veränderte Zellzusammensetzung mit einer Verschiebung der myeloischen Zellen von klassischen zu nicht-klassischen Monozyten [135]. Auf der adaptiven Seite der Immunreaktion führte die Behandlung mit Metformin zur Vergrößerung einer Population von gedächtnisähnlichen CD8+CXCR3+ T-Zellen in Milz und Lunge und verbesserte die Immunogenität und die Schutzwirkung gegen *M. tuberculosis* bei Mäusen, die mit Bacillus Calmette-Guérin geimpft

wurden [136]. Diese Metformin-induzierte CD8+ T-Zell-Untergruppe, die auch bei Gesunden und bei mit Metformin behandelte DM2-Patient\*innen beobachtet wurde, weist Merkmale einer metabolischen Umprogrammierung auf, wie z.B. erhöhte mitochondriale oxidative Phosphorylierung und Fettsäureoxidation, Überlebensfähigkeit und antimykobakterielle Eigenschaften [136]. Insgesamt könnten diese Ergebnisse die Verwendung von Metformin als neue therapeutische Option für Patient\*innen mit Tuberkulose und/oder als Zusatzmedikament zum Tuberkuloseimpfstoff unterstützen.

## **Entzündliche und immunvermittelte Krankheiten**

Studien über die entzündungshemmenden sowie die möglichen immunmodulatorischen Eigenschaften von Metformin und Studien legen nahe, dass es im Zusammenhang mit verschiedenen Infektions-, Autoimmun- und hyperinflammatorischen Krankheiten eingesetzt werden könnte [110].

Trotz einer zunehmenden Zahl klinischer Studien, die sich auf diese neuen Erkenntnisse stützen, sind weitere Arbeiten erforderlich, um zu klären, ob die Modulation der Immunantwort auf eine direkte Wirkung von Metformin auf verschiedene Untergruppen von Immunzellen zurückzuführen ist und/oder hauptsächlich die Folge indirekter Wirkungen des Medikaments auf die Mikroumgebung dieser Zellen ist (z. B. Nährstoffe, Sauerstoffspannung und nicht-Immunzellen in der lokalen Nische) [110].

Ausgehend von den Transkriptionsprofilen der Immunzellen, sind die Expressionsniveaus von Genen, die für die wichtigsten Metformin-Transporter OCT1-3, den Plasmamembran-Monoamintransporter und das Multidrug and Toxin Extrusion Protein 1 kodieren, sowohl in Mäusesplenozyten als auch in menschlichen PBMCs sehr niedrig bis nicht nachweisbar [110].

Daher wäre es wichtig zu untersuchen, ob Metformin in spezifischen Untergruppen des angeborenen oder adaptiven Immunsystems sowohl in gesunden als auch in kranken Zellen aufgenommen werden und sich dort anreichern kann [110].

Darüber hinaus muss geklärt werden, ob klinisch relevante Konzentrationen des Medikaments, die viel niedriger sind als die in den meisten In-vitro- und Ex-vivo-Studien, direkt eine Immunmodulation auslösen können. In diesem Zusammenhang ist anzumerken, dass oral verabreichtes Metformin nicht in den Thymus gelangte, um AMPK zu aktivieren, und

das Auftreten von akuter lymphoblastischer T-Zell-Leukämie bei Mäusen nicht verringerte, was vermutlich auf einen Mangel an geeigneten Transportern zurückzuführen ist [137].

Im Gegensatz dazu gelangte das zelldurchlässige Biguanid Phenformin in den Thymus und aktivierte AMPK, was zu einem verzögerten Ausbruch der akuten lymphoblastischen T-Zell-Leukämie führte [137].

Daher könnte die Verwendung von Phenformin, wenn Metformin nicht von Krebs- oder Immunzellen aufgenommen wird, eine bessere Wirksamkeit bieten als Metformin nach den derzeitigen klinischen Studien [138].

Patient\*innen

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind weltweit eine der Hauptursachen für Mortalität und Morbidität und sie sind mit dem Auftreten von Risikofaktoren wie Bewegungsmangel, Diabetes, Fettleibigkeit, Hyperlipidämie und Bluthochdruck vergesellschaftet [139]. Erhöhter Blutzucker kann zu oxidativem Stress, Dyslipidämie und endothelialer Dysfunktion führen, was ebenfalls zu einem erhöhten kardiovaskulären Risiko führt [140]. Unter den Antidiabetika wurde beobachtet, dass Metformin das Auftreten von Herz-Kreislauf-Erkrankungen und die damit verbundene Sterblichkeit verringern kann [19, 20, 141]. Eine kürzlich durchgeführte systematische Studie und Meta-Analyse an 701.843 mit Metformin behandelten DM2-Patient\*innen und 1.160.254 Kontrollpersonen zeigte eine verringerte Mortalität und weniger unerwünschte kardiovaskuläre Ereignisse unter Metformintherapie [142]. Ähnliche Ergebnisse lieferte auch eine Meta-Analyse, bei der Metformin die Zahl der Todesfälle sowie die kardiovaskulären Ereignisse bei Patient\*innen mit Koronararterienerkrankungen verringerte [143].

Die *MetCool ACS-Studie* wurde bei Patient\*innen ohne Diabetes durchgeführt, um die Wirksamkeit von Metformin beim akuten Koronarsyndrom zu untersuchen. Die Studie läuft noch und wird voraussichtlich im Jahr 2025 abgeschlossen sein, sodass derzeit noch keine abschließenden Aussagen über die schützende Wirkung von Metformin beim ACS zu treffen sind [144].

Metformin verringert die Bildung von AGE und die durch Hyperglykämie verursachte ROS-Produktion (*Reactive Oxygen Species*) im Endothel und an anderen Stellen im Körper, wodurch sich die kardiovaskuläre Prognose verbessert [145]. AGE verändern die HDL-Reste, was zur Bildung von dysfunktionalem HDL führt, welches nicht in der Lage ist, den Cholesterin-Efflux durchzuführen, wodurch sich das kardiovaskuläre Risiko erhöht [146]. Bei Diabe-

tes ist der Zucker-Metabolit Methylglyoxal für einen erhöhten oxidativen Stress, die Synthese von AGE-Produkten, Verstärkung von Entzündungen und eine Abnahme der NO-Verfügbarkeit (Stickstoffmonoxid) im Endothel verantwortlich [147]. Einige der Eigenschaften von HDL wie die Fähigkeit zur Entzündungshemmung oder eine antioxidative und schützende Aktivität gegen Homocystein-Thiolacton werden dem im HDL enthaltenen Enzym Paraoxonase-1 (PON-1) zugeschrieben [146, 148, 149]. Jede Veränderung im Apolipoprotein kann zu einer dysfunktionalen PON-1-Aktivität führen, was die schützende Wirkung von HDL beeinträchtigen und zu Komplikationen bei verschiedenen Krankheiten führen kann. Es gibt Hinweise darauf, dass Metformin die Endothelfunktionalität verbessern, den oxidativen Stress minimieren und die Glykierung verbessern kann [145].

Eine verminderte NO-Verfügbarkeit im Endothel wird mit einem kardiovaskulären Risiko in Verbindung gebracht. Wenige In-vitro-Studien mit haben gezeigt, dass Metformin die NO-Produktion erhöht, aber In-vivo-Studien konnten diesen Befund nicht bestätigen [145, 150].

Der aktuellen Studienlage nach bleibt die Wirkung von Metformin auf die NO-Freisetzung fraglich, daher sind weitere Untersuchungen in klinischen Studien am Menschen notwendig [150, 151, 152].

Durch die Aktivierung von AMPK blockiert Metformin die  $\alpha$ -Dicarbonyl-vermittelte Veränderung der Apolipoprotein-Komponente, was zu einer Abschwächung der HDL-Dysfunktion und einer Minimierung der durch LDL verursachten Schäden führt [153].

Studien in vitro haben berichtet, dass Metformin die Interaktion von HDL mit Efflux-Rezeptoren modulieren und die AGE-Bildung reduzieren kann und damit die Auswirkungen auf die beeinträchtigte Cholesterin-Efflux-Kapazität von HDL bei Lipoproteinen minimiert [154, 155].

Es gibt auch Hinweise darauf, dass Metformin bei Herzinsuffizienz vorteilhaft sein kann, indem es durch die Aktivierung von AMPK und die kontrollierte Regulierung des Lipid- und Glukosestoffwechsels in den Kardiomyozyten den Status des myokardialen Energiestoffwechsels moduliert [156].

Der genaue Mechanismus ist nicht bekannt, aber anhand der vorliegenden Erkenntnisse wird berichtet, dass Metformin die NO-Verfügbarkeit erhöht, die interstitielle Fibrose und die Ablagerung von AGE-Produkten sowie die Apoptose von Kardiomyozyten einschränkt. Diese führt zu einem verminderten kardialen Remodeling und einem Erhalt der systolischen/diastolischen Funktionen des linken Ventrikels [156, 157, 158, 159, 44].

Der Nutzen von Metformin bei Herzinsuffizienz wurde ebenfalls in randomisierten, kontrollierten Studien nachgewiesen und kann nun auch bei stabiler chronischer Herzinsuffizienz unter laufender Überwachung der Nieren- und Herzfunktion als sicher angesehen werden [159, 160].

## **3.2 Antineoplastische Effekte**

In einigen Studien der letzten Jahre wurde postuliert, dass Metformin vor neoplastischen Erkrankungen schützen könnte. Die krebshemmende Wirkung von Metformin wird sowohl mit indirekten als auch mit direkten Wirkungen dieses Medikaments in Verbindung gebracht [161]. Die indirekten Mechanismen ergeben sich aus allgemeinen Veränderungen des Blutzucker- und Insulinspiegels, die das Überleben von Krebszellen beeinflussen könnten [162]. Es wird berichtet, dass Insulin und der insulinähnliche Wachstumsfaktor 1 (IGF-1) die Tumorentstehung fördern können, indem sie die Proliferation von Epithelzellen stimulieren [163, 164]. Eine Senkung des Insulinspiegels kann daher eine solche neoplastische Aktivität verhindern. Metformin kann auch die Entzündungsprozesse beeinflussen, die Berichten zufolge eine wichtige Rolle bei der Tumorentstehung spielen. Die durch Metformin vermittelte Blockierung der Aktivität des Transkriptionsfaktors Nuklearfaktor- $\kappa$  B (NF- $\kappa$  B) führt zu einer verringerten Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen [165]. Darüber hinaus wurde berichtet, dass Metformin die Immunantwort auf Krebszellen aktiviert [164]. So wurde beispielsweise festgestellt, dass das Medikament die Wirksamkeit eines experimentellen Impfstoffs gegen Krebs verbesserte, der hauptsächlich durch die Aktivierung von Gedächtnis-T-Zellen vermittelt wurde [166]. Die direkten antineoplastischen Effekte von Metformin sind mit AMPK-abhängigen und AMPK-unabhängigen Mechanismen verbunden [162].

### **AMPK-abhängige Mechanismen der krebshemmenden Wirkung von Metformin**

Die Aktivierung des AMPK-Signalwegs ist möglicherweise maßgeblich an den krebshemmenden Wirkmechanismen von Metformin beteiligt. Eine wichtige Folge der AMPK-Aktivierung ist die Hemmung der mTOR-Signalübertragung - dem Hauptregulator des Zellwachstums

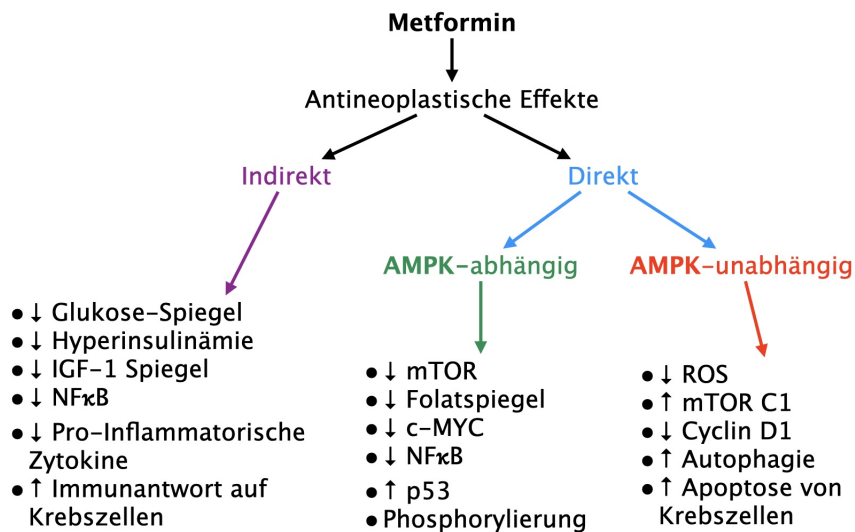


Abbildung 3.1: **Antineoplastische Effekte von Metformin.** Abbildung nach [161]

und der Zellproliferation [167]. Es wurde auch berichtet, dass Metformin als Anti-Folat-Medikament wirken kann [168, 169]. Ähnlich wie bei Anti-Folat-Chemotherapeutika führt dieser Mechanismus, der den Folatstoffwechsel schädigt, zu einer Hemmung der Krebszellproliferation. Der nächste Mechanismus, der für die krebshemmenden Eigenschaften von Metformin verantwortlich ist, ist die Regulierung des Zellzyklus über Interaktionen mit klassischen Onkogenen und Tumorsuppressoren, die durch AMPK induziert werden können. Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass Metformin c-MYC in Brustkrebszelllinien AMPK-abhängig herunterreguliert [170]. Es wurde auch festgestellt, dass AMPK auf p53 abzielt und durch Ser15-Phosphorylierung des p53-Proteins einen Zellzyklus-Stillstand bewirkt [171, 172].

### **AMPK-unabhängige Mechanismen der krebshemmenden Wirkung von Metformin**

AMPK-unabhängige Mechanismen können ebenfalls den krebshemmenden Wirkmechanismus von Metformin erklären. Das Medikament kann die DNA-Schädigung von Zellen hemmen, indem es die Bildung von ROS durch Komplex I verhindert [173]. Außerdem kann Metformin die Aktivierung von mTORC1 in Abwesenheit von AMPK induzieren [174]. Einige Untersuchungen belegen, dass die antineoplastische Wirkung von Metformin durch eine AMPK-unabhängige Hemmung von Cyclin D1 vermittelt wird, das ein wichtiger Regulator des Zellzyklus ist [175]. Es wird berichtet, dass diese Hemmung mit der p53-abhängigen

Hochregulierung von REDD1 zusammenhängt, die ein Ergebnis der DNA-Schadensreaktion ist [176]. Es wurde gezeigt, dass Metformin die Apoptose und Autophagie bei Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus hochreguliert, was zu einer Verringerung des Tumorwachstums führt [177]. Dies wurde durch die Inaktivierung des Stat3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3)-Bcl2-Wegs vermittelt. Dieser Weg wird durch die Ausschaltung von AMPK nur geringfügig verschlechtert, was auf einen eher begrenzten Beitrag von AMPK hinweist. Es wurde auch berichtet, dass Metformin die Glukoseaufnahme in Lungenkrebs- und Brustkrebszellen verringert. Die Hemmung einer solchen Energiequelle führt schließlich zur mitochondrialen Depolarisierung und zum programmierten Zelltod [178, 179]

### 3.3 Neuroprotektive Wirkung

Stoffwechselstress steht im Zentrum vieler Erkrankungen, besonders beim DM2 [180, 181]. Dieser ergibt sich meist aus dem Ungleichgewicht zwischen Energieverbrauch und Nährstoffverfügbarkeit. Die daraus resultierende veränderte Energiebalance in der Zelle, führt im Verlauf zur Überlastung und zu einer abnormen Zellfunktion [182, 183].

Die Auswirkungen des metabolischen Stresses beeinträchtigen jedoch nicht nur periphere Organe wie die Leber, Skelettmuskeln oder das Gefäßsystem sondern in besonderem Maße auch das Nervensystem mit dem Gehirn [184, 185].

Es gibt immer mehr Evidenz, dass Stoffwechselstress (zB.im Rahmen von Diabetes Mellitus) alleine oder in Kombination mit genetischen und umweltbedingten Faktoren mit einem erhöhtem Risiko für Erkrankungen aus dem neurologischen (Insult, Demenz (Alzheimer sowie vaskuläre Demenz), Morbus Parkinson) und psychiatrischen Formenkreis (Depression) einhergehen [186].

**Die zugrundeliegenden pathophysiologischen Merkmale** neurodegenerativer Erkrankungen sind unter anderem Dystrophien, Funktionsverluste und Zelltod [187]. Auf subzellularer Ebene weisen sie gemeinsame Veränderungen wie abnorme Proteinaggregation, einen gestörten axonalen Transport, programmierten Zelltod und Stoffwechselstörungen [188, 189].

Klinische und experimentelle Studien legen nahe, dass ein veränderter Hirnstoffwechsel, der durch einen AMPK-abhängigen Mechanismus verursacht wird, möglicherweise ein zentraler Aspekt neurodegenerativer Erkrankungen ist. Die gezielte Beeinflussung des AMPK-

Signalwegs könnte daher therapeutische Vorteile bieten [190, 191]. Nachdem die Aktivierung der AMPK ein wichtiges Ziel von Metformin ist (siehe Kapitel Wirkmechanismus), wird dessen Einsatz in der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen zunehmend erforscht. Metformin kann die Blut-Hirn-Schranke passieren und entspricht damit den Anforderungen eines im zentralen Nervensystem wirksamen Insulin-Sensibilisators (ISIS) [192]. Die Konzentration in der Zerebrospinalflüssigkeit beträgt jedoch nur 10% von jener im Plasma. [193]

## **Alzheimer-Krankheit**

Die Alzheimer-Krankheit ist weltweit die am häufigsten vorkommende Entität neurodegenerativer Erkrankungen. In Europa ist sie die häufigste Demenzform (50 - 70 % aller Demenzen), die Prävalenz steigt im Alter und ist die häufigste Todesursache bei Frauen und die sechsthäufige bei Männern [194].

Es wird vermutet, dass die Entstehung von Alzheimer eng mit Störungen der Insulin-Signalübertragung und dem Glucosestoffwechsel des Gehirns zusammenhängt [195]. Daher wird die Alzheimer-Krankheit mittlerweile von einigen Autoren als „Typ 3-Diabetes“ bezeichnet. Das Gehirn ist nicht mehr in der Lage Glukose effizient zur Energiegewinnung zu nutzen auf Insulin adäquat zu reagieren [196]. Frölich *et al.* konnten bei Alzheimer-Patient\*innen nach deren Ableben in histologischen Proben des Gehirns eine Verringerung der Insulinrezeptoren und der Tyrosinkinase-Aktivität darstellen [197]. Insulin-Rezeptoren finden sich an neuronalen Synapsen und Astrozyten (in gewissen Hirnregionen, zB Amygdala u Hippokampus), was Hinweise auf die Rolle von Insulin bei Lern-, Gedächtnis- und kognitiven Prozessen geben könnte [198]. Weiteres fördert Insulin die Sekretion amyloider A $\beta$ -Vorläuferprotein (APP) und deren Wanderung zur Plasmamembran bei gleichzeitiger Verminderung der APP Clearance [199]. Dieser Zusammenhang zeigt, dass die Hyperinsulinämie als erstes Stadium der Insulinresistenz die Amyloidose in den Frühstadien der Alzheimer-Krankheit vermittelt [187]. Zusätzlich kommt es insulinvermittelt zu einer verminderten Aktivierung der Glykogensynthasekinase-3 $\beta$  und dadurch zu einer Tau-Hyperphosphorylierung, welche ebenfalls pathognomonisch für die Hirnschädigung bei der Alzheimer-Krankheit ist [200]. Untersuchungen von Gehirnen von Alzheimer-Patient\*innen und Tiermodellen, welche eine intrazerebrale Streptozocin-Injektion verabreicht bekommen haben, weisen auf eine gestörte Genexpression von Entzündungs- und Apoptosemarkern hin. Dies deutet darauf hin, dass Insulinbeeinträchtigungen den neuronalen Verlust sowie die Hirnatrophie bei der Alzheimer-

Krankheit vermitteln [201]. Neben Insulin lassen weitere Arbeiten darauf schließen, dass eine mitochondriale Dysfunktion ebenfalls eine Rolle in der Pathogenese der Alzheimer-Demenz spielt.

### Die Rolle von Metformin in der Behandlung der Alzheimer Demenz

Durch die oben beschriebenen Zusammenhänge zwischen Stoffwechselstörungen im Gehirn und Alzheimer-Demenz wird der Einsatz von Antidiabetika zur Behandlung der Insulinresistenz bei Alzheimer zunehmend in Betracht gezogen [202], zumal ungeachtet jahrelanger klinischer Forschung nur wenige Medikamente für die Behandlung der Alzheimer Krankheit zugelassen worden sind und diese oft nur vorübergehende Linderung verschaffen und teilweise schwerwiegende Nebenwirkungen haben [203].

Damit Metformin eine Wirkung im ZNS entfalten kann, muss es in der Lage sein, die Blut-Hirnschranke zu überwinden. Dies konnte in Studien bewiesen werden [192], wenngleich die Konzentration in der Zerebrospinalflüssigkeit nur 10% von jener im Plasma ausmacht [193].

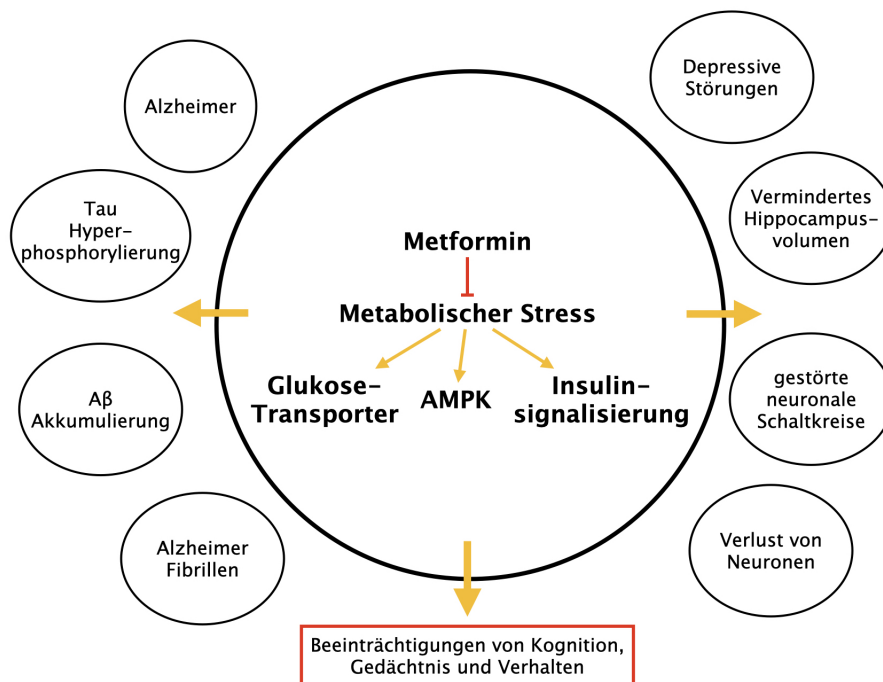


Abbildung 3.2: Mögliche molekulare Wirkungen von Metformin auf neurodegenerative Erkrankungen [187]

**Die bisherigen Studien** zum Einsatz von Metformin bei Alzheimer zeigen teilweise widersprüchliche Ergebnisse. In einer großen Fall-Kontroll-Studie wurde gezeigt, dass Langzeitanwender von Metformin im Vergleich zu Nichtanwendern ein geringfügig größeres Risiko hatten, an Morbus Alzheimer zu erkranken, wobei keine Korrelation zur Dosierung gezeigt werden konnte [204]. Eine weitere Arbeit untersuchte eine Stichprobe von Diabetikern (n=126). Die mit Metformin behandelten Patient\*innen zeigten im Vergleich zu den Patient\*innen ohne Metforminbehandlung eine schlechtere kognitive Leistung. Auch bei dieser Studie handelt es sich jedoch um eine geringe Teilnehmerzahl sowie wurden Dauer und Dosis der Einnahme nicht berücksichtigt [205]. Eine gepoolte Analyse von Weinstein *et al.* mit 3590 Diabetes-Patient\*innen zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Einnahme von Metformin und dem Demenzrisiko oder anderen Messgrößen kognitiver Leistungsfähigkeit [206].

Dennoch konnte in einige Studien festgestellt werden, dass Metformin das Demenzrisiko verringern kann. Eine repräsentative Kohortenstudie zeigte, dass Teilnehmer mit DM2 im Vergleich zur Kontrollgruppe ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Demenz haben. Die mit Metformin behandelten Teilnehmer zeigten jedoch ein geringeres Demenzrisiko [207]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt eine weitere Kohortenstudie aus Taiwan: auch hier konnte ein geringeres Risiko für die Entwicklung von Demenz bei mit Metformin behandelten DM2-Patient\*innen gezeigt werden [208].

Eine Follow-Up Studie von Cheng *et al.* untersuchte die Daten von 67.731 Teilnehmern, welche alle über 65 Jahre alt waren und bisher keinen Diabetes oder Demenz hatten auf das Auftreten von DM2 und die Entwicklung einer Demenz. Dabei zeigte sich, dass die mit Metformin oder Sulfonylharnstoffen behandelten DM2-Patient\*innen ein signifikant geringeres Risiko für die Entwicklung einer Demenz hatten [209]. Auch eine Kohortenstudie an über 65-jährigen US-Veteranen mit DM2 konnte zeigen, dass bei den Anwendern von Metformin ein geringeres Risiko für die spätere Entwicklung einer Demenz bestand [210].

Bei einer Pilotstudie zur Alzheimer-Prävention wurden Patientin mit einer anamnestisch leichten kognitiven Beeinträchtigung (aMCI), in der Regel eine Vorstufe der Demenz, mit Metformin behandelt. Bei den mit Metformin behandelten Teilnehmern zeigte sich im Vergleich zur Placebogruppe eine Verbesserung der Gesamterinnerung im *Bushcke Selective Reminding Test (SRT)*. Bei dem A $\beta$ -Plasmaspiegel und der Glukoseaufnahme im Gehirn gab es zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede [211]. Eine placebokontrollierte Studie an nicht-diabetischen Probanden mit leichter kognitiver Beeinträchtigung konnte zei-

gen, dass es unter Metformintherapie zu einer Verbesserung der exekutiven Funktionen, des Lernens, des Gedächtnisses und der Aufmerksamkeit kommt [193].

Neben klinischen Untersuchungen wurden mehrere In-vitro Studien durchgeführt, um den möglichen Nutzen von Metformin bei Modellen der Alzheimer Krankheit zu zeigen [187]. In einem experimentellen Modell von Typ-3-Diabetes konnte Metformin an kultivierten Neuronen die Werte von phosphoryliertem Tau (pTAU), A $\beta$  und Acetylcholinesterase-Enzym (AchE) verringern, welche jeweils pathognomonisch für Morbus Alzheimer sind [212]. Weiters konnte gezeigt werden, dass Metformin die durch die A $\beta$  Toxizität induzierten apoptotische Wege in kultivierten Hippocampus Neuronen hemmt [213]. In einem diabetischen Mausmodell konnte Metformin Alzheimer-ähnliche Pathologien im Gehirn wie den Anstieg der pTau-Werte und die Abnahme synaptischer Proteinspiegel mildern [214].

## **AMPK**

Es wird vermutet, dass die AMPK-Signalübertragung aufgrund ihrer regulatorischen Rolle bei Tau- und A $\beta$ -Proteinen zur Pathologie bei Morbus Alzheimer beiträgt [215].

Experiment: menschlichen zellen führt aktivierung AMPK durch Metformin zu einem Schutz vor A $\beta$ -induzierter mitochondrialer Dysfunktion [216].

In einer anderen Studie an einem neuronalen Modell der Insulinresistenz wurde gezeigt, dass Metformin die AMPK-Phosphorylierung steigert und gleichzeitig eine positive Wirkung auf AD- ähnliche Pathologien hat [212].

Dies deutet darauf hin, dass die neuroprotektiven Wirkungen von Metformin bei der potenziellen Behandlung von Alzheimer AMPK-abhängig sind und die Wirkungen der Stimulierung dieses Signalwegs je nach der Art seiner Wirkung variieren können; [187]

2012 zeigten Wang et al., dass die Verabreichung von Metformin die Neurogenese und das räumliche Lernen durch ein atypisches Proteinkinase C-CREB-bindendes Protein (aPKC-CBP), das der AMPK nachgeschaltet ist, verbessert [217].

Es gibt jedoch auch Hinweise, dass Metformin unabhängig vom AMPK-Signalweg, nämlich über Insulin, wirkt [215]. Nachdem das Medikament ZNS-gängig ist, kann es möglicherweise direkt im Gehirn auf die Insulinsignalisierung einwirken und damit den veränderten

Glukosestoffwechsel im Gehirn verbessern [218]. In einer In-vitro-Studie an insulinresistenten Neuronen konnten Störungen des Insulinsignalweges mit Metformin verbessert werden [212].

Nachdem Beeinträchtigungen der Glukoseaufnahme und -verwertung durch das Gehirn Hauptmerkmale der Alzheimer-Krankheit sind und bereits in frühen Stadien der Degeneration festgestellt werden können [219] wird daher der Wirkung von Metformin auf den Insulinsignalwege bei der Behandlung und Vorbeugung von Morbus Alzheimer Bedeutung beigemessen [187].

### 3.4 Polyzystisches Ovarialsyndrom

Das **Polyzystisches Ovarialsyndrom (PCO)** ist eine endokrine Multisystemstörung, die sowohl durch metabolische als auch reproduktive Anomalien gekennzeichnet ist [192]. Es betrifft 4 bis 12% der Frauen im gebärfähigen Alter [220]. Klinisch äußert sich die Erkrankungen durch Symptome wie Oligo- oder Amenorrhö, Insulinresistenz, Sterilität, Infertilität und häufig Fettleibigkeit sowie Hyperandrogenismus und Hirsutismus [221]. Die Ovarien können morphologisch vergrößert und von multiplen Zysten durchsetzt sein [222].

Während die genaue Ätiologie nach wie vor nicht geklärt ist, scheinen sowohl epigenetische, genetische sowie Umweltfaktoren (Lebensstil: hoher BMI, wenig Sport, ungesunde Ernährung) zur Ausprägung beizutragen [223].

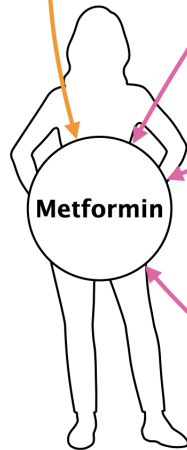
Bekannte Faktoren für die Entwicklung von PCOS sind jedoch Insulinresistenz, ein erhöhter Insulinspiegel sowie eine verstärkte Signalübertragung über den IGF-1-Signalweg. Diese tragen auch zur verminderten Fähigkeit der Ovarialfollikel zur Reifung und dem Ausbleiben des Eisprungs bei [224].

Vor allem Insulinresistenz sowie Fettleibigkeit sind bei 40-80% der Betroffenen vorhanden [192]. Insulinresistenz kommt sowohl bei schlanken (75%) als auch bei fettleibigen (95%) Patientinnen mit PCOS vor [225].

Behandlungsansätze sind neben Lebensstilveränderungen (Gewichtsabnahme) orale Empfängnisverhütung sowie insulinsensibilisierende Wirkstoffe [192].

### Systemische Effekte

- Verbesserung der AMH-Werte und des PCOM (niedrigere E2-Werte)
- Besserung von Hyperandrogenismus
- Verbesserung der Häufigkeit des Eisprungs und der Menstruationszyklen
- Verbesserte Gewichtsabnahme
- Verbesserte Insulinempfindlichkeit
- Verbesserung des Zustands der chronischen, niedriggradigen Entzündung



### Lokale Effekte

#### Hormonelle Effekte

- Hemmung der ER Expression
- Hemmung der AR Expression
- Normalisierung der AR-vermittelten Gentranskription
- Inhibierung der PR Expression
- Verbesserung der PR-Ko-Regulation des MAPK/ERK/p38 Signalwegs
- Modulation von PR- $\alpha$ /PR- $\beta$

#### Metabolische Effekte

- Verbesserung der Insulin-Signalübertragung
- Modulation der Wirkungen von A auf InRS-1
- Beeinflussung der Wirkung von A auf GLUT-4 und der Expression des IGF/IGF-BP-Systems
- Induktion der GLUT-4 mRNA-Expression
- Induzierung der GLUT-4-Synthese
- Normalisierung/Aktivierung von Ko-Regulatoren der GLUT-4-Expression (AMPK und MEF-2A)
- Verbesserung der IGF-1- und Glycodelin-Expression
- Herunterregulierung der Expression von miR-491-3p und miR-1910-3p
- Hochregulierung der Expression von HOXA-10 und Integrin  $\beta$ -3

#### Antiinflammatorische/ immunmodulatorische Effekte

- Herabregulierung der MMP-2 und MMP-9-Expression, mTor und der Expression von miR-491-3p und miR-1910-3p
- Modulation von Zytokinen, IL-8-Expression, TNF- $\alpha$ -Spiegels, MAPK (CK-8-Expression und Phosphorylierung), Expression des IGF/IGF-BP-Systems
- Beeinflussung der IL-1 $\beta$ -Expression
- Verbesserung der Expression von IGF-1 und Glycodelin

Abbildung 3.3: **Indirekte (systemische) und direkte (lokale) Wirkungen von Metformin auf das Endometrium bei Frauen mit PCOS.** Abbildung nach [226]

## Metformin

Metformin ist zur Zeit das einzige Antidiabetikum, das bei Frauen mit PCOS zur Behandlung von Stoffwechsellstörungen eingesetzt wird [227]. Auch wenn es nicht für die Behandlung von PCOS zugelassen ist, ist es das häufigste verschriebene Medikament alleine oder in Kombination mit Clomifen (*Estrogenrezeptormodulator*) bei Frauen mit PCOS [228, 229]. Dies wird vor allem mit der Fähigkeit zur Verringerung der Insulinresistenz gerechtfertigt [230].

Da die Wirkung von Metformin auf das Gewicht und die Insulinresistenz bei PCOS einen wesentlichen Beitrag zur Beschwerdelinderung leisten, sind GLP-1-Rezeptor Agonisten (z. B. Liraglutid und Exenatid) sind in ähnlicher Weise wirksam [192]. Diesbezüglich haben jüngste Übersichten und Meta-Analysen gezeigt, dass GLP-1-Agonisten allein oder in Kom-

bination mit Metformin ebenfalls eine Behandlungsoption bei PCOS darstellen können [231, 232, 233].

In einer systematischen Übersichtsarbeit berichteten Naderpoor *et al.*, dass eine Lebensstilintervention plus Metformin im Vergleich zu einer Lebensstiländerung mit Placebo sowohl hinsichtlich einer Gewichtsabnahme als auch bei der Regelmäßigkeit des Menstruationszyklus von Vorteil war [234].

Neben der Gewichtsabnahme und den metabolischen Effekten wirkt Metformin auch auf der Ebene der Eierstöcke. Zusätzlich zu den Stoffwechselwirkungen innerhalb des Eierstocks hemmt Metformin die Androgenproduktion in isolierten menschlichen Granulosazellen der Eierstöcke, wobei dieser Effekt in Gegenwart von Insulin besonders deutlich ist [235]. Die hemmende Wirkung trat *in vitro* jedoch bei niedrigeren Konzentrationen auf ( $<10^{-8}M$ ) als bei Patient\*innen *in vivo* erreicht werden konnte und konnte auch nicht in allen Studien vollständig bestätigt werden [236]. Arlt *et al.* kamen zu dem Ergebnis, dass die androgensenkende Wirkung von Metformin sekundär ist und primär auf die erniedrigten Insulinspiegel und der daraus folgenden verringerten Aktivität der steroidogenen Enzyme zurückzuführen ist.

**Weitere Studien** weisen auf die bedeutende Rolle der ovariellen AMPK bei der Vermittlung der Wirkung von Metformin hin [237]. In einer aktuellen Studie konnte gezeigt werden, dass Zellen der Zona glomerulosa von Patientinnen mit PCOS eine geringere alpha-1-AMPK-Genexpression aufwiesen. alpha-1-AMPK-defiziente Mäuse zeigten einen PCOS-ähnlichen Phänotyp, der unregelmäßige Zyklen, Ovulationsstörungen, veränderte Follikeldynamik und Hyperandrogenismus beinhaltete [238]. Das Silencing von alpha-1-AMPK in immortalisierten menschlichen Granulosazellen hemmte in ähnlicher Weise die Steroidogenese [238].

### 3.5 Anti-Ageing

Zwei verschiedene Mechanismen werden als Hauptursache für die Alterung beschrieben. Der erste - die ROS-Theorie - bezieht sich auf kumulative DNA-Schäden, die durch Reactive oxygen species (ROS), die Nebenprodukte der oxidativen Phosphorylierung, verursacht werden. Die zweite ist die TOR-Theorie, die mit der konstitutiven Stimulierung der mitogen- und nährstoffsensitiven mTOR/S6-Signalübertragung zusammenhängt [239]. Die zellulären

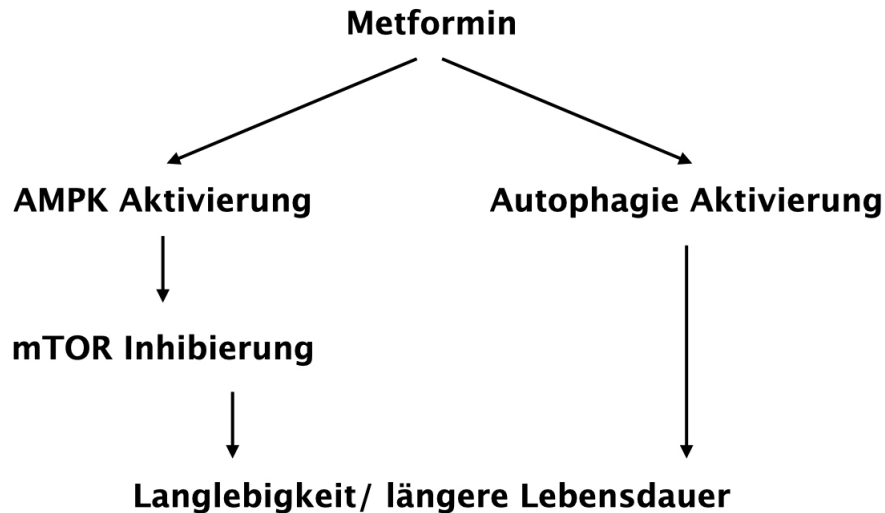


Abbildung 3.4: **Wirkungen von Metformin aufs Altern** [161]

Signalwege, die dem mTOR vorgeschaltet sind, wie die IGF-1/GH-Achse, MAPK, AKT und PI3K, sind die Ziele für die Hemmung der Alterung. Sie können durch Mitogene, Wachstumsfaktoren, Zucker und Aminosäuren stimuliert werden. Andererseits können Kalorienrestriktion, Mimetika wie 2-Desoxy-D-Glucose und Blocker von Mitogenen und Wachstumsfaktoren wie Somatotropin und IGF-1 die mTOR-Signalwege unterdrücken [240, 241, 242]. Dies wird durch die Tatsache unterstützt, dass Mutationen, die die Wachstumshormon- (GH) und IGF-1-Signalübertragung bei Säugetieren reduzieren, mit einer verlängerten Lebensspanne in Verbindung gebracht werden [243, 244]. Der spezifische Inhibitor Rapamycin kann die Kinaseaktivität von mTOR direkt hemmen. Es wird allgemein berichtet, dass Rapamycin gero-suppressive Wirkungen hat, wie z. B. die Verlängerung der Lebensspanne, die Vorbeugung altersbedingter Erkrankungen oder die Senkung der Kosten für die Patient\*innenversorgung [245, 246]. Die AMPK-Aktivierung führt zu einer indirekten Hemmung von mTOR; somit hat Metformin als AMPK-Aktivator nachweislich gero-suppressive Wirkungen [247]. In Experimenten mit Mäusen, die mit Metformin und Rapamycin gefüttert wurden, konnte eine verlängerte Langlebigkeit und Lebenserwartung nachgewiesen werden [248, 249]. Die Verwendung von Metformin als Anti-Aging-Medikament wurde kürzlich aufgrund seiner breiten Anwendung in der klinischen Praxis sowie seiner bekannten Pharmakokinetik und akzeptablen Toxizität vorgeschlagen [249]. Unter den gero-suppressiven Mechanismen spielt auch die Aktivierung der Autophagie eine wichtige Rolle [250, 251]. Dieser Prozess wird durch Nährstoffmangel ausgelöst, der zu einer Umstrukturierung der subzellulären Membranen führt. Infolgedessen bilden sich doppelmembranige Autophagosomen, die zytoplasmatische Bestandteile und Organellen einschließen [252, 164]. Die Au-

tophagie schützt die Nährstoffversorgung und die ordnungsgemäße Funktion der Zellorganellen [253]. Gene, die an der Regulierung der Autophagie beteiligt sind, sind entscheidend für die Langlebigkeit verschiedener Organismen, von Hefen, Fliegen und Fadenwürmern bis hin zu Mäusen. Es wurde auch berichtet, dass die Induktion der Autophagie die Lebensspanne verlängern kann [246]. Polyamine sind die wirksamsten Aktivatoren der Autophagie, und die Induktion dieses Prozesses ist mit einer Unterdrückung der Signalübertragung entlang der IGF- und mTOR-Signalwege verbunden [254, 255]. Daher können Inhibitoren dieser Signalwege wie Rapamycin oder Metformin Aktivatoren der Autophagie sein [256].

## **Prävention von „Inflammaging“**

Wie kardiometabolische Erkrankungen sind auch das Altern und altersbedingte Erkrankungen häufig mit chronischen Entzündungen (auch Inflammaging genannt) und einer Umgestaltung des Immunsystems verbunden [257, 258]. Metformin wurde als Mittel zur Abschwächung der schädlichen Folgen des Alterns in Betracht gezogen, vor allem wegen seiner möglichen positiven Auswirkungen auf die Immunseneszenz [259]. Immunseneszenz ist gekennzeichnet durch eine entzündliche Aktivierung von Immunzellen, einen Rückgang ihrer Funktionen und eine verringerte Wirksamkeit der Immunantwort, was zu einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionskrankheiten, einer verminderten Reaktion auf Impfungen und einer erhöhten Anfälligkeit für Metaflammation und altersbedingte Entzündungskrankheiten führt [258]. Interessanterweise verringerte die Behandlung mit Metformin die Häufigkeit pro-inflammatorischer B-Zellen-Untergruppen im Blut älterer Patient\*innen (>70 Jahre) mit DM2 und erhöhte die Influenza-impfstoffspezifischen Antikörperreaktionen nach der Impfung [169]. Diese Ergebnisse standen im Zusammenhang mit einer verringerten Expression von Markern des seneszenzassoziierten sekretorischen Phänotyps und einer verringerten Sekretion von pathogenen autoimmunen IgG-Antikörpern durch B-Zellen, die von diesen Patient\*innen isoliert wurden, was einen Anti-Aging-Effekt von Metformin auf die humorale Immunität belegt [260]. Die Fibrose der Eierstöcke wird mit dem Altern und einem erhöhten Risiko für Eierstockkrebs in Verbindung gebracht, vor allem bei Patient\*innen mit DM2 [261]. In einer Studie, in der Einzelzell-RNA-Sequenzierung eingesetzt wurde, modulierte die Metformin-Behandlung die Zusammensetzung der Fibroblasten- und Immunzellen der Eierstöcke und verhinderte die altersbedingte Fibrose der Eierstöcke bei weiblichen Mäusen [262]. Der zugrunde liegende Mechanismus ist nach wie vor unklar, und seine Übertragung auf den Menschen ist noch fraglich. In dieser Studie wurde jedoch eine einzigartige

Makrophagen-Untergruppe identifiziert, die durch Metformin im Eierstock induziert wird und zur Beseitigung von Fibroblasten, die einen seneszenzassoziierten sekretorischen Phänotyp produzieren, und zur parallelen Expansion von Myofibroblasten, die am Umbau der extrazellulären Matrix beteiligt sind, beitragen könnte, was zur Aufrechterhaltung der Gewebemöostase während der Alterung führt [262]. Die Erwägung, Metformin als potenzielle entzündungshemmende therapeutische Strategie einzusetzen, wurde auch durch den Nachweis gestärkt, dass Metformin altersbedingte T-Zell-Entzündungen lindern kann, indem es das altersbedingte Auftreten eines T-Helfer 17-Entzündungsprofils durch Aufrechterhaltung der CD4+ T-Zell-Autophagie und der mitochondrialen OXPHOS verhindert [263].

## **Klinische Studien zur Bewertung der Auswirkungen von Metformin auf Alterung, Gesundheit und Lebenserwartung**

Die als Crossover-Studie konzipierte **Metformin in Longevity Study (MILES)** ist eine doppelblinde Studie, bei der die Probanden als ihre eigene Placebo-Kontrollgruppe fungieren [264]. MILES begann im Oktober 2014 und wurde an 14 älteren Teilnehmern mit gestörter Glukosetoleranz durchgeführt, um festzustellen, ob Metformin (1700 mg/Tag) nach einer sechswöchigen Behandlung physiologische und transkriptomische Veränderungen im Muskel- und Fettgewebe hervorrufen kann, und um festzustellen, welche Signalwege von Metformin beeinflusst werden, und um mögliche molekulare Zwischenstufen zu umreißen, die am Wirkmechanismus von Metformin beteiligt sind [264]. Die Daten aus der MILES-Studie deuten darauf hin, dass Metformin mehrere mit dem Altern assoziierte Stoffwechselwege, die Kollagen-Trimerisierung und den Umbau der extrazellulären Matrix (ECM), das Fettgewebe und den Fettsäurestoffwechsel, die Mitochondrien und die MutS-Gene MSH2 und MSH3, die eine Rolle bei der DNA-Fehlanpassungsreparatur spielen, einem Prozess, der mit dem Alter abnimmt, verändert [264]. Eine Dysregulation des Fettgewebestoffwechsels wurde bereits früher mit einem altersbedingten Prozess der ECM-Ablagerung in Verbindung gebracht, und die Auswirkungen von Metformin auf den Fettsäurestoffwechsel ähneln denen anderer Interventionen, die die Lebensspanne in Modellorganismen erhöhen [242, 265, 266]. Die Ergebnisse der MILES-Studie unterstreichen, dass Metformin auf mehrere Mechanismen der Alterung abzielt. Es ist jedoch wichtig, einen abschließenden Satz von Kulkarni et al. zu beachten: "Diese Ergebnisse müssen noch in anderen Geweben und Studiendesigns validiert werden und erlauben es uns noch nicht, den primären Wirkort von Metformin zu identifizieren, der dann die beobachteten Veränderungen in der Genexpression auslösen

könnte"[264]. Bei der TAME-Studie (Targeting Aging with Metformin) handelt es sich um eine doppelblinde, placebokontrollierte, multizentrische Studie, an der 14 Forschungszentren in den USA beteiligt sein sollen. Vorbehaltlich der Finanzierung und Genehmigung sollen 3000 ethnisch gemischte, nicht diabetische Probanden im Alter von 65 bis 80 Jahren aufgenommen werden [267, 268]. Die Ziele von TAME sind:

1. Klinische Ergebnisse, gemessen am Auftreten neuer altersbedingter chronischer Krankheiten
2. funktionelle Ergebnisse wie Veränderungen der Mobilität, gemessen an der Gehgeschwindigkeit über 10 Meter [269], sowie Messungen der kognitiven Beeinträchtigung
3. Biomarker des Alterns wie Entzündungen und Seneszenz [268]

Der Studienplan für TAME sieht vor, dass die Patient\*innen 6 Jahre lang eine tägliche Dosis Metformin (1500 mg) erhalten, mit einer geschätzten Nachbeobachtungszeit von mehr als 3,5 Jahren [268]. Es wird argumentiert, dass die Ergebnisse der TAME-Studie mehr Aufschluss darüber geben werden, ob Metformin das Risiko der Entwicklung altersabhängiger Krankheiten - mit Ausnahme von Diabetes - bei Nicht-Diabetikern senkt, und dass sie möglicherweise ein Instrument bieten, das auf das Altern selbst und nicht auf einzelne damit verbundene Krankheiten abzielt [267, 268]. Wie sowohl in dieser Übersichtsarbeit als auch von anderen geäußert, bestehen jedoch Bedenken hinsichtlich der altersabhängigen Wirkungen von Metformin, und bei älteren Organismen, einschließlich *C. elegans*, Nagetieren und Menschen, sind die Wirkungen von Metformin variabel und können nachteilig sein [270]. Es lohnt sich auch, eine abschließende Erklärung und Warnung von Pyrkov et al. aus ihrer Datenanalyse von mehr als 500.000 Menschen aus Russland, dem Vereinigten Königreich und den USA zu zitieren, um das biologische Alter und das Potenzial zur Verlängerung der Lebensspanne zu bewerten: Die in dieser Arbeit aufgedeckten Ergebnisse legen nahe, dass die offensichtliche Grenze der menschlichen Lebensspanne wahrscheinlich nicht durch Therapien verbessert werden kann, die sich auf spezifische chronische Krankheiten oder das Gebrechlichkeitssyndrom konzentrieren [271].

Derzeit laufen eine Reihe weiterer klinischer Studien, die sich mit einigen der in dieser Übersichtsarbeit genannten Bedenken befassen: „Does Insulin Sensitivity Impact the Potential of Metformin to Slow Aging“, die im April 2024 abgeschlossen werden soll. Es handelt sich dabei um eine randomisierte, placebokontrollierte, doppelt verblindete Phase-3-Studie mit 148 Teilnehmern, deren Ziel es ist, die Auswirkungen von Metformin auf die Insulinempfindlichkeit und die Mitochondrienfunktion bei insulinempfindlichen und insulinresistenten

Patient\*innen zu vergleichen. „Metformin for Preventing Frailty in High-risk Older Adults“ ist eine Phase-2-Studie mit 120 Probanden im Alter von 65 bis 90 Jahren mit Prädiabetes, die mit 1000 mg Metformin zweimal täglich im Vergleich zu Placebo behandelt werden, und soll im Oktober 2024 abgeschlossen werden. Die Gebrechlichkeit wird anhand einer standardisierten Bewertung ermittelt [272]. Eine bereits laufende Phase-1-Studie mit dem Titel "Role of Metformin on Muscle Health of Older Adults" zielt darauf ab festzustellen, ob die Metformin-Behandlung älterer Menschen die negativen Auswirkungen von Bettruhe auf Lipidakkumulation, Entzündung, Insulinresistenz und Muskelabbau ausgleicht. Insgesamt werden die Ergebnisse dieser Studien wertvoll sein, um den Nutzen von Metformin für die Gesundheit besser einschätzen zu können, und sie werden auch zur Feinabstimmung künftiger größerer Studien wie TAME beitragen [273].

### 3.6 Mikrobiom

In den letzten Jahren wurde dem Wechselspiel zwischen Metformin und dem Darm-Mikrobiom vermehrt Aufmerksamkeit zuteil [118]. Metagenomik-Studien deuten darauf hin, dass Metformin Veränderungen sowohl in der Gesamtstruktur als auch den Funktionen der mikrobiellen Gemeinschaften des Darms hervorruft. Dies scheint zu einer Verbesserung der mit Diabetes Mellitus Typ 2 verbundenen Dysbiose und in weiterer Folge des Wertsstoffwechsels zu führen [274, 82, 275, 276, 277, 278, 142]. Jedoch scheint es, dass die Wirkungen von Metformin auf das Darmmikrobiom abhängig von der ethnischen Zugehörigkeit eine hohe Variabilität aufweist [82].

Eine Beeinflussung des Mikrobioms durch Metformin konnte auch bei gesunden Menschen nachgewiesen werden. Dadurch konnte das Konzept bestätigt werden, dass die Interaktionen zwischen Metformin und dem Darmmikrobiom unabhängig von der durch DM2 induzierten Dysbiose oder den vorherrschenden Glukosespiegel im Blut ist [279, 280].

Die mikrobielle Signatur des Darms nach einer Metformin-Behandlung ist sowohl bei gesunden normoglykämischen Menschen als auch bei Menschen mit DM2 mit erhöhten Spiegeln von *Escherichia* spp. und verringerten Spiegeln von *Intestinibacter* spp. verbunden [279, 275, 278].

**Die meisten klinischen Belege für die Wirkung von Metformin** auf das Darmmikrobiom stammen aus beobachteten Veränderungen des fäkalen Mikrobioms, welches sich hauptsächlich auf den Dickdarm bezieht, wo auch die höchsten Konzentrationen von Metformin festgestellt wurden [281, 282, 42].

Metformin reichert sich jedoch auch im Dünndarm an und kann dort hohe Konzentrationen erreichen [283, 281]. Bei Nagetieren konnten spezifische Veränderungen der jeweiligen lokalen Zusammensetzung des Mikrobioms im Duodenum, Jejunum und Ileum festgestellt werden [284, 285]. Diese Veränderungen gehen mit einer alterierten Expression von Genen einher, die mit der intestinalen Glukose- und Fettsäureaufnahme zusammenhängen und damit zu den metabolischen Wirkungen von Metformin beitragen [284, 285, 286].

Die besondere Rolle des Mikrobioms in den unterschiedlichen Regionen des Magen-Darm-Traktes wurde durch die Transplantation von mit Metformin behandelten Mikrobiomen in den oberen Dünndarm nachgewiesen, die zur Wiederherstellung der Glukosensensor-Mechanismen führte [284]. Weiters spricht die glukosesenkende Wirkung einer Metformin-Formulierung mit verzögerter Freisetzung, die an den distalen Dünndarm abgegeben wurde, ebenfalls für eine kompartimentierte, Metforminwirkung im Darm beim Menschen [287].

Der Einfluss von Metformin auf die Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms kann sich aus den direkten Auswirkungen auf das Bakterienwachstum und die daraus folgenden Veränderungen des Darmmilieus ergeben.

Die Behandlung mit Metformin verändert die Zusammensetzung der Darmmikrobiome, was von der AMPK in Enterozyten abhängt und wahrscheinlich auf die Modulation der Expression antimikrobieller Peptide, einschließlich des regenerierenden Inselproteins  $3\gamma$  [288], zurückzuführen ist.

Darüber hinaus gibt es zunehmend Hinweise darauf, dass Metformin den Schutz der Barrierefunktion der Darmschleimhaut verbessert, indem es die relative Häufigkeit von *Akkermansia muciniphila* und die Anzahl der Becherzellen erhöht, was zu einer Verdickung der Schleimschicht führt [289, 290, 291, 292]. Darüber hinaus fördert Metformin auch die Expression des Tight-Junction-Proteins *Occludin* [289, 292, 291, 293], welches die Translokation von Lipopolysaccharide und die Entzündung des Dickdarms reduziert und die Darmpermeabilität verbessert. Anhand von In-vitro-Darmmikrobiom-Kulturmodellen wurde gezeigt, dass Metformin die Wachstumskurven und Zusammensetzungsprofile des Darmmikrobiom direkt verändert [278, 84, 294].

Durch die Kombination von Daten aus Metatranskriptomik- und Metaproteomik-Analysen wurde festgestellt, dass die Wechselwirkungen zwischen Metformin und Mikrobiomen mit Veränderungen der funktionellen Aktivitäten des Mikrobioms einhergehen, die mit der Veränderung mehrerer Stoffwechselwege verbunden sind [294, 84, 275, 277, 278]. Dazu zählen unter anderem die Produktion kurzkettiger Fettsäuren (SCFAs) und der Glukosestoffwechsels (Glykolyse, aerobe Oxidation, Pentosephosphatweg).

Durch die selektive Veränderung des Stoffwechselprofils des menschlichen Mikrobioms verschafft Metformin gewissen Bakterienpopulationen einen Wettbewerbsvorteil und fördert diese, darunter *Escherichia coli* und *A. muciniphila* [82, 274, 277, 278, 84, 295].

### **Beziehung zwischen Metformin und dem Mikrobiom**

Frühere Studien haben gezeigt, dass Metformin die Folat- und Methioninproduktion im Mikrobiom des Fadenwurms *C. elegans* beeinträchtigt. Dies führte neben einem veränderten Methionin-Stoffwechsel des Wirts zu einer Verlängerung der Lebenserwartung [168].

In einer weiteren Studie konnte ein bakterieller Signalweg identifiziert werden, welcher Metformin- und Nährstoffsignale integriert und damit die Metabolitenproduktion im Mikrobiom verändert [296].

Zwischen den vorherrschenden Mikrobiomen von mit Metformin behandelten Patient\*innen mit DM2 konnte ein konkurrierendes Verhalten hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Verwertung und Produktion von SCFAs und Aminosäuren gezeigt werden [295]. In ähnlicher Weise wurde der Stoffwechsel verzweigtkettiger Aminosäuren unter Verwendung globaler metabolischer Ansätze mit Veränderungen im Mikrobiom und der hypoglykämischen Wirkung der Metforminverabreichung bei gesunden Personen in Zusammenhang gebracht [297].

Die Wechselwirkung zwischen Metformin und dem Stoffwechsel des Mikrobioms wurde durch den kausalen Zusammenhang zwischen der langfristigen Aufrechterhaltung der glykämischen Reaktion auf die Metformin-Monotherapie bei DM2 und der unterschiedlichen Zusammensetzung der jeweiligen Mikrobiomen, die durch einzigartige mikrobielle Stoffwechselwege charakterisiert ist, weiter unterstrichen [298]. So könnten zum Beispiel Stoffwechselwege, die an der Biosynthese von Thiamin beteiligt sind, an der Sicherstellung der langfristigen glykämischen Reaktion auf eine Metformin-Monotherapie beteiligt sein [298]. Eine weitere gut belegte Interaktion zwischen Metformin und dem Mikrobiom ist die Verschiebung hin zu SCFA-produzierenden Bakterien und erhöhten Konzentrationen von Buty-

rat und Propionat im Stuhl bei Patient\*innen mit DM2 und Adipositas [274, 82, 275, 278]. SCFAs haben über mehrere Wege positive Auswirkungen auf den Glukosestoffwechsel, einschließlich der Stimulierung der Freisetzung des Inkretinhormons GLP1 und des Peptids YY aus enteroendokrinen L-Zellen und der Modulation der intestinalen Glukoneogenese, was das Glukosemanagement verbessert [299, 300].

Die Einnahme von Metformin wird auch mit einer Veränderung des Gallensäurepools in Verbindung gebracht, indem die Häufigkeit von *Bacteroides fragilis* und dessen *Gallensalzhydrolaseaktivität* verringert wird [121]. Diese Wirkung geht mit erhöhten Spiegeln der *Glycoursodeoxycholsäure* einher, die die Homöostase des Glukosestoffwechsels durch Hemmung der intestinalen *Farnesoid-X-Rezeptor-Signalgebung* über einen AMPK-unabhängigen Mechanismus verbessert, der mit erhöhten GLP1-Spiegeln verbunden ist [286, 301]. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der therapeutischen Wirkung von Metformin-induzierten selektiven Veränderungen der Zusammensetzung des Mikrobioms und des Stoffwechsels, die den Wirtsstoffwechsel verbessern [299, 82, 278, 302].

Dysbiose wird mit verschiedenen Krankheiten in Verbindung gebracht (Krebs und kardiovaskulären, metabolischen und entzündlichen Darmerkrankungen). Daher könnten therapeutische Strategien entwickelt werden, die auf einer Metformin-induzierten Modulation des Mikrobioms und/oder der Metabolitenproduktion beruhen. Metformin senkt die zirkulierenden Spiegel von *Trimethylamin-N-Oxid*, einem aus Cholin synthetisierten Co-Metaboliten des Mikrobioms, der bei Mäusen, welche mit einer cholinreichen Diät gefüttert wurden, mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen in Verbindung gebracht wird [303, 304]. Darüber hinaus korreliert die Behandlung mit Metformin mit der Umgestaltung des Mikrobioms, wobei die relative Häufigkeit von *Bifidobacterium* und *Akkermansia* zunimmt und die Häufigkeit von CutC (das für ein Protein kodiert, das am Cholin-Stoffwechsel in Bakterien beteiligt ist) abnimmt [304].

Viele der vorliegenden Daten legen nahe, dass insbesondere synergistische Effekte zwischen Metformin und dem Mikrobiom eine positive therapeutische Wirkungen erzielen. So führt die Zugabe von Modulatoren des Mikrobioms (z.B. Probiotika oder Präbiotika) unter laufender Metformintherapie in Tier- und Humanstudien zu verbesserten Ergebnissen beim Diabetes Mellitus Typ 2 [305].

Die vom Mikrobiom produzierten Metaboliten können auch die Wirksamkeit der Metforminbehandlung beeinflussen und zur interindividuellen Variabilität beim Ansprechen auf das Medikament beitragen. So wurde beispielsweise bei der metabolomischen Analyse des

Plasmas von Personen, die mit Metformin behandelt wurden und jeweils einen hohen oder niedrigen Blutzuckerspiegel aufwiesen ein mikrobieller Metabolit (*Imidazolpropionat*) als negativer Regulator der Metforminwirkung identifiziert [306].

Imidazolpropionat verringerte die akute glukosesenkende Wirkung von Metformin bei Mäusen, die mit einer westlichen Diät gefüttert wurden, indem es über einen p38 $\gamma$ -abhängigen Mechanismus eine Hemmung der AMPK-Signalgebung in der Leber bewirkte [306]. Interessanterweise verhinderte die Hemmung von p38 $\gamma$  die hemmende Wirkung von Imidazolpropionat auf die akute Metforminwirkung, was auf potenzielle therapeutische Möglichkeiten bei Patient\*innen mit DM2 hinweist, die nicht vollständig auf Metformin ansprechen [306].

### **Metformin-Unverträglichkeit**

Das Mikrobiom wird zunehmend als potenzieller Vermittler der unerwünschten gastrointestinalen Wirkungen von Metformin anerkannt [307]. Prävalente Nebenwirkungen nach Metformineinnahme wurden auf Gase (wie CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>S) zurückgeführt, die vom Mikrobiom offenbar durch Metformin-induzierte metabolische Modellierung von *Escherichia* spp. und *A. muciniphila* produziert werden [279, 82, 295].

In einer Studie, in der das Profil von Mikrobiomen bei metformintoleranten und metforminintoleranten Patient\*innen mit Diabetes Mellitus Typ 2 verglichen wurde, wurde festgestellt, dass eine Verschiebung in der Zusammensetzung des Mikrobioms bei Einleitung von Metformin für die Medikamentenunverträglichkeit verantwortlich ist [308]. Die Verwendung von Mikrobiom-Modulatoren, einschließlich probiotischer, präbiotischer und symbiotischer Nahrungsergänzungsmittel, könnte ein praktikabler Ansatz sein, um eine bessere Verträglichkeit von Metformin zu erreichen [305].

Insgesamt sind die durch Metformin verursachten Veränderungen im Mikrobiom mit der damit einhergehenden Verschiebung der bakteriellen Metabolitenproduktion sowohl Grund für die therapeutische Wirksamkeit als auch für gastrointestinalen Nebenwirkungen [280, 82, 294, 278, 296, 309].

## 3.7 Gewichtsregulation

In den Zulassungsstudien wurden erstmalig Auswirkungen von Metformin auf das Gewicht gezeigt [310]. Die *Metformin Study Group* zeigte eine statistisch signifikante Abnahme von 3,8 kg in der Metformin-Gruppe im Vergleich zu keiner signifikanten Veränderung in der Sulfonylharnstoff-Gruppe in Woche 29 [94]. Die *United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)* zeigte einen gewichtsneutralen Status von Metformin im Vergleich zu Glibenclamid, einem Sulfonylharnstoff, der die Gewichtszunahme stimulierte [20]. Kahn et al. zeigten, dass es bei mit Metformin behandelte Diabetiker über einen Zeitraum von 4 Jahren zu einen Gewichtsverlust von 2,7 kg kam, während Rosiglitazon und Glyburid eine Gewichtszunahme von 4,8 kg bzw. 1,6 kg zeigten [98].

Die größte Studie, die den Gewichtsvorteil von Metformin belegt, ist die *Diabetes Prevention Study (DPP)*. Die DPP untersuchte die präventiven Auswirkungen von Metformin auf Stoffwechselfparameter bei Personen, die ein hohes Risiko für DM2 haben. Es zeigte sich, dass die Einführung von Metformin die Inzidenz von Diabetes bei diesen HochrisikoPatient\*innen über einen Zeitraum von drei Jahren um 31% verringerte. In Folgestudien wurden die Auswirkungen auf Gewicht und Taillenumfang untersucht. Patient\*innen, die nach dem Zufallsprinzip auf Metformin gesetzt wurden, verloren im Durchschnitt 2,1 kg an Gewicht. Das Ausmaß der Gewichtsveränderung stand in engem Zusammenhang mit der Therapietreue, wobei Patient\*innen mit hoher Therapietreue im Durchschnitt eine Verringerung der Körpermasse um 3,5% erfuhren und Patient\*innen mit geringer Therapietreue in den 2 Jahren der Nachbeobachtung einen neutralen Gewichtsstatus aufwiesen [311]. Der Gewichtsverlust hielt in der Gruppe mit hoher Adhärenz auch in der erweiterten Nachbeobachtungszeit von 10 Jahren an. Auch der Taillenumfang wurde beeinflusst, wobei der Umfang mit dem Grad der Adhärenz zusammenhing [311].

### Prävention

Metformin wurde bei verschiedenen Krankheiten als Mittel zur Verhinderung einer Gewichtszunahme untersucht. Bei der Behandlung von Psychosen und Stimmungsstörungen kommt es häufig zu einer medikamentenbedingten Gewichtszunahme. Besonders atypische Antipsychotika führen häufig zu metabolischen Komplikationen wie Gewichtszunahme und Hyperglykämie. In mehreren Studien wurde untersucht, ob die gleichzeitige Gabe von Metformin die mit Antipsychotika einhergehende Gewichtszunahme verhindert. Eine aktuelle

## Regulierung von Fettleibigkeit, Appetit und Gewichtsverlust durch Metformin

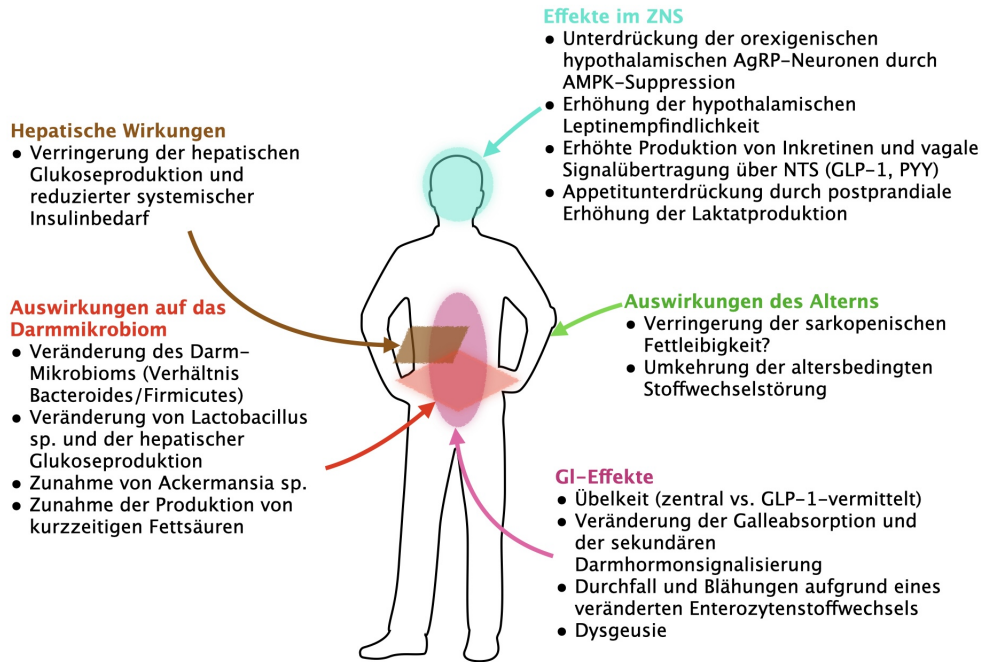


Abbildung 3.5: **Mechanismen, durch die Metformin Fettleibigkeit, Appetit und Gewichtsverlust beeinflusst.** ZNS: Zentrales Nervensystem, AgRP: Agouti-verwandtes Peptid, AMPK: AMP-aktivierte Proteinkinase, NTS: Nucleus tractus solitarius, SCFA: kurzkettige Fettsäuren, GLP-1: glucagonähnliches Peptid-1, PYY: Peptid YY. Abbildung nach [312]

Meta-Analyse, die 12 Studien mit insgesamt 743 Patient\*innen diese Fragestellung untersuchte, zeigte eine signifikante Verringerung des BMI und der Insulinresistenz, nicht aber des Nüchternblutzuckers [313].

Bei der Behandlung der fortgeschrittenen DM2 wird Insulin eingesetzt, das sowohl aufgrund seiner anabolen Wirkung auf die Lipidakkumulation als auch aufgrund der kompensatorischen Nahrungsaufnahme zur Vermeidung von Hypoglykämieepisoden pro-obesogen wirkt [314]. In der HOME-Studie hat sich gezeigt, dass Metformin, das über den Beginn der Insulintherapie hinaus weiter verabreicht wird, eine insulininduzierte Gewichtszunahme verhindert [141].

### Appetit

Lee et al. führten eine Appetitanalyse bei Diabetikern durch und stellten fest, dass Metformin eine dosisabhängige Wirkung auf die aufgenommene Nahrungsmenge hat [315]. In dersel-

ben Studie führte eine 24-wöchige doppelblinde Behandlung mit Metformin bei Diabetikern zu einem Gewichtsverlust von bis zu 8 kg. Auch bei DM2-Patient\*innen, die mit einer Insulinbehandlung begannen, kam es unter Metformin zu einer geringeren Gewichtszunahme, was auf eine geringere Kalorienzufuhr zurückzuführen ist [314, 316]]. Im Gegensatz dazu wurde keine Veränderung des Energieverbrauchs festgestellt.

Die genauen Mechanismen, durch die Metformin den Appetit unterdrückt, werden noch erforscht [312].

Eine These basiert auf der Unterdrückung von Komplex I der Elektronentransportkette und der dadurch angeregten Laktatproduktion [57]. Das daraus resultierende verringerte Atmungspotenzial der Mitochondrien leitet Glukose in die anaerobe Verstoffwechslung um und treibt die Laktatproduktion an, insbesondere postprandial [310, 317]. Die Laktat-vermittelte, milde metabolische Azidose kann daher eine gewisse Metformin-vermittelte Appetitunterdrückung bewirken [318, 319, 320].

Metformin kann den Appetit auch über die Darm-Hirn-Achse beeinflussen. Es hat sich gezeigt, dass Metformin die Sekretion des gewichtsreduzierenden Inkretins *Glucagon like Peptide 1 (GLP-1)* [321, 276] und des anorektischen Hormons *Peptid YY (PYY)* [287] erhöht. Unter Verwendung von Metformin-Formulierungen mit verzögerter Wirkstofffreisetzung fanden Buse *et al.* heraus, dass die glykämischen Wirkungen von Metformin ohne Veränderung der Metforminkonzentration im Serum erzielt werden können, was darauf hindeutet, dass Metformin seine Wirkung auf den Blutzucker durch eine lokale Wirkung im Magen-Darm-Trakt entfaltet [322]. Ein möglicher zusätzlicher Mechanismus, durch den Metformin den Appetit unterdrücken kann, ist die Veränderung der Gallensäureabsorption durch Interaktion mit dem *Farnesoid-X-Rezeptor* [276, 323]. Es wird angenommen, dass die Veränderung der Gallensäuren eine sekundäre Wirkung auf die Sekretion von appetitzügelnden Neuropeptiden wie GLP-1 und Peptid YY hat [324].

Es wurde sowohl über direkte als auch indirekte ZNS-Wirkungen von Metformin berichtet. Es zeigte sich, dass Metformin bei der Aktivierung der intestinalen Afferenzen zum Nucleus Tractus Solitarius (NTS) in einer GLP-1-Rezeptor- und PKA-abhängigen Weise über AMPK eine wichtige Rolle spielt [325]. MRT-Studien haben gezeigt, dass Metformin bei Patient\*innen mit DM2 zerebrale Stoffwechselveränderungen hervorruft, wobei der Stoffwechsel im parahippocampalen Gyrus, im ventromedialen präfrontalen Kortex und im fusiformen Gyrus verringert ist [326]. Dies sind Bereiche, die mit dem semantischen Gedächtnis und der Belohnungsbildung in Verbindung gebracht werden und die möglicher-

weise die Beziehung zwischen Nahrung und Belohnung verändern [327, 328]. Weiters gibt es Hinweise über eine hypothalamische Wirkung von Metformin. Intrazerebroventrikuläre Injektionen von Metformin reduzieren die Nahrungsaufnahme bei Ratten, indem sie die hypothalamische Expression des *orexigenen Peptids Neuropeptid Y (NPY)* vermindern [329]. Intrazerebroventrikulär injiziertes Metformin hat auch gezeigt, dass es die appetitfördernde Funktion von exogenem Ghrelin durch Unterdrückung des mechanistischen Ziels von Rapamycin (mTOR) verhindert [330].

Wirkstoff	Dosis	Gewichtsverlust (Max / Min)
Liraglutid	1,2mg - 1,8mg /Tag	-7,5 — -2,0
Tirzepatid	5mg - 15mg /Tag	-7,0 — -2,3
Semaglutid	0,5mg - 1mg /Woche	-6,8 — -3,7
Dapagliflozin	5mg - 10mg /Tag	-4,9 — -1,6
Ertugliflozin	5mg - 10mg /Tag	-4,2 — -3,0
Canagliflozin	100mg - 300mg /Tag	-3,4 — -1,8
Dulaglutid	0,75mg - 1,5mg /Tag	-3,4 — +0,2
Metformin	500mg - 800mg 3x /Tag	-3,2 — +1,7
Exanatid	5µg /Tag - 2mg /Woche	-2,8 — -1,6
Empagliflozin	10mg - 25mg /Tag	-2,5 — -1,9
Acarbose	200mg 3x/Tag	-0,2

Tabelle 3.1: Zusammenfassung der Gewichtsabnahme für die gängigsten oralen Antidiabetika [331]

### 3.8 Nichtalkoholische Fettleber

Ein hoher Anteil der Menschen mit Diabetes Mellitus Typ 2 hat auch eine Nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH), da beide Krankheiten eng mit Fettleibigkeit verbunden und unabhängige, klassische Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse sind [227]. In präklinischen Studien hat sich gezeigt, dass Metformin die NASH verbessert und die Lipidsynthese in den Hepatozyten verringert, was zu einer Reduzierung der Triglyceridansammlung führt [332].

In klinischen Studien, wenn auch nicht in allen, wurde berichtet, dass Metformin bei der

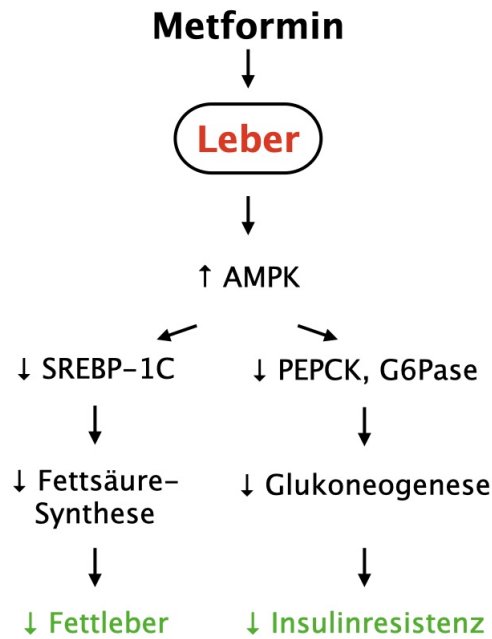


Abbildung 3.6: **Günstige Auswirkungen von Metformin auf die Leber.** AMPK- Adenosin-Monophosphat-aktivierte Proteinkinase; SREBP-1C: Sterol regulatory element-binding protein 1; PEPCCK- Phosphoenolpyruvat-Carboxy-Kinase; G6Pase- Glukose-6-Phosphatase; GLUT4- Glukose-Transporter 4. Abbildung nach [56]

Behandlung von DM2 bei Menschen mit Adipositas das Körpergewicht, die Fettmasse der Gliedmaßen, der Schilddrüse und des Gynäkologen signifikant reduziert und gleichzeitig die Gesamtmagermasse erhöht. Darüber hinaus kann Metformin mehrere Komponenten des metabolischen Syndroms korrigieren, wie z. B. eine gestörte Glukosetoleranz, eine Störung des Fettstoffwechsels und eine Senkung der Alanintransferase-Serumspiegel. Obwohl diese Studien darauf hindeuten, dass Metformin bei der Behandlung von NASH von Vorteil sein könnte, sind Bewegung und Kalorienrestriktion die einzigen zugelassenen Behandlungsmöglichkeiten, die für NASH akzeptabel sind. Nichtsdestotrotz wird Metformin häufig off-label an Patient\*innen mit dieser Krankheit verschrieben, da man davon ausgeht, dass die Aktivierung der AMPK mit einer Vielzahl von positiven Effekten verbunden ist, einschließlich der Verringerung des oxidativen Stresses und der Entzündung der Leber [333]. Es wurden zwar nur wenige kleine klinische Studien mit SGLT2 Inhibitoren und GLP-1 Analoga bei Personen mit NASH durchgeführt, diese jedoch mit einigen vielversprechenden Ergebnissen [334, 335]. Daher sind weitere Studien erforderlich, um ihre tatsächliche Rolle bei diesem häufigen Gesundheitsproblem der modernen Gesellschaft zu beurteilen.

## 4 Diskussion

Metformin ist seit vielen Jahren der Eckpfeiler der Therapie bei der Behandlung von Diabetes Mellitus Typ 2. Mit dem Aufkommen neuerer Moleküle als orale Antihyperglykämie-Therapien haben wir jetzt mehr therapeutische Optionen; dennoch scheint Metformin mit seinen pleiotropen Wirkungen und absehbaren Nebenwirkungen immer noch das günstigste Wirkungs-/Nebenwirkungsprofil zu haben, zudem ist es sehr kostengünstig. Die insulin sparende Wirkung von Metformin macht es einzigartig, zusammen mit seinen verschiedenen intrazellulären Mechanismen. Diese sind jedoch nach wie vor unvollständig verstanden. Die jüngsten Fortschritte in Bezug auf die glukoregulatorischen Wirkmechanismen von Metformin haben neue potenzielle Faktoren identifiziert, die die Komplexität und Verwirrung erhöhen. Nicht zuletzt die Zunahme an Publikationen zu Metformin (siehe Abbildung 4.1.) zeigen deutlich das gestiegene Interesse an dem (alten) Präparat.

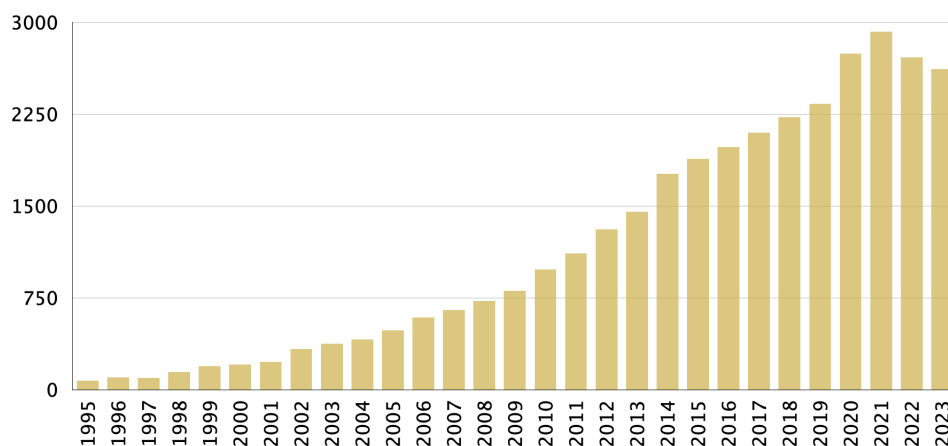


Abbildung 4.1: **Anzahl an Publikationen, welche Metformin zum Thema haben.** Daten stammen von PubMed und wurden am 29. April 2024 mit folgender Suchabfrage ausgelesen: “metformin OR dimethylbiguanidine OR dimethylguanilguanidine OR glucophage”

Darüber hinaus muss geklärt werden, ob diese bioenergetischen Effekte die einzige Folge der hemmenden Wirkung von Metformin auf Komplex I oder auf andere mitochondriale Ziele sind. Die Betrachtung des Lysosoms als zusätzliches Organellen-Ziel liefert zudem Erkenntnisse über neue Mechanismen der Metformin-Wirkung über den AMPK-Signalweg.

Obwohl lange Zeit davon ausgegangen wurde, dass die antihyperglykämischen Wirkungen von Metformin ausschließlich auf seine Wirkung in der Leber zurückzuführen sind, gibt es inzwischen deutliche Hinweise darauf, dass auch extrahepatische Wirkorte, insbesondere der Darm und sein Mikrobiom, an den vielfältigen klinischen Vorteilen beteiligt sind.

Das Medikament hat sich bei einer Vielzahl von Erkrankungen wie Diabetes, Fettleibigkeit, NASH, Krebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, neurologischen Erkrankungen und vielen anderen als vorteilhaft erwiesen, aber die meisten Nachweise beruhen auf In-vitro- und In-vivo-Studien mit einer supra-therapeutischen Konzentration des Medikaments. Vorläufige Beweise für die Wirkung von Metformin wurden in präklinischen Studien und Beobachtungsstudien gesammelt, aber das Medikament wird jetzt auch in verschiedenen grösseren klinischen Studien erprobt, um sein Potenzial bei chronischen menschlichen Krankheiten zu beweisen. Die derzeitigen Erkenntnisse lassen darauf hoffen, dass Metformin in Zukunft häufiger bei verschiedenen Erkrankungen eingesetzt wird. Dennoch sind weitere Forschungsarbeiten und große klinische Studien an unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen erforderlich, um die Fakten zu ermitteln und Metformin zu einem etablierten Medikament für verschiedene Krankheiten zu machen.

## **Umweltbedenken**

Metformin wird nicht verstoffwechselt und wird vom menschlichen Körper unverändert ausgeschieden. Daher werden etwa 70% der therapeutischen Dosis über den Urin und die Fäkalien ausgeschieden und in die Abwässer eingeleitet. Die Anreicherung von Metformin in der Umwelt wird daher aufgrund der großen Zahl von Menschen, die Metformin einnehmen, und der täglichen Dosis (0,5-2,5 g) als beträchtlich eingeschätzt. Aufgrund der großen Mengen an Metformin, die unverändert mit dem Urin ausgeschieden werden, kann Metformin als ein bedeutender neuer Wasserschadstoff angesehen werden. Das Vorhandensein von Metformin in den Zuflüssen von Kläranlagen wurde als Indikator für pharmakologische Verunreinigungen und in abwasserbasierten epidemiologischen Studien zur Bewertung des Metforminkonsums in der Bevölkerung verwendet [336, 337]. Aufgrund seiner geringen Entfernungsrates in den meisten konventionellen Kläranlagen wird Metformin durchweg in Konzentrationen von Nanogramm bis Mikrogramm pro Liter im Abwasser von Kläranlagen, in Oberflächengewässern und sogar im Trinkwasser nachgewiesen [336, 338]. Das weit verbreitete Vorkommen dieser Verbindung und ihrer zahlreichen organischen Umwandlungsprodukte, die durch mikrobiellen Abbau und Photolyse entstehen (z. B. Guanylarnstoff und

C<sub>2</sub>N<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O), in der aquatischen Umwelt stellt eine globale Bedrohung für die Umweltgesundheit dar [337, 339, 340]. Die Bioakkumulation dieser Schadstoffe in Wassertieren und -pflanzen wurde ausführlich dokumentiert [341, 339]. Ökotoxikologische Studien haben gezeigt, dass sie schädliche Auswirkungen auf aquatische Biota haben und Entwicklungsstörungen, Störungen des Hormonsystems und Veränderungen der Fortpflanzung verursachen [337, 342, 343, 344, 345]. Die biologische Sanierung von mit Metformin kontaminierten Umgebungen mit Hilfe von Mikrobemischungen hat zu ermutigenden Ergebnissen geführt, wobei Metformin und seine Umwandlungsprodukte vollständig abgebaut wurden [346]. In Risikobewertungen für die menschliche Gesundheit wurde das Risiko einer lebenslangen Exposition gegenüber Metformin über das Trinkwasser jedoch als vernachlässigbar gering eingestuft [337, 339]. Angesichts des erwarteten weltweiten Anstiegs des Verbrauchs und der Wasserverschmutzung durch Metformin und seine Umwandlungsprodukte dürfen Untersuchungen über die negativen langfristigen Umweltrisiken nicht außer Acht gelassen werden [110].

Zusammenfassend kann man Metformin als altes, aber nach wie vor enorm wichtiges Antidiabetikum sehen, das in den letzten Jahren noch in zusätzlichen Anwendungsgebieten erforscht wird, die für die gesamtgesellschaftliche Gesundheit hochrelevant sind, es bleibt also spannend.

# Literaturverzeichnis

- [1] Prof. Dr. Otto Wilhelm Thomé. Flora von deutschland, oesterreich und der schweiz, 1885.
- [2] CJ Bailey and C Day. Metformin: its botanical background. *Practical Diabetes International*, 21(3):115–117, 2004.
- [3] Nicholas Culpeper. *Culpeper's complete herbal with nearly four hundred medicines, made from English herbs, physically applied to the cure of all disorders incident to man; with rules for compounding them: also, directions for making syrups, ointments, c.* Halifax, Milner and Sowerby, 1852. <https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/104594>.
- [4] John Hill. *The vegetable system : or, a series of experiments, and observations tending to explain the internal structure, and the life of plants; their growth, and propagation; the number, proportion, and desposition of their constituent parts; with the true course of their juices; the formation of the embryo, the construction of the seed, and the encrease from that state to perfection*, volume v. I. London, Printed at the expence of the author, and sold by R. Baldwin, 1759-1763, 1759. <https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/124906>.
- [5] Pasik C. Diabetes and the biguanides: the mystery of each. *Glucophage: serving diabetology for 40 years. Groupe Lipha, Lyon*, page 76, 1997.
- [6] Chigusa Watanabe. Studies in the metabolism changes induced by administration of guanidine bases i. influence of injected guanidine hydrochloride upon blood sugar content. *Journal of Biological Chemistry*, 33:253–265, 1918.
- [7] E. Frank, M. Nothmann, and A. Wagner. über synthetisch dargestellte körper mit insulinartiger wirkung auf den normalen und diabetischen organismus. *Klinische Wochenschrift*, 5(45):2100–2107, 1926.
- [8] CHARLES E. BRAUN and BERNARD J. LUDWIG. Guanidine structure and hypoglycemia: Some sulfur-containing diguanidines. *The Journal of Organic Chemistry*, 03(1):16–25, 1938.
- [9] Clifford J Bailey. Metformin: historical overview. *Diabetologia*, 60(9):1566–1576, Sep 2017.
- [10] Helmut Müller and Helmuth Reinwein. Zur pharmakologie des galegins. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 125(3):212–228, 1927.
- [11] I M Rabinowitch. Observations on the use of synthalin in the treatment of diabetes mellitus. *Can Med Assoc J*, 17(8):901–904, Aug 1927.

- [12] Emil Alphonse Werner and James Bell. Ccxiv.—the preparation of methylguanidine, and of bb-dimethylguanidine by the interaction of dicyanodiamide, and methylammonium and dimethylammonium chlorides respectively. *J. Chem. Soc., Trans.*, 121:1790–1794, 1922.
- [13] Erich Hesse and Gert Taubmann. Die wirkung des biguanids und seiner derivate auf den zuckerstoffwechsel. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 142(5):290–308, 1929.
- [14] Karl Heinrich Slotta and Rudolf Tschesche. Über biguanide, ii.: Die blutzucker-senkende wirkung der biguanide. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 62:1398–1405, 1929.
- [15] F H S CURD, D G DAVEY, and F L ROSE. 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*, 39:208–216, Dec 1945.
- [16] K K CHEN and R C ANDERSON. The toxicity and general pharmacology of n1-p-chlorophenyl-n5-isopropyl biguanide. *J Pharmacol Exp Ther*, 91(2):157–160, Oct 1947.
- [17] E Y GARCIA. Flumamine, a new synthetic analgesic and anti-flu drug. *J Philipp Med Assoc*, 26(7):287–293, Jul 1950.
- [18] M Nattrass and K G Alberti. Biguanides. *Diabetologia*, 14(2):71–74, Feb 1978.
- [19] 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). uk prospective diabetes study (ukpds) group. *Lancet*, 352(9131):854–865, Sep 1998.
- [20] Rury R Holman, Sanjoy K Paul, M Angelyn Bethel, David R Matthews, and H Andrew W Neil. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 359(15):1577–1589, Oct 2008.
- [21] Seymour L. Shapiro, Vincent A. Parrino, and Louis Freedman. Hypoglycemic agents. iii.1—3 n1-alkyl- and aralkylbiguanides. *Journal of the American Chemical Society*, 81(14):3728–3736, 07 1959.
- [22] R Beckmann. Biguanide (experimenteller teil). *Oral wirksame Antidiabetika*, 29:439–596, 1971.
- [23] P RAMBERT, J CANIVET, J QUICHAUD, and B SPITZ. [treatment of diabetes mellitus with n,n-dimethyl-biguanide. experience in 177 cases]. *Sem Hop*, 37:247–254, Jan 1961.
- [24] H MEHNERT and W SEITZ. [further results of diabetes therapy with blood sugar lowering biguanides]. *Munch Med Wochenschr*, 100(47):1849–1851, Nov 1958.
- [25] W J Butterfield. The effects of phenformin on peripheral glucose utilization and insulin action in obesity and diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*, 148(3):724–733, Mar 1968.

- [26] G Schäfer. Biguanides. a review of history, pharmacodynamics and therapy. *Diabete Metab*, 9(2):148–163, May-Jun 1983.
- [27] R S WALKER and A L LINTON. Phenethylbiguanide: a dangerous side-effect. *Br Med J*, 2(5158):1005–1006, Nov 1959.
- [28] D Luft, R M Schmülling, and M Eggstein. Lactic acidosis in biguanide-treated diabetics: a review of 330 cases. *Diabetologia*, 14(2):75–87, Feb 1978.
- [29] The university group diabetes program. a study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes. v. evaluation of phenformin therapy. *Diabetes*, 24 Suppl 1:65–184, 1975.
- [30] C J Bailey and M Natrass. Treatment–metformin. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 2(2):455–476, May 1988.
- [31] Jean-Daniel Lalau. Lactic acidosis induced by metformin: incidence, management and prevention. *Drug Saf*, 33(9):727–740, Sep 2010.
- [32] L S Hermann. Metformin: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Diabete Metab*, 5(3):233–245, Sep 1979.
- [33] Gerald M Reaven. Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*, 37(12):1595–1607, 12 1988.
- [34] R A DeFronzo. Lilly lecture 1987. the triumvirate: beta-cell, muscle, liver. a collusion responsible for niddm. *Diabetes*, 37(6):667–687, Jun 1988.
- [35] C J Bailey. Biguanides and niddm. *Diabetes Care*, 15(6):755–772, Jun 1992.
- [36] Traci E LaMoia and Gerald I Shulman. Cellular and molecular mechanisms of metformin action. *Endocr Rev*, 42(1):77–96, Jan 2021.
- [37] G T Tucker, C Casey, P J Phillips, H Connor, J D Ward, and H F Woods. Metformin kinetics in healthy subjects and in patients with diabetes mellitus. *Br J Clin Pharmacol*, 12(2):235–246, Aug 1981.
- [38] M Kennedy, P Chinwah, and D N Wade. A pharmacological method of measuring mouth caecal transit time in man. *Br J Clin Pharmacol*, 8(4):372–373, Oct 1979.
- [39] Garry G Graham, Jeroen Punt, Manit Arora, Richard O Day, Matthew P Doogue, Janna K Duong, Timothy J Furlong, Jerry R Greenfield, Louise C Greenup, Carl M Kirkpatrick, John E Ray, Peter Timmins, and Kenneth M Williams. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*, 50(2):81–98, Feb 2011.
- [40] P H Marathe, Y Wen, J Norton, D S Greene, R H Barbhuiya, and I R Wilding. Effect of altered gastric emptying and gastrointestinal motility on metformin absorption. *Br J Clin Pharmacol*, 50(4):325–332, Oct 2000.
- [41] Anila K Madiraju, Yang Qiu, Rachel J Perry, Yasmeen Rahimi, Xian-Man Zhang, Dongyan Zhang, João-Paulo G Camporez, Gary W Cline, Gina M Butrico, Bruce E Kemp, Gregori Casals, Gregory R Steinberg, Daniel F Vatner, Kitt F Petersen, and Gerald I Shulman. Metformin inhibits gluconeogenesis via a redox-dependent mechanism in vivo. *Nat Med*, 24(9):1384–1394, Sep 2018.

- [42] Lars C Gormsen, Elias Immanuel Sundelin, Jonas Brorson Jensen, Mikkel Holm Vendelbo, Steen Jakobsen, Ole Lajord Munk, Mette Marie Hougaard Christensen, Kim Brøsen, Jørgen Frøkiær, and Niels Jessen. In vivo imaging of human 11c-metformin in peripheral organs: Dosimetry, biodistribution, and kinetic analyses. *J Nucl Med*, 57(12):1920–1926, Dec 2016.
- [43] Bristol-Myers Squibb Company. Glucophage (metformin hydrochloride) tablets, abgerufen am 16.2024, <https://tinyurl.com/j5pa4a62>.
- [44] De-Sheng Wang, Johan W Jonker, Yukio Kato, Hiroyuki Kusuhara, Alfred H Schinkel, and Yuichi Sugiyama. Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J Pharmacol Exp Ther*, 302(2):510–515, Aug 2002.
- [45] Eun Young Kwon, Jae-Yong Chung, Hyo Jin Park, Bo Min Kim, Minsuk Kim, and Ji Ha Choi. Oct3 promoter haplotype is associated with metformin pharmacokinetics in koreans. *Sci Rep*, 8(1):16965, Nov 2018.
- [46] Yan Shu, Steven A Sheardown, Chaline Brown, Ryan P Owen, Shuzhong Zhang, Richard A Castro, Alexandra G Ianculescu, Lin Yue, Joan C Lo, Esteban G Burchard, Claire M Brett, and Kathleen M Giacomini. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (oct1) on metformin action. *J Clin Invest*, 117(5):1422–1431, May 2007.
- [47] M V Tzvetkov, S V Vormfelde, D Balen, I Meineke, T Schmidt, D Sehr, I Sabolić, H Koepsell, and J Brockmöller. The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters oct1, oct2, and oct3 on the renal clearance of metformin. *Clin Pharmacol Ther*, 86(3):299–306, Sep 2009.
- [48] Rachel J Perry, João-Paulo G Camporez, Romy Kursawe, Paul M Titchenell, Dongyan Zhang, Curtis J Perry, Michael J Jurczak, Abulizi Abudukadier, Myoung Sook Han, Xian-Man Zhang, Hai-Bin Ruan, Xiaoyong Yang, Sonia Caprio, Susan M Kaech, Hei Sook Sul, Morris J Birnbaum, Roger J Davis, Gary W Cline, Kitt Falk Petersen, and Gerald I Shulman. Hepatic acetyl coa links adipose tissue inflammation to hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Cell*, 160(4):745–758, Feb 2015.
- [49] Rachel J Perry, Xian-Man Zhang, Dongyan Zhang, Naoki Kumashiro, Joao-Paulo G Camporez, Gary W Cline, Douglas L Rothman, and Gerald I Shulman. Leptin reverses diabetes by suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Nat Med*, 20(7):759–763, Jul 2014.
- [50] D B KEECH and M F UTTER. Pyruvate carboxylase. ii. properties. *J Biol Chem*, 238:2609–2614, Aug 1963.
- [51] H A KREBS, R N SPEAKE, and R HEMS. Acceleration of renal gluconeogenesis by ketone bodies and fatty acids. *Biochem J*, 94(3):712–720, Mar 1965.
- [52] R LEVINE and I B FRITZ. The relation of insulin to liver metabolism. *Diabetes*, 5(3):209–219, May-Jun 1956.
- [53] R S Hundal, M Krssak, S Dufour, D Laurent, V Lebon, V Chandramouli, S E Inzucchi, W C Schumann, K F Petersen, B R Landau, and G I Shulman. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*, 49(12):2063–2069, Dec 2000.

- [54] K Ekberg, B R Landau, A Wajngot, V Chandramouli, S Efendic, H Brunengraber, and J Wahren. Contributions by kidney and liver to glucose production in the postabsorptive state and after 60 h of fasting. *Diabetes*, 48(2):292–298, Feb 1999.
- [55] I Magnusson, D L Rothman, L D Katz, R G Shulman, and G I Shulman. Increased rate of gluconeogenesis in type ii diabetes mellitus. a  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest*, 90(4):1323–1327, Oct 1992.
- [56] Siddhartha Dutta, Rima B Shah, Shubha Singhal, Sudeshna Banerjee Dutta, Sumit Bansal, Susmita Sinha, and Mainul Haque. Metformin: A review of potential mechanism and therapeutic utility beyond diabetes. *Drug Des Devel Ther*, 17:1907–1932, 2023.
- [57] M R Owen, E Doran, and A P Halestrap. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J*, 348 Pt 3(Pt 3):607–614, Jun 2000.
- [58] F Davidoff. Effects of guanidine derivatives on mitochondrial function. i. phenethylbiguanide inhibition of respiration in mitochondria from guinea pig and rat tissues. *J Clin Invest*, 47(10):2331–2343, Oct 1968.
- [59] J B CHAPPELL. The effect of alkylguanidines on mitochondrial metabolism. *J Biol Chem*, 238:410–417, Jan 1963.
- [60] Russell A Miller, Qingwei Chu, Jianxin Xie, Marc Foretz, Benoit Viollet, and Morris J Birnbaum. Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic amp. *Nature*, 494(7436):256–260, Feb 2013.
- [61] Reuben J Shaw, Katja A Lamia, Debbie Vasquez, Seung-Hoi Koo, Nabeel Bardeesy, Ronald A Depinho, Marc Montminy, and Lewis C Cantley. The kinase lkb1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science*, 310(5754):1642–1646, Dec 2005.
- [62] G Zhou, R Myers, Y Li, Y Chen, X Shen, J Fenyk-Melody, M Wu, J Ventre, T Doebber, N Fujii, N Musi, M F Hirshman, L J Goodyear, and D E Moller. Role of amp-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*, 108(8):1167–1174, Oct 2001.
- [63] Jia Cao, Shumei Meng, Evan Chang, Katherine Beckwith-Fickas, Lishou Xiong, Robert N Cole, Sally Radovick, Fredric E Wondisford, and Ling He. Low concentrations of metformin suppress glucose production in hepatocytes through amp-activated protein kinase (ampk). *J Biol Chem*, 289(30):20435–20446, Jul 2014.
- [64] Anila K Madiraju, Derek M Erion, Yasmeen Rahimi, Xian-Man Zhang, Demetrios T Braddock, Ronald A Albright, Brett J Prigaro, John L Wood, Sanjay Bhanot, Michael J MacDonald, Michael J Jurczak, Joao-Paulo Camporez, Hui-Young Lee, Gary W Cline, Varman T Samuel, Richard G Kibbey, and Gerald I Shulman. Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. *Nature*, 510(7506):542–546, Jun 2014.
- [65] Adam R Konopka, Raul Ruiz Esponda, Matthew M Robinson, Matthew L Johnson, Rickey E Carter, Michele Schiavon, Claudio Cobelli, Fredric E Wondisford, Ian R Lanza, and K Sreekumaran Nair. Hyperglucagonemia mitigates the effect of metformin on glucose production in prediabetes. *Cell Rep*, 15(7):1394–1400, May 2016.

- [66] Roger W Hunter, Curtis C Hughey, Louise Lantier, Elias I Sundelin, Mark Peggie, Elton Zeqiraj, Frank Sicheri, Niels Jessen, David H Wasserman, and Kei Sakamoto. Metformin reduces liver glucose production by inhibition of fructose-1-6-bisphosphatase. *Nat Med*, 24(9):1395–1406, Sep 2018.
- [67] Angela Woods, Stephen R Johnstone, Kristina Dickerson, Fiona C Leiper, Lee G D Fryer, Dietbert Neumann, Uwe Schlattner, Theo Wallimann, Marian Carlson, and David Carling. Lkb1 is the upstream kinase in the amp-activated protein kinase cascade. *Curr Biol*, 13(22):2004–2008, Nov 2003.
- [68] Hua V Lin and Domenico Accili. Hormonal regulation of hepatic glucose production in health and disease. *Cell Metab*, 14(1):9–19, Jul 2011.
- [69] Max C Petersen, Daniel F Vatner, and Gerald I Shulman. Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*, 13(10):572–587, Oct 2017.
- [70] Marc Foretz, Sophie Hébrard, Jocelyne Leclerc, Elham Zarrinpashneh, Maud Soty, Gilles Mithieux, Kei Sakamoto, Fabrizio Andreelli, and Benoit Viollet. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the lkb1/ampk pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest*, 120(7):2355–2369, Jul 2010.
- [71] D Carling, V A Zammit, and D G Hardie. A common bicyclic protein kinase cascade inactivates the regulatory enzymes of fatty acid and cholesterol biosynthesis. *FEBS Lett*, 223(2):217–222, Nov 1987.
- [72] J D McGarry, G F Leatherman, and D W Foster. Carnitine palmitoyltransferase i. the site of inhibition of hepatic fatty acid oxidation by malonyl-coa. *J Biol Chem*, 253(12):4128–4136, Jun 1978.
- [73] C A Carlson and K H Kim. Regulation of hepatic acetyl coenzyme a carboxylase by phosphorylation and dephosphorylation. *J Biol Chem*, 248(1):378–380, Jan 1973.
- [74] David B Savage, Cheol Soo Choi, Varman T Samuel, Zhen-Xiang Liu, Dongyan Zhang, Amy Wang, Xian-Man Zhang, Gary W Cline, Xing Xian Yu, John G Geisler, Sanjay Bhanot, Brett P Monia, and Gerald I Shulman. Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-coa carboxylases 1 and 2. *J Clin Invest*, 116(3):817–824, Mar 2006.
- [75] Ryan M Esquejo, Christopher T Salatto, Jake Delmore, Bina Albuquerque, Allan Reyes, Yuji Shi, Rob Moccia, Emily Cokorinos, Matthew Peloquin, Mara Monetti, Jason Barricklow, Eliza Bollinger, Brennan K Smith, Emily A Day, Chuong Nguyen, Kieran F Geoghegan, John M Kreeger, Alan Opsahl, Jessica Ward, Amit S Kalgutkar, David Tess, Lynne Butler, Norimitsu Shirai, Timothy F Osborne, Gregory R Steinberg, Morris J Birnbaum, Kimberly O Cameron, and Russell A Miller. Activation of liver ampk with pf-06409577 corrects nafld and lowers cholesterol in rodent and primate preclinical models. *EBioMedicine*, 31:122–132, May 2018.
- [76] Leigh Goedeke, Jamie Bates, Daniel F Vatner, Rachel J Perry, Ting Wang, Ricardo Ramirez, Li Li, Matthew W Ellis, Dongyan Zhang, Kari E Wong, Carine Beysen, Gary W Cline, Adrian S Ray, and Gerald I Shulman. Acetyl-coa carboxylase inhibition reverses nafld and hepatic insulin resistance but promotes hypertriglyceridemia in rodents. *Hepatology*, 68(6):2197–2211, Dec 2018.

- [77] William W Shields, K E Thompson, G A Grice, S A Harrison, and W J Coyle. The effect of metformin and standard therapy versus standard therapy alone in nondiabetic patients with insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis (nash): A pilot trial. *Therap Adv Gastroenterol*, 2(3):157–163, May 2009.
- [78] Lars C Gormsen, Esben Søndergaard, Nana L Christensen, Steen Jakobsen, Erik H T Nielsen, Ole L Munk, Lars P Tolbod, Niels Jessen, and Søren Nielsen. Metformin does not affect postabsorptive hepatic free fatty acid uptake, oxidation or resecretion in humans: A 3-month placebo-controlled clinical trial in patients with type 2 diabetes and healthy controls. *Diabetes Obes Metab*, 20(6):1435–1444, Jun 2018.
- [79] A I Cederbaum, C S Lieber, D S Beattie, and E Rubin. Characterization of shuttle mechanisms for the transport of reducing equivalents into mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 158(2):763–781, Oct 1973.
- [80] K F LaNoue and J R Williamson. Interrelationships between malate-aspartate shuttle and citric acid cycle in rat heart mitochondria. *Metabolism*, 20(2):119–140, Feb 1971.
- [81] J W Jr Harding, E A Pyeritz, E S Copeland, and H B 3rd White. Role of glycerol 3-phosphate dehydrogenase in glyceride metabolism. effect of diet on enzyme activities in chicken liver. *Biochem J*, 146(1):223–229, Jan 1975.
- [82] Kristoffer Forslund, Falk Hildebrand, Trine Nielsen, Gwen Falony, Emmanuelle Le Chatelier, Shinichi Sunagawa, Edi Prifti, Sara Vieira-Silva, Valborg Gudmundsdottir, Helle K Pedersen, Manimozhiyan Arumugam, Karsten Kristiansen, Anita Yvonne Voigt, Henrik Vestergaard, Rajna Hercog, Paul Igor Costea, Jens Roat Kultima, Junhua Li, Torben Jørgensen, Florence Levenez, Joël Dore, H Bjørn Nielsen, Søren Brunak, Jeroen Raes, Torben Hansen, Jun Wang, S Dusko Ehrlich, Peer Bork, and Oluf Pedersen. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*, 528(7581):262–266, Dec 2015.
- [83] J Radziuk, Z Zhang, N Wiernsperger, and S Pye. Effects of metformin on lactate uptake and gluconeogenesis in the perfused rat liver. *Diabetes*, 46(9):1406–1413, Sep 1997.
- [84] Xiyan Li, Xin Wang, and Michael P Snyder. Metformin affects heme function as a possible mechanism of action. *G3 (Bethesda)*, 9(2):513–522, Feb 2019.
- [85] Shilpa Thakur, Brianna Daley, Kelli Gaskins, Vasyly V Vasko, Myriem Boufraqueh, Dhaval Patel, Carole Sourbier, Jeff Reece, Sheue-Yann Cheng, Electron Kebebew, Sunita Agarwal, and Joanna Klubo-Gwiezdzinska. Metformin targets mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase to control rate of oxidative phosphorylation and growth of thyroid cancer in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res*, 24(16):4030–4043, Aug 2018.
- [86] Jianjiang Xie, Jianheng Ye, Zhiduan Cai, Yong Luo, Xuejin Zhu, Yulin Deng, Yuanfa Feng, Yingke Liang, Ren Liu, Zhaodong Han, Yuxiang Liang, Yu Zheng, Rujun Mo, Yangjia Zhuo, Yongding Wu, Funeng Jiang, Jianguo Zhu, Chin-Lee Wu, and Weide Zhong. Gpd1 enhances the anticancer effects of metformin by synergistically increasing total cellular glycerol-3-phosphate. *Cancer Res*, 80(11):2150–2162, Jun 2020.

- [87] N Nurjhan, A Consoli, and J Gerich. Increased lipolysis and its consequences on gluconeogenesis in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*, 89(1):169–175, Jan 1992.
- [88] I Puhakainen, V A Koivisto, and H Yki-Järvinen. Lipolysis and gluconeogenesis from glycerol are increased in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 75(3):789–794, Sep 1992.
- [89] K Rebrin, G M Steil, S D Mittelman, and R N Bergman. Causal linkage between insulin suppression of lipolysis and suppression of liver glucose output in dogs. *J Clin Invest*, 98(3):741–749, Aug 1996.
- [90] Peter Repiščák, Stefan Erhardt, Graham Rena, and Martin J Paterson. Biomolecular mode of action of metformin in relation to its copper binding properties. *Biochemistry*, 53(4):787–795, Feb 2014.
- [91] Zhijun Guo, Irina F Sevrioukova, Iliia G Denisov, Xia Zhang, Ting-Lan Chiu, Dafydd G Thomas, Eric A Hanse, Rebecca A D Cuellar, Yelena V Grinkova, Vanessa Wankhede Langenfeld, Daniel S Swedien, Justin D Stamschror, Juan Alvarez, Fernando Luna, Adela Galván, Young Kyung Bae, Julia D Wulfschuhle, Rosa I Gallagher, Emanuel F Rd Petricoin, Beverly Norris, Craig M Flory, Robert J Schumacher, M Gerard O’Sullivan, Qing Cao, Haitao Chu, John D Lipscomb, William M Atkins, Kalpna Gupta, Ameeta Kelekar, Ian A Blair, Jorge H Capdevila, John R Falck, Stephen G Slinger, Thomas L Poulos, Gunda I Georg, Elizabeth Ambrose, and David A Potter. Heme binding biguanides target cytochrome p450-dependent cancer cell mitochondria. *Cell Chem Biol*, 24(10):1259–1275, Oct 2017.
- [92] Wenjun Li, Kiran Chaudhari, Ritu Shetty, Ali Winters, Xiaofei Gao, Zeping Hu, Woon-Ping Ge, Nathalie Sumien, Michael Forster, Ran Liu, and Shao-Hua Yang. Metformin alters locomotor and cognitive function and brain metabolism in normoglycemic mice. *Aging Dis*, 10(5):949–963, Oct 2019.
- [93] G Williams. Management of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*, 343(8889):95–100, Jan 1994.
- [94] R A DeFronzo and A M Goodman. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. the multicenter metformin study group. *N Engl J Med*, 333(9):541–549, Aug 1995.
- [95] A J Garber, T G Duncan, A M Goodman, D J Mills, and J L Rohlf. Efficacy of metformin in type ii diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, dose-response trial. *Am J Med*, 103(6):491–497, Dec 1997.
- [96] Wendy L Bennett, Nisa M Maruthur, Sonal Singh, Jodi B Segal, Lisa M Wilson, Raneer Chatterjee, Spyridon S Marinopoulos, Milo A Puhan, Padmini Ranasinghe, Lauren Block, Wanda K Nicholson, Susan Hutfless, Eric B Bass, and Shari Bolen. Comparative effectiveness and safety of medications for type 2 diabetes: an update including new drugs and 2-drug combinations. *Ann Intern Med*, 154(9):602–613, May 2011.
- [97] David Russell-Jones, Robert M Cuddihy, Markolf Hanefeld, Ajay Kumar, Jose G González, Melanie Chan, Anne M Wolka, and Marilyn K Boardman. Efficacy and safety of exenatide once weekly versus metformin, pioglitazone, and sitagliptin used

- as monotherapy in drug-naive patients with type 2 diabetes (duration-4): a 26-week double-blind study. *Diabetes Care*, 35(2):252–258, Feb 2012.
- [98] Steven E Kahn, Steven M Haffner, Mark A Heise, William H Herman, Rury R Holman, Nigel P Jones, Barbara G Kravitz, John M Lachin, M Colleen O’Neill, Bernard Zinman, and Giancarlo Viberti. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med*, 355(23):2427–2443, Dec 2006.
- [99] William C Knowler, Elizabeth Barrett-Connor, Sarah E Fowler, Richard F Hamman, John M Lachin, Elizabeth A Walker, and David M Nathan. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*, 346(6):393–403, Feb 2002.
- [100] Vanita R Aroda and Robert E Ratner. Metformin and type 2 diabetes prevention. *Diabetes Spectr*, 31(4):336–342, Nov 2018.
- [101] Association American Diabetes. Standards of medical care in diabetes-2022 abridged for primary care providers. *Clin Diabetes*, 40(1):10–38, Jan 2022.
- [102] Calette Corcoran and Tibb F Jacobs. Metformin. Jan 2024.
- [103] Expert Committee on the Diagnosis and Mellitus Classification of Diabetes. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 26 Suppl 1:S5–20, Jan 2003.
- [104] Ingo Rustenbeck and Hans-Georg Joost. *Antidiabetika, Behandlung der Adipositas*, pages 607–631. 2022.
- [105] Alessandro Protti, Riccarda Russo, Paola Tagliabue, Sarah Vecchio, Mervyn Singer, Alain Rudiger, Giuseppe Foti, Anna Rossi, Giovanni Mistraletti, and Luciano Gattinoni. Oxygen consumption is depressed in patients with lactic acidosis due to biguanide intoxication. *Crit Care*, 14(1):R22, 2010.
- [106] G. Geisslinger, S. Menzel, T. Gudermann, B. Hinz, P. Ruth, E. Mutschler, and Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart. *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Pharmakologie - Klinische Pharmakologie - Toxikologie*. WVG, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2020.
- [107] S. O. Decker, M. Wortmann, B. H. Siegler, A. Ulrich, S. Hofer, and T. Brenner. Metformininduzierte laktatacidose. *Der Anaesthesist*, 64(4):292–297, 2015.
- [108] Geoffray Keller, Martin Cour, Romain Hernu, Julien Illinger, Dominique Robert, and Laurent Argaud. Management of metformin-associated lactic acidosis by continuous renal replacement therapy. *PLoS One*, 6(8):e23200, 2011.
- [109] Alvin C. Powers and David D’Alessio. *Endocrine Pancreas and Pharmacotherapy of Diabetes Mellitus and Hypoglycemia*. McGraw-Hill Education, New York, NY, 2023.
- [110] Marc Foretz, Bruno Guigas, and Benoit Viollet. Metformin: update on mechanisms of action and repurposing potential. *Nat Rev Endocrinol*, 19(8):460–476, Aug 2023.
- [111] Gökhan S Hotamisligil. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*, 542(7640):177–185, Feb 2017.
- [112] Yun Sok Lee, Joshua Wollam, and Jerrold M Olefsky. An integrated view of immunometabolism. *Cell*, 172(1-2):22–40, Jan 2018.

- [113] Theresa V Rohm, Daniel T Meier, Jerrold M Olefsky, and Marc Y Donath. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*, 55(1):31–55, Jan 2022.
- [114] Joanne A Hoogerland, Bart Staels, and David Dombrowicz. Immune-metabolic interactions in homeostasis and the progression to nash. *Trends Endocrinol Metab*, 33(10):690–709, Oct 2022.
- [115] Payel Roy, Marco Orecchioni, and Klaus Ley. How the immune system shapes atherosclerosis: roles of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, 22(4):251–265, Apr 2022.
- [116] Clare Eckold, Vinod Kumar, January Weiner, Bacti Alisjahbana, Anca-Lelia Riza, Katharina Ronacher, Jorge Coronel, Sarah Kerry-Barnard, Stephanus T Malherbe, Leanie Kleynhans, Kim Stanley, Rovina Ruslami, Mihai Ioana, Cesar Ugarte-Gil, Gerhard Walzl, Reinout van Crevel, Cisca Wijmenga, Julia A Critchley, Hazel M Dockrell, and Jacqueline M Cliff. Impact of intermediate hyperglycemia and diabetes on immune dysfunction in tuberculosis. *Clin Infect Dis*, 72(1):69–78, Jan 2021.
- [117] George Caputa, Angela Castoldi, and Edward J Pearce. Metabolic adaptations of tissue-resident immune cells. *Nat Immunol*, 20(7):793–801, Jul 2019.
- [118] Marc Foretz, Bruno Guigas, and Benoit Viollet. Understanding the glucoregulatory mechanisms of metformin in type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 15(10):569–589, Oct 2019.
- [119] Robin Kristófi and Jan W Eriksson. Metformin as an anti-inflammatory agent: a short review. *J Endocrinol*, 251(2):R11–R22, Sep 2021.
- [120] Shipra Bhansali, Anil Bhansali, and Veena Dhawan. Metformin promotes mitophagy in mononuclear cells: a potential in vitro model for unraveling metformin’s mechanism of action. *Ann N Y Acad Sci*, 1463(1):23–36, Mar 2020.
- [121] Aranzazu M de Marañón, Pedro Díaz-Pozo, Francisco Canet, Noelia Díaz-Morales, Zaida Abad-Jiménez, Sandra López-Domènech, Teresa Vezza, Nadezda Apostolova, Carlos Morillas, Milagros Rocha, and Víctor M Víctor. Metformin modulates mitochondrial function and mitophagy in peripheral blood mononuclear cells from type 2 diabetic patients. *Redox Biol*, 53:102342, Jul 2022.
- [122] Lisa Menegazzo, Valentina Scattolini, Roberta Cappellari, Benedetta Maria Bonora, Mattia Albiero, Mario Bortolozzi, Filippo Romanato, Giulio Ceolotto, Saula Vigili de Kreutzeberg, Angelo Avogaro, and Gian Paolo Fadini. The antidiabetic drug metformin blunts netosis in vitro and reduces circulating netosis biomarkers in vivo. *Acta Diabetol*, 55(6):593–601, Jun 2018.
- [123] Stefanie K Wculek, Gillian Dunphy, Ignacio Heras-Murillo, Annalaura Mastrangelo, and David Sancho. Metabolism of tissue macrophages in homeostasis and pathology. *Cell Mol Immunol*, 19(3):384–408, Mar 2022.
- [124] Wenfang Xiong, Kuo-Yang Sun, Yan Zhu, Xiaoqi Zhang, Yi-Hua Zhou, and Xiaoping Zou. Metformin alleviates inflammation through suppressing fasn-dependent palmitoylation of akt. *Cell Death Dis*, 12(10):934, Oct 2021.

- [125] Hongxu Xian, Yuan Liu, Alexandra Rundberg Nilsson, Raphaella Gatchalian, Timothy R Crother, Warren G Tourtellotte, Yi Zhang, German R Aleman-Muench, Gavin Lewis, Weixuan Chen, Sarah Kang, Melissa Luevanos, Dorit Trudler, Stuart A Lipton, Pejman Soroosh, John Teijaro, Juan Carlos de la Torre, Moshe Arditi, Michael Karin, and Elsa Sanchez-Lopez. Metformin inhibition of mitochondrial atp and dna synthesis abrogates nlrp3 inflammasome activation and pulmonary inflammation. *Immunity*, 54(7):1463–1477, Jul 2021.
- [126] Saul Soberanes, Alexander V Misharin, Amit Jairaman, Luisa Morales-Nebreda, Alexandra C McQuattie-Pimentel, Takugo Cho, Robert B Hamanaka, Angelo Y Meliton, Paul A Reyfman, James M Walter, Ching-I Chen, Monica Chi, Stephen Chiu, Francisco J Gonzalez-Gonzalez, Matthew Antalek, Hiam Abdala-Valencia, Sergio E Chiarella, Kaitlyn A Sun, Parker S Woods, Andrew J Ghio, Manu Jain, Harris Perlman, Karen M Ridge, Richard I Morimoto, Jacob I Sznajder, William E Balch, Sangeeta M Bhorade, Ankit Bharat, Murali Prakriya, Navdeep S Chandel, Gökhan M Mutlu, and G R Scott Budinger. Metformin targets mitochondrial electron transport to reduce air-pollution-induced thrombosis. *Cell Metab*, 29(2):335–347, Feb 2019.
- [127] Francesco Ursini, Emilio Russo, Gianluca Pellino, Salvatore D’Angelo, Agostino Chiaravalloti, Giovambattista De Sarro, Roberto Manfredini, and Roberto De Giorgio. Metformin and autoimmunity: A "new deal of an old drug". *Front Immunol*, 9:1236, 2018.
- [128] Wu Duan, Yunchuan Ding, Xuefeng Yu, Dongxia Ma, Bo Yang, Yi Li, Li Huang, Zhonghua Chen, Junmeng Zheng, and Chao Yang. Metformin mitigates autoimmune insulinitis by inhibiting th1 and th17 responses while promoting treg production. *Am J Transl Res*, 11(4):2393–2402, 2019.
- [129] Fangfang Sun, Hui Jing Wang, Zhe Liu, Shikai Geng, Hai Ting Wang, Xiaodong Wang, Ting Li, Laurence Morel, Weiguo Wan, Liangjing Lu, Xiangyu Teng, and Shuang Ye. Safety and efficacy of metformin in systemic lupus erythematosus: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Rheumatol*, 2(4):e210–e216, Apr 2020.
- [130] Anton A Titov, Henry V Baker, Todd M Brusko, Eric S Sobel, and Laurence Morel. Metformin inhibits the type 1 ifn response in human cd4(+) t cells. *J Immunol*, 203(2):338–348, Jul 2019.
- [131] Faiza Malik, Syed Faizan Mehdi, Haroon Ali, Priya Patel, Anam Basharat, Amrat Kumar, Fnu Ashok, Joanna Stein, Wunnie Brima, Prashant Malhotra, and Jesse Roth. Is metformin poised for a second career as an antimicrobial? *Diabetes Metab Res Rev*, 34(4):e2975, May 2018.
- [132] KyeongJin Kim, Wen-Hao Yang, Youn-Sang Jung, and Jong-Ho Cha. A new aspect of an old friend: the beneficial effect of metformin on anti-tumor immunity. *BMB Rep*, 53(10):512–520, Nov 2020.
- [133] M K S Leow, R Dalan, C B E Chee, A Earnest, D E K Chew, A W K Tan, W Y C Kon, M Jong, T Barkham, and Y T Wang. Latent tuberculosis in patients with diabetes mellitus: prevalence, progression and public health implications. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 122(9):528–532, Oct 2014.

- [134] Amit Singhal, Liu Jie, Pavanish Kumar, Gan Suay Hong, Melvin Khee-Shing Leow, Bhairav Paleja, Liana Tsenova, Natalia Kurepina, Jinmiao Chen, Francesca Zolezzi, Barry Kreiswirth, Michael Poidinger, Cynthia Chee, Gilla Kaplan, Yee Tang Wang, and Gennaro De Libero. Metformin as adjunct antituberculosis therapy. *Sci Transl Med*, 6(263):263ra159, Nov 2014.
- [135] Ekta Lachmandas, Clare Eckold, Julia Böhme, Valerie A C M Koeken, Mardiana Binte Marzuki, Bastiaan Blok, Rob J W Arts, Jinmiao Chen, Karen W W Teng, Jacqueline Ratter, Elise J Smolders, Corina Van den Heuvel, Rinke Stienstra, Hazel M Dockrell, Evan Newell, Mihai G Netea, Amit Singhal, Jacqueline M Cliff, and Reinout Van Crevel. Metformin alters human host responses to mycobacterium tuberculosis in healthy subjects. *J Infect Dis*, 220(1):139–150, Jun 2019.
- [136] Julia Böhme, Nuria Martinez, Shamin Li, Andrea Lee, Mardiana Marzuki, Anteneh Mehari Tizazu, David Ackart, Jessica Haugen Frenkel, Alexandra Todd, Ekta Lachmandas, Josephine Lum, Foo Shihui, Tze Pin Ng, Bernett Lee, Anis Larbi, Mihai G Netea, Randall Basaraba, Reinout van Crevel, Evan Newell, Hardy Kornfeld, and Amit Singhal. Metformin enhances anti-mycobacterial responses by educating cd8+ t-cell immunometabolic circuits. *Nat Commun*, 11(1):5225, Oct 2020.
- [137] Diana Vara-Ciruelos, Madhumita Dandapani, Fiona M Russell, Katarzyna M Grzes, Abdelmadjid Atrih, Marc Foretz, Benoit Viollet, Douglas J Lamont, Doreen A Cantrell, and D Grahame Hardie. Phenformin, but not metformin, delays development of t cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma via cell-autonomous ampk activation. *Cell Rep*, 27(3):690–698, Apr 2019.
- [138] Hongyun Zhao, Kenneth D Swanson, and Bin Zheng. Therapeutic repurposing of biguanides in cancer. *Trends Cancer*, 7(8):714–730, Aug 2021.
- [139] Inbar Raber, Cian P McCarthy, Muthiah Vaduganathan, Deepak L Bhatt, David A Wood, John G F Cleland, Roger S Blumenthal, and John W McEvoy. The rise and fall of aspirin in the primary prevention of cardiovascular disease. *Lancet*, 393(10186):2155–2167, May 2019.
- [140] Ziquan Lv and Yajie Guo. Metformin and its benefits for various diseases. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 2020.
- [141] Adriaan Kooy, Jolien de Jager, Philippe Lehert, Daniël Bets, Michiel G Wulffélé, Ab J M Donker, and Coen D A Stehouwer. Long-term effects of metformin on metabolism and microvascular and macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arch Intern Med*, 169(6):616–625, Mar 2009.
- [142] Kui Zhang, Wenxing Yang, Hao Dai, and Zhenhua Deng. Cardiovascular risk following metformin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: Results from meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*, 160:108001, Feb 2020.
- [143] Yechen Han, Hongzhi Xie, Yongtai Liu, Peng Gao, Xufei Yang, and Zhujun Shen. Effect of metformin on all-cause and cardiovascular mortality in patients with coronary artery diseases: a systematic review and an updated meta-analysis. *Cardiovasc Diabetol*, 18(1):96, Jul 2019.

- [144] Metcool acs - metformin cooling effect on metformin-naive patients treated with pci because of acute coronary syndrome. <https://clinicaltrials.gov/study/nct05305898>. 2020, Abgerufen am 1.6.2024.
- [145] Cristina M Sena, Paulo Matafome, Teresa Louro, Elsa Nunes, Rosa Fernandes, and Raquel M Seça. Metformin restores endothelial function in aorta of diabetic rats. *Br J Pharmacol*, 163(2):424–437, May 2011.
- [146] Tiziana Bacchetti, Simona Masciangelo, Tatiana Armeni, Virginia Bicchiega, and Gianna Ferretti. Glycation of human high density lipoprotein by methylglyoxal: effect on hdl-paraonase activity. *Metabolism*, 63(3):307–311, Mar 2014.
- [147] Cristina M Sena, Paulo Matafome, Joana Crisóstomo, Lisa Rodrigues, Rosa Fernandes, Paulo Pereira, and Raquel M Seça. Methylglyoxal promotes oxidative stress and endothelial dysfunction. *Pharmacol Res*, 65(5):497–506, May 2012.
- [148] Jelena Kotur-Stevuljević, Jelena Vekić, Aleksandra Stefanović, Aleksandra Zeljković, Ana Ninić, Jasmina Ivanišević, Milica Miljković, Miron Sopić, Jelena Munjas, Marija Mihajlović, Slavica Spasić, Zorana Jelić-Ivanović, and Vesna Spasojević-Kalimanovska. Paraonase 1 and atherosclerosis-related diseases. *Biofactors*, 46(2):193–205, Mar 2020.
- [149] Handrean Soran, Jonathan D Schofield, and Paul N Durrington. Antioxidant properties of hdl. *Front Pharmacol*, 6:222, 2015.
- [150] Edyta Sutkowska, Paulina Fortuna, Bernadetta Kałuża, Karolina Sutkowska, Jerzy Wiśniewski, and Andrzej Gamian Prof. Metformin has no impact on nitric oxide production in patients with pre-diabetes. *Biomed Pharmacother*, 140:111773, Aug 2021.
- [151] Y Kato, N Koide, T Komatsu, G Tumurkhuu, J Dagvadorj, K Kato, and T Yokochi. Metformin attenuates production of nitric oxide in response to lipopolysaccharide by inhibiting myd88-independent pathway. *Horm Metab Res*, 42(9):632–636, Aug 2010.
- [152] Teresa Salvatore, Pia Clara Pafundi, Raffaele Galiero, Luca Rinaldi, Alfredo Catu-rano, Erica Vetrano, Concetta Aprea, Gaetana Albanese, Anna Di Martino, Carmen Ricozzi, Simona Imbriani, and Ferdinando Carlo Sasso. Can metformin exert as an active drug on endothelial dysfunction in diabetic subjects? *Biomedicines*, 9(1), Dec 2020.
- [153] K G Kheniser, S R Kashyap, and T Kasumov. A systematic review: the appraisal of the effects of metformin on lipoprotein modification and function. *Obes Sci Pract*, 5(1):36–45, Feb 2019.
- [154] Adriana P Machado, Raphael S Pinto, Zenaide P Moysés, Edna R Nakandakare, Eder C R Quintão, and Marisa Passarelli. Aminoguanidine and metformin prevent the reduced rate of hdl-mediated cell cholesterol efflux induced by formation of advanced glycation end products. *Int J Biochem Cell Biol*, 38(3):392–403, Mar 2006.
- [155] Kota Matsuki, Naoki Tamasawa, Maki Yamashita, Jutarō Tanabe, Hiroshi Murakami, Jun Matsui, Tadaatsu Imaizumi, Kei Satoh, and Toshihiro Suda. Metformin restores impaired hdl-mediated cholesterol efflux due to glycation. *Atherosclerosis*, 206(2):434–438, Oct 2009.

- [156] Aleksandra Dziubak, Grażyna Wójcicka, Andrzej Wojtak, and Jerzy Beltowski. Metabolic effects of metformin in the failing heart. *Int J Mol Sci*, 19(10), Sep 2018.
- [157] Antonio Cittadini, Raffaele Napoli, Maria Gaia Monti, Domenica Rea, Salvatore Longobardi, Paolo Antonio Netti, Marion Walser, Mariateresa Samà, Gianluca Aimaretti, Jörgen Isgaard, and Luigi Saccà. Metformin prevents the development of chronic heart failure in the shhf rat model. *Diabetes*, 61(4):944–953, Apr 2012.
- [158] Abdulhalim Jamal Kinsara and Yasser Mansour Ismail. Metformin in heart failure patients. *Indian Heart J*, 70(1):175–176, Jan-Feb 2018.
- [159] Felicia Roberts and Gina J Ryan. The safety of metformin in heart failure. *Ann Pharmacother*, 41(4):642–646, Apr 2007.
- [160] Mohapradeep Mohan, Shaween Al-Talabany, Angela McKinnie, Ify R Mordi, Jagdeep S S Singh, Stephen J Gandy, Fatima Baig, Muhammad S Hussain, U Bhalraam, Faisal Khan, Anna-Maria Choy, Shona Matthew, John Graeme Houston, Allan D Struthers, Jacob George, and Chim C Lang. A randomized controlled trial of metformin on left ventricular hypertrophy in patients with coronary artery disease without diabetes: the met-remodel trial. *Eur Heart J*, 40(41):3409–3417, Nov 2019.
- [161] Monika Podhorecka, Blanca Ibanez, and Anna Dmoszyńska. Metformin - its potential anti-cancer and anti-aging effects. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 71(0):170–175, Mar 2017.
- [162] Xinbing Sui, Yinghua Xu, Xian Wang, Weidong Han, Hongming Pan, and Mang Xiao. Metformin: A novel but controversial drug in cancer prevention and treatment. *Mol Pharm*, 12(11):3783–3791, Nov 2015.
- [163] Michael Pollak. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer*, 8(12):915–928, Dec 2008.
- [164] Rosina Pryor and Filipe Cabreiro. Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets. *Biochem J*, 471(3):307–322, Nov 2015.
- [165] Olga Moiseeva, Xavier Deschênes-Simard, Emmanuelle St-Germain, Sebastian Igelmann, Geneviève Huot, Alexandra E Cadar, Véronique Bourdeau, Michael N Pollak, and Gerardo Ferbeyre. Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with ikk/nf-b activation. *Aging Cell*, 12(3):489–498, Jun 2013.
- [166] Erika L Pearce, Matthew C Walsh, Pedro J Cejas, Gretchen M Harms, Hao Shen, Li-San Wang, Russell G Jones, and Yongwon Choi. Enhancing cd8 t-cell memory by modulating fatty acid metabolism. *Nature*, 460(7251):103–107, Jul 2009.
- [167] Dana M Gwinn, David B Shackelford, Daniel F Egan, Maria M Mihaylova, Annabelle Mery, Debbie S Vasquez, Benjamin E Turk, and Reuben J Shaw. Ampk phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell*, 30(2):214–226, Apr 2008.
- [168] Filipe Cabreiro, Catherine Au, Kit-Yi Leung, Nuria Vergara-Irigaray, Helena M Cochemé, Tahereh Noori, David Weinkove, Eugene Schuster, Nicholas D E Greene, and David Gems. Metformin retards aging in *c. elegans* by altering microbial folate and methionine metabolism. *Cell*, 153(1):228–239, Mar 2013.

- [169] Bruna Corominas-Faja, Rosa Quirantes-Piné, Cristina Oliveras-Ferraros, Alejandro Vazquez-Martin, Sílvia Cufí, Begoña Martin-Castillo, Vicente Micol, Jorge Joven, Antonio Segura-Carretero, and Javier A Menendez. Metabolomic fingerprint reveals that metformin impairs one-carbon metabolism in a manner similar to the antifolate class of chemotherapy drugs. *Aging (Albany NY)*, 4(7):480–498, Jul 2012.
- [170] Giovanni Blandino, Mariacristina Valerio, Mario Cioce, Federica Mori, Luca Casadei, Claudio Pulito, Andrea Sacconi, Francesca Biagioni, Giancarlo Cortese, Sergio Galanti, Cesare Manetti, Gennaro Citro, Paola Muti, and Sabrina Strano. Metformin elicits anticancer effects through the sequential modulation of dicer and c-myc. *Nat Commun*, 3:865, May 2012.
- [171] Monica Buzzai, Russell G Jones, Ravi K Amaravadi, Julian J Lum, Ralph J DeBerardinis, Fangping Zhao, Benoit Viollet, and Craig B Thompson. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. *Cancer Res*, 67(14):6745–6752, Jul 2007.
- [172] Russell G Jones, David R Plas, Sara Kubek, Monica Buzzai, James Mu, Yang Xu, Morris J Birnbaum, and Craig B Thompson. Amp-activated protein kinase induces a p53-dependent metabolic checkpoint. *Mol Cell*, 18(3):283–293, Apr 2005.
- [173] Carolyn Algire, Olga Moiseeva, Xavier Deschênes-Simard, Lilian Amrein, Luca Petrucci, Elena Birman, Benoit Viollet, Gerardo Ferbeyre, and Michael N Pollak. Metformin reduces endogenous reactive oxygen species and associated dna damage. *Cancer Prev Res (Phila)*, 5(4):536–543, Apr 2012.
- [174] Adem Kalender, Anand Selvaraj, So Young Kim, Pawan Gulati, Sophie Brûlé, Benoit Viollet, Bruce E Kemp, Nabeel Bardeesy, Patrick Dennis, John J Schlager, André Marette, Sara C Kozma, and George Thomas. Metformin, independent of ampk, inhibits mtorc1 in a rag gtpase-dependent manner. *Cell Metab*, 11(5):390–401, May 2010.
- [175] I Ben Sahra, K Laurent, A Loubat, S Giorgetti-Peraldi, P Colosetti, P Auberger, J F Tanti, Y Le Marchand-Brustel, and F Bost. The antidiabetic drug metformin exerts an antitumoral effect in vitro and in vivo through a decrease of cyclin d1 level. *Oncogene*, 27(25):3576–3586, Jun 2008.
- [176] Isaam Ben Sahra, Claire Regazzetti, Guillaume Robert, Kathiane Laurent, Yannick Le Marchand-Brustel, Patrick Auberger, Jean-François Tanti, Sophie Giorgetti-Peraldi, and Frédéric Bost. Metformin, independent of ampk, induces mtor inhibition and cell-cycle arrest through redd1. *Cancer Res*, 71(13):4366–4372, Jul 2011.
- [177] Y Feng, C Ke, Q Tang, H Dong, X Zheng, W Lin, J Ke, J Huang, S-C J Yeung, and H Zhang. Metformin promotes autophagy and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma by downregulating stat3 signaling. *Cell Death Dis*, 5(2):e1088, Feb 2014.
- [178] Cecilia Marini, Barbara Salani, Michela Massollo, Adriana Amaro, Alessia Isabella Esposito, Anna Maria Orenco, Selene Capitanio, Laura Emionite, Mattia Riondato, Gianluca Bottoni, Cinzia Massara, Simona Boccardo, Marina Fabbi, Cristina Campi, Silvia Ravera, Giovanna Angelini, Silvia Morbelli, Michele Cilli, Renzo Cordera, Mauro Truini, Davide Maggi, Ulrich Pfeffer, and Gianmario Sambuceti. Direct inhibition of hexokinase activity by metformin at least partially impairs glucose metabolism and tumor growth in experimental breast cancer. *Cell Cycle*, 12(22):3490–3499, Nov 2013.

- [179] Barbara Salani, Cecilia Marini, Alberto Del Rio, Silvia Ravera, Michela Massollo, Anna Maria Orengo, Adriana Amaro, Mario Passalacqua, Sara Maffioli, Ulrich Pfeffer, Renzo Cordera, Davide Maggi, and Gianmario Sambuceti. Metformin impairs glucose consumption and survival in calu-1 cells by direct inhibition of hexokinase-ii. *Sci Rep*, 3:2070, 2013.
- [180] Himadri Singh. Islet compensation in metabolic stress: Lessons from animal models. *Curr Diabetes Rev*, 12(4):315–321, 2016.
- [181] Yabing Chen, Xinyang Zhao, and Hui Wu. Metabolic stress and cardiovascular disease in diabetes mellitus: The role of protein o-glcnae modification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 39(10):1911–1924, Oct 2019.
- [182] Kathryn E Wellen and Craig B Thompson. Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess. *Mol Cell*, 40(2):323–332, Oct 2010.
- [183] Christopher J Nolan, Neil B Ruderman, Steven E Kahn, Oluf Pedersen, and Marc Prentki. Insulin resistance as a physiological defense against metabolic stress: implications for the management of subsets of type 2 diabetes. *Diabetes*, 64(3):673–686, Mar 2015.
- [184] Simonetta Camandola and Mark P Mattson. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *EMBO J*, 36(11):1474–1492, Jun 2017.
- [185] R Giannarelli, M Aragona, A Coppelli, and S Del Prato. Reducing insulin resistance with metformin: the evidence today. *Diabetes Metab*, 29(4 Pt 2):6S28–35, Sep 2003.
- [186] Shayna A. Wrighten, Gerardo G. Piroli, Claudia A. Grillo, and Lawrence P. Reagan. A look inside the diabetic brain: Contributors to diabetes-induced brain aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1792(5):444–453, 2009. Diabetes and the Nervous System.
- [187] Mohamed El Massry, Lynn M Alaeddine, Leen Ali, Celine Saad, and Assaad A Eid. Metformin: A growing journey from glycemic control to the treatment of alzheimer’s disease and depression. *Curr Med Chem*, 28(12):2328–2345, 2021.
- [188] Manon Domise, Sébastien Didier, Claudia Marinangeli, Haitian Zhao, Pallavi Chandakkar, Luc Buée, Benoit Viollet, Peter Davies, Philippe Marambaud, and Valérie Vingtdeux. Amp-activated protein kinase modulates tau phosphorylation and tau pathology in vivo. *Sci Rep*, 6:26758, May 2016.
- [189] M P Mattson, W Duan, S L Chan, and S Camandola. Par-4: an emerging pivotal player in neuronal apoptosis and neurodegenerative disorders. *J Mol Neurosci*, 13(1-2):17–30, Aug-Oct 1999.
- [190] Manon Domise and Valérie Vingtdeux. Ampk in neurodegenerative diseases. *Exp Suppl*, 107:153–177, 2016.
- [191] Peizhou Jiang, Ming Gan, Abdul Shukkur Ebrahim, Monica Castanedes-Casey, Dennis W Dickson, and Shu-Hui C Yen. Adenosine monophosphate-activated protein kinase overactivation leads to accumulation of -synuclein oligomers and decrease of neurites. *Neurobiol Aging*, 34(5):1504–1515, May 2013.

- [192] Chris R Triggler, Ibrahim Mohammed, Khalifa Bshesh, Isra Marei, Kevin Ye, Hong Ding, Ross MacDonald, Morley D Hollenberg, and Michael A Hill. Metformin: Is it a drug for all reasons and diseases? *Metabolism*, 133:155223, Aug 2022.
- [193] Aaron M Koenig, Dawn Mechanic-Hamilton, Sharon X Xie, Martha F Combs, Anne R Cappola, Long Xie, John A Detre, David A Wolk, and Steven E Arnold. Effects of the insulin sensitizer metformin in alzheimer disease: Pilot data from a randomized placebo-controlled crossover study. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 31(2):107–113, Apr-Jun 2017.
- [194] Christiane Reitz and Richard Mayeux. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology*, 88(4):640–651, 2014. Alzheimer’s Disease – Amyloid, Tau and Beyond.
- [195] Amit Gupta, Bharti Bisht, and Chinmoy Sankar Dey. Peripheral insulin-sensitizer drug metformin ameliorates neuronal insulin resistance and alzheimer’s-like changes. *Neuropharmacology*, 60(6):910–920, 2011.
- [196] Suzanne M de la Monte and Ming Tong. Brain metabolic dysfunction at the core of alzheimer’s disease. *Biochem Pharmacol*, 88(4):548–559, Apr 2014.
- [197] L Frölich, D Blum-Degen, H G Bernstein, S Engelsberger, J Humrich, S Laufer, D Muschner, A Thalheimer, A Türk, S Hoyer, R Zöchling, K W Boissl, K Jellinger, and P Riederer. Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic alzheimer’s disease. *J Neural Transm (Vienna)*, 105(4-5):423–438, 1998.
- [198] M A Abbott, D G Wells, and J R Fallon. The insulin receptor tyrosine kinase substrate p58/53 and the insulin receptor are components of cns synapses. *J Neurosci*, 19(17):7300–7308, Sep 1999.
- [199] L Gasparini, G K Gouras, R Wang, R S Gross, M F Beal, P Greengard, and H Xu. Stimulation of beta-amyloid precursor protein trafficking by insulin reduces intraneuronal beta-amyloid and requires mitogen-activated protein kinase signaling. *J Neurosci*, 21(8):2561–2570, Apr 2001.
- [200] Ratan V Bhat, Samantha L Budd Haerberlein, and Jesús Avila. Glycogen synthase kinase 3: a drug target for cns therapies. *J Neurochem*, 89(6):1313–1317, Jun 2004.
- [201] Suzanne M de la Monte and Jack R Wands. Alzheimer’s disease is type 3 diabetes-evidence reviewed. *J Diabetes Sci Technol*, 2(6):1101–1113, Nov 2008.
- [202] Mark Yarchoan and Steven E Arnold. Repurposing diabetes drugs for brain insulin resistance in alzheimer disease. *Diabetes*, 63(7):2253–2261, Jul 2014.
- [203] Xiaoguang Du, Xinyi Wang, and Meiyu Geng. Alzheimer’s disease hypothesis and related therapies. *Transl Neurodegener*, 7:2, 2018.
- [204] Patrick Imfeld, Michael Bodmer, Susan S Jick, and Christoph R Meier. Metformin, other antidiabetic drugs, and risk of alzheimer’s disease: a population-based case-control study. *J Am Geriatr Soc*, 60(5):916–921, May 2012.

- [205] Eileen M Moore, Alastair G Mander, David Ames, Mark A Kotowicz, Ross P Carne, Henry Brodaty, Michael Woodward, Karyn Boundy, Kathryn A Ellis, Ashley I Bush, Noel G Faux, Ralph Martins, Cassandra Szoeka, Christopher Rowe, and David A Watters. Increased risk of cognitive impairment in patients with diabetes is associated with metformin. *Diabetes Care*, 36(10):2981–2987, Oct 2013.
- [206] Galit Weinstein, Kendra L Davis-Plourde, Sarah Conner, Jayandra J Himali, Alexa S Beiser, Anne Lee, Andreea M Rawlings, Sanaz Sedaghat, Jie Ding, Erin Moshier, Cornelia M van Duijn, Michal S Beerli, Elizabeth Selvin, M Arfan Ikram, Lenore J Launer, Mary N Haan, and Sudha Seshadri. Association of metformin, sulfonylurea and insulin use with brain structure and function and risk of dementia and alzheimer’s disease: Pooled analysis from 5 cohorts. *PLoS One*, 14(2):e0212293, 2019.
- [207] Chih-Cheng Hsu, Mark L Wahlqvist, Meei-Shyuan Lee, and Hsin-Ni Tsai. Incidence of dementia is increased in type 2 diabetes and reduced by the use of sulfonylureas and metformin. *J Alzheimers Dis*, 24(3):485–493, 2011.
- [208] Tseng Chin-Hsiao. Metformin and the risk of dementia in type 2 diabetes patients. *Aging Dis*, 10(1):37–48, Feb 2019.
- [209] Chin Cheng, Ching-Heng Lin, Yi-Wen Tsai, Chia-Jui Tsai, Po-Han Chou, and Tsuo-Hung Lan. Type 2 diabetes and antidiabetic medications in relation to dementia diagnosis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 69(10):1299–1305, Oct 2014.
- [210] Ariela R Orkaby, Kelly Cho, Jean Cormack, David R Gagnon, and Jane A Driver. Metformin vs sulfonylurea use and risk of dementia in us veterans aged 65 years with diabetes. *Neurology*, 89(18):1877–1885, Oct 2017.
- [211] JoséA Luchsinger, Thania Perez, Helena Chang, Pankaj Mehta, Jason Steffener, Gnanavalli Pradabhan, Masanori Ichise, Jennifer Manly, Davangere P Devanand, and Emilia Bagiella. Metformin in amnesic mild cognitive impairment: Results of a pilot randomized placebo controlled clinical trial. *J Alzheimers Dis*, 51(2):501–514, 2016.
- [212] Amit Gupta, Bharti Bisht, and Chinmoy Sankar Dey. Peripheral insulin-sensitizer drug metformin ameliorates neuronal insulin resistance and alzheimer’s-like changes. *Neuropharmacology*, 60(6):910–920, May 2011.
- [213] Bin Chen, Ying Teng, Xingguang Zhang, Xiaofeng Lv, and Yanling Yin. Metformin alleviated ab-induced apoptosis via the suppression of jnk mapk signaling pathway in cultured hippocampal neurons. *Biomed Res Int*, 2016:1421430, 2016.
- [214] Jiejie Li, Jiao Deng, Wenli Sheng, and Zhiyi Zuo. Metformin attenuates alzheimer’s disease-like neuropathology in obese, leptin-resistant mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 101(4):564–574, Jun 2012.
- [215] Carola Rotermund, Gerrit Machetanz, and Julia C Fitzgerald. The therapeutic potential of metformin in neurodegenerative diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9:400, 2018.
- [216] Ming-Chang Chiang, Yi-Chuan Cheng, Shiang-Jiuun Chen, Chia-Hui Yen, and Rong-Nan Huang. Metformin activation of ampk-dependent pathways is neuroprotective in human neural stem cells against amyloid-beta-induced mitochondrial dysfunction. *Exp Cell Res*, 347(2):322–331, Oct 2016.

- [217] Jing Wang, Denis Gallagher, Loren M DeVito, Gonzalo I Cancino, David Tsui, Ling He, Gordon M Keller, Paul W Frankland, David R Kaplan, and Freda D Miller. Metformin activates an atypical pkc-cbp pathway to promote neurogenesis and enhance spatial memory formation. *Cell Stem Cell*, 11(1):23–35, Jul 2012.
- [218] Steven E Arnold, Zoe Arvanitakis, Shannon L Macauley-Rambach, Aaron M Koenig, Hoau-Yan Wang, Rexford S Ahima, Suzanne Craft, Sam Gandy, Christoph Buettner, Luke E Stoeckel, David M Holtzman, and David M Nathan. Brain insulin resistance in type 2 diabetes and alzheimer disease: concepts and conundrums. *Nat Rev Neurol*, 14(3):168–181, Mar 2018.
- [219] Mak Adam Daulatzai. Cerebral hypoperfusion and glucose hypometabolism: Key pathophysiological modulators promote neurodegeneration, cognitive impairment, and alzheimer’s disease. *J Neurosci Res*, 95(4):943–972, Apr 2017.
- [220] Seema Patel. Polycystic ovary syndrome (pcos), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 182:27–36, Sep 2018.
- [221] Michael T Sheehan. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management. *Clin Med Res*, 2(1):13–27, Feb 2004.
- [222] Gerald Höfler (Herausgeber), Hans Kreipe (Herausgeber), and Holger Moch (Herausgeber). *Lehrbuch Pathologie*. Elsevier, 2019.
- [223] Sana Siddiqui, Somaiya Mateen, Rizwan Ahmad, and Shagufta Moin. A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (pcos). *J Assist Reprod Genet*, 39(11):2439–2473, Nov 2022.
- [224] A Dunaif. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev*, 18(6):774–800, Dec 1997.
- [225] Nigel K Stepto, Samantha Cassar, Anju E Joham, Samantha K Hutchison, Cheryce L Harrison, Rebecca F Goldstein, and Helena J Teede. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp. *Hum Reprod*, 28(3):777–784, Mar 2013.
- [226] Stefano Palomba, Terhi T Piltonen, and Linda C Giudice. Endometrial function in women with polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. *Hum Reprod Update*, 27(3):584–618, Apr 2021.
- [227] Józef Drzewoski and Markolf Hanefeld. The current and potential therapeutic use of metformin-the good old drug. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(2), Feb 2021.
- [228] Stefano Palomba, Angela Falbo, Fulvio Zullo, and Francesco Jr Orio. Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. *Endocr Rev*, 30(1):1–50, Feb 2009.
- [229] Tom Tanbo, Jan Mellembakken, Sverre Bjercke, Eva Ring, Thomas Åbyholm, and Peter Fedorcsak. Ovulation induction in polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 97(10):1162–1167, Oct 2018.
- [230] Hesham Al-Inany and Neil Johnson. Drugs for anovulatory infertility in polycystic ovary syndrome. *BMJ*, 332(7556):1461–1462, Jun 2006.

- [231] Hellas Cena, Luca Chiovato, and Rossella E Nappi. Obesity, polycystic ovary syndrome, and infertility: A new avenue for glp-1 receptor agonists. *J Clin Endocrinol Metab*, 105(8):e2695–709, Aug 2020.
- [232] J J Ge, D J Wang, W Song, S M Shen, and W H Ge. The effectiveness and safety of liraglutide in treating overweight/obese patients with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. *J Endocrinol Invest*, 45(2):261–273, Feb 2022.
- [233] Maka Siamashvili and Stephen N Davis. Update on the effects of glp-1 receptor agonists for the treatment of polycystic ovary syndrome. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 14(9):1081–1089, Sep 2021.
- [234] Negar Naderpoor, Soulmaz Shorakae, Barbora de Courten, Marie L. Misso, Lisa J Moran, and Helena J. Teede. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 21(5):560–574, 06 2015.
- [235] Rebecca Mansfield, Ray Galea, Mark Brincat, David Hole, and Helen Mason. Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis. *Fertil Steril*, 79(4):956–962, Apr 2003.
- [236] W Arlt, R J Auchus, and W L Miller. Thiazolidinediones but not metformin directly inhibit the steroidogenic enzymes p450c17 and 3beta -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Biol Chem*, 276(20):16767–16771, May 2001.
- [237] E Elia, V Sander, C G Luchetti, M E Solano, G Di Girolamo, C Gonzalez, and A B Motta. The mechanisms involved in the action of metformin in regulating ovarian function in hyperandrogenized mice. *Mol Hum Reprod*, 12(8):475–481, Aug 2006.
- [238] Pascal Froment, Ingrid Plotton, Cecilia Giulivi, Stephane Fabre, Rita Khoueiry, Nizar I Mourad, Sandrine Horman, Christelle Ramé, Charlène Rouillon, Jeremy Grandhay, Yves Bigot, Claire Chevaleyre, Remy Le Guevel, Patricia Mallegol, Ramaroson Andriantsitohaina, Fabrice Guerif, Jérôme Tamburini, Benoit Viollet, Marc Foretz, and Joelle Dupont. At the crossroads of fertility and metabolism: the importance of AMPK-dependent signaling in female infertility associated with hyperandrogenism. *Human Reproduction*, 37(6):1207–1228, 04 2022.
- [239] H Dorota Halicka, Hong Zhao, Jiangwei Li, Yong-Syu Lee, Tze-Chen Hsieh, Joseph M Wu, and Zbigniew Darzynkiewicz. Potential anti-aging agents suppress the level of constitutive mtor- and dna damage- signaling. *Aging (Albany NY)*, 4(12):952–965, Dec 2012.
- [240] Vladimir N Anisimov and Andrzej Bartke. The key role of growth hormone-insulin-igf-1 signaling in aging and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 87(3):201–223, Sep 2013.
- [241] Andrzej Bartke. Growth hormone, insulin and aging: the benefits of endocrine defects. *Exp Gerontol*, 46(2-3):108–111, Feb-Mar 2011.
- [242] Nir Barzilai, Derek M Huffman, Radhika H Muzumdar, and Andrzej Bartke. The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes*, 61(6):1315–1322, Jun 2012.
- [243] Andrzej Bartke. Single-gene mutations and healthy ageing in mammals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 366(1561):28–34, Jan 2011.

- [244] Andrzej Bartke and Holly Brown-Borg. Life extension in the dwarf mouse. *Curr Top Dev Biol*, 63:189–225, 2004.
- [245] Mikhail V Blagosklonny. Increasing healthy lifespan by suppressing aging in our lifetime: preliminary proposal. *Cell Cycle*, 9(24):4788–4794, Dec 2010.
- [246] Zbigniew Darzynkiewicz, Hong Zhao, H Dorota Halicka, Jiangwei Li, Yong-Syu Lee, Tze-Chen Hsieh, and Joseph M Wu. In search of antiaging modalities: evaluation of mtor- and ros/dna damage-signaling by cytometry. *Cytometry A*, 85(5):386–399, May 2014.
- [247] Brian Onken and Monica Driscoll. Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *c. elegans* healthspan via *ampk*, *lkb1*, and *skn-1*. *PLoS One*, 5(1):e8758, Jan 2010.
- [248] Vladimir N Anisimov. Metformin for aging and cancer prevention. *Aging (Albany NY)*, 2(11):760–774, Nov 2010.
- [249] Vladimir N Anisimov. Metformin: do we finally have an anti-aging drug? *Cell Cycle*, 12(22):3483–3489, Nov 2013.
- [250] David C Rubinsztein, Guillermo Mariño, and Guido Kroemer. Autophagy and aging. *Cell*, 146(5):682–695, Sep 2011.
- [251] Andreas Wiederkehr and Claes B Wollheim. Minireview: implication of mitochondria in insulin secretion and action. *Endocrinology*, 147(6):2643–2649, Jun 2006.
- [252] Eugenia Morselli, Lorenzo Galluzzi, Oliver Kepp, Alfredo Criollo, Maria Chiara Maiuri, Nektarios Tavernarakis, Frank Madeo, and Guido Kroemer. Autophagy mediates pharmacological lifespan extension by spermidine and resveratrol. *Aging (Albany NY)*, 1(12):961–970, Dec 2009.
- [253] Kyu Yeon Hur and Myung-Shik Lee. New mechanisms of metformin action: Focusing on mitochondria and the gut. *J Diabetes Investig*, 6(6):600–609, Nov 2015.
- [254] E Morselli, M C Maiuri, M Markaki, E Megalou, A Pasparaki, K Palikaras, A Criollo, L Galluzzi, S A Malik, I Vitale, M Michaud, F Madeo, N Tavernarakis, and G Kroemer. Caloric restriction and resveratrol promote longevity through the sirtuin-1-dependent induction of autophagy. *Cell Death Dis*, 1(1):e10, 2010.
- [255] Anthony A Sauve, Cynthia Wolberger, Vern L Schramm, and Jef D Boeke. The biochemistry of sirtuins. *Annu Rev Biochem*, 75:435–465, 2006.
- [256] Nadège Minois, Didac Carmona-Gutierrez, and Frank Madeo. Polyamines in aging and disease. *Aging (Albany NY)*, 3(8):716–732, Aug 2011.
- [257] Claudio Franceschi, Paolo Garagnani, Paolo Parini, Cristina Giuliani, and Aurelia Santoro. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 14(10):576–590, Oct 2018.
- [258] Anna Aiello, Farzin Farzaneh, Giuseppina Candore, Calogero Caruso, Sergio Davinelli, Caterina Maria Gambino, Mattia Emanuela Ligotti, Nahid Zareian, and Giulia Accardi. Immunosenescence and its hallmarks: How to oppose aging strategically? a review of potential options for therapeutic intervention. *Front Immunol*, 10:2247, 2019.

- [259] Ameya S Kulkarni, Sriram Gubbi, and Nir Barzilai. Benefits of metformin in attenuating the hallmarks of aging. *Cell Metab*, 32(1):15–30, Jul 2020.
- [260] Daniela Frasca, Alain Diaz, Maria Romero, and Bonnie B Blomberg. Metformin enhances b cell function and antibody responses of elderly individuals with type-2 diabetes mellitus. *Front Aging*, 2:715981, 2021.
- [261] Jung-Yun Lee, Inpyo Jeon, Jae Weon Kim, Yong-Sang Song, Jae-Moon Yoon, and Sang Min Park. Diabetes mellitus and ovarian cancer risk: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Gynecol Cancer*, 23(3):402–412, Mar 2013.
- [262] David A Landry, Edward Yakubovich, David P Cook, Sijyl Fasih, Jeremy Upham, and Barbara C Vanderhyden. Metformin prevents age-associated ovarian fibrosis by modulating the immune landscape in female mice. *Sci Adv*, 8(35):eabq1475, Sep 2022.
- [263] Leena P Bharath, Madhur Agrawal, Grace McCambridge, Dequina A Nicholas, Hatice Hasturk, Jing Liu, Kai Jiang, Rui Liu, Zhenheng Guo, Jude Deeney, Caroline M Apovian, Jennifer Snyder-Cappione, Gregory S Hawk, Rebecca M Fleeman, Riley M F Pihl, Katherine Thompson, Anna C Belkina, Licong Cui, Elizabeth A Proctor, Philip A Kern, and Barbara S Nikolajczyk. Metformin enhances autophagy and normalizes mitochondrial function to alleviate aging-associated inflammation. *Cell Metab*, 32(1):44–55, Jul 2020.
- [264] Ameya S Kulkarni, Erika F Brutsaert, Valentin Anghel, Kehao Zhang, Noah Bloomgarden, Michael Pollak, Jessica C Mar, Meredith Hawkins, Jill P Crandall, and Nir Barzilai. Metformin regulates metabolic and nonmetabolic pathways in skeletal muscle and subcutaneous adipose tissues of older adults. *Aging Cell*, 17(2), Apr 2018.
- [265] Ting Luo, Allison Nocon, Jessica Fry, Alex Sherban, Xianliang Rui, Bingbing Jiang, X Julia Xu, Jingyan Han, Yun Yan, Qin Yang, Qifu Li, and Mengwei Zang. Ampk activation by metformin suppresses abnormal extracellular matrix remodeling in adipose tissue and ameliorates insulin resistance in obesity. *Diabetes*, 65(8):2295–2310, Aug 2016.
- [266] Kai Sun, Christine M Kusminski, and Philipp E Scherer. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest*, 121(6):2094–2101, Jun 2011.
- [267] Nir Barzilai, Jill P Crandall, Stephen B Kritchevsky, and Mark A Espeland. Metformin as a tool to target aging. *Cell Metab*, 23(6):1060–1065, Jun 2016.
- [268] Jamie N Justice, Laura Niedernhofer, Paul D Robbins, Vanita R Aroda, Mark A Espeland, Stephen B Kritchevsky, George A Kuchel, and Nir Barzilai. Development of clinical trials to extend healthy lifespan. *Cardiovasc Endocrinol Metab*, 7(4):80–83, Dec 2018.
- [269] Stephanie Studenski, Subashan Perera, Kushang Patel, Caterina Rosano, Kimberly Faulkner, Marco Inzitari, Jennifer Brach, Julie Chandler, Peggy Cawthon, Elizabeth Barrett Connor, Michael Nevitt, Marjolein Visser, Stephen Kritchevsky, Stefania Badinelli, Tamara Harris, Anne B Newman, Jane Cauley, Luigi Ferrucci, and Jack Guralnik. Gait speed and survival in older adults. *JAMA*, 305(1):50–58, Jan 2011.

- [270] Adam R Konopka, Jaime L Laurin, Hayden M Schoenberg, Justin J Reid, William M Castor, Christopher A Wolff, Robert V Musci, Oscar D Safairad, Melissa A Linden, Laurie M Biela, Susan M Bailey, Karyn L Hamilton, and Benjamin F Miller. Metformin inhibits mitochondrial adaptations to aerobic exercise training in older adults. *Aging Cell*, 18(1):e12880, Feb 2019.
- [271] Timothy V Pyrkov, Konstantin Avchaciov, Andrei E Tarkhov, Leonid I Menshikov, Andrei V Gudkov, and Peter O Fedichev. Longitudinal analysis of blood markers reveals progressive loss of resilience and predicts human lifespan limit. *Nat Commun*, 12(1):2765, May 2021.
- [272] L P Fried, C M Tangen, J Walston, A B Newman, C Hirsch, J Gottdiener, T Seeman, R Tracy, W J Kop, G Burke, and M A McBurnie. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 56(3):M146–56, Mar 2001.
- [273] Ibrahim Mohammed, Morley D Hollenberg, Hong Ding, and Chris R Triggle. A critical review of the evidence that metformin is a putative anti-aging drug that enhances healthspan and extends lifespan. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 12:718942, 2021.
- [274] Jacobo de la Cuesta-Zuluaga, Noel T Mueller, Vanessa Corrales-Agudelo, Eliana P Velásquez-Mejía, Jenny A Carmona, JoséM Abad, and Juan S Escobar. Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading akkermansia muciniphila and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*, 40(1):54–62, Jan 2017.
- [275] Noel T Mueller, Moira K Differding, Mingyu Zhang, Nisa M Maruthur, Stephen P Juraschek, Edgar R 3rd Miller, Lawrence J Appel, and Hsin-Chieh Yeh. Metformin affects gut microbiome composition and function and circulating short-chain fatty acids: A randomized trial. *Diabetes Care*, 44(7):1462–1471, Jul 2021.
- [276] Antonella Napolitano, Sam Miller, Andrew W Nicholls, David Baker, Stephanie Van Horn, Elizabeth Thomas, Deepak Rajpal, Aaron Spivak, James R Brown, and Derek J Nunez. Novel gut-based pharmacology of metformin in patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*, 9(7):e100778, 2014.
- [277] Arnau Vich Vila, Valerie Collij, Serena Sanna, Trishla Sinha, Floris Imhann, Arno R Bourgonje, Zlatan Mujagic, Daisy M A E Jonkers, Ad A M Masclee, Jingyuan Fu, Alexander Kurilshikov, Cisca Wijmenga, Alexandra Zhernakova, and Rinse K Weersma. Impact of commonly used drugs on the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Nat Commun*, 11(1):362, Jan 2020.
- [278] Hao Wu, Eduardo Esteve, Valentina Tremaroli, Muhammad Tanweer Khan, Robert Caesar, Louise Mannerås-Holm, Marcus Ståhlman, Lisa M Olsson, Matteo Serino, Mercè Planas-Fèlix, Gemma Xifra, Josep M Mercader, David Torrents, Rémy Burcelin, Wifredo Ricart, Rosie Perkins, JoséManuel Fernández-Real, and Fredrik Bäckhed. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med*, 23(7):850–858, Jul 2017.
- [279] Thomas Bryrup, Cæcilie W Thomsen, Timo Kern, Kristine H Allin, Ivan Brandslund, Niklas R Jørgensen, Henrik Vestergaard, Torben Hansen, Tue H Hansen, Oluf Pedersen, and Trine Nielsen. Metformin-induced changes of the gut microbiota in healthy

- young men: results of a non-blinded, one-armed intervention study. *Diabetologia*, 62(6):1024–1035, Jun 2019.
- [280] Ilze Elbere, Ineta Kalnina, Ivars Silamikelis, Ilze Konrade, Linda Zaharenko, Kristine Sekace, Ilze Radovica-Spalvina, Davids Fridmanis, Dita Gudra, Valdis Pirags, and Janis Klovins. Association of metformin administration with gut microbiome dysbiosis in healthy volunteers. *PLoS One*, 13(9):e0204317, 2018.
- [281] C Wilcock and C J Bailey. Accumulation of metformin by tissues of the normal and diabetic mouse. *Xenobiotica*, 24(1):49–57, Jan 1994.
- [282] Natália Tobar, Guilherme Z Rocha, Andrey Santos, Dioze Guadagnini, Heloísa B Assalin, Juliana A Camargo, Any E S S Gonçalves, Flavia R Pallis, Alexandre G Oliveira, Silvana A Rocco, Raphael M Neto, Irene Layane de Sousa, Marcos R Alborghetti, Maurício L Sforça, Patrícia B Rodrigues, Raissa G Ludwig, Emerielle C Vanzela, Sergio Q Brunetto, Patrícia A Boer, José A R Gontijo, Bruno Geloneze, Carla R O Carvalho, Patricia O Prada, Franco Folli, Rui Curi, Marcelo A Mori, Marco A R Vinolo, Celso D Ramos, Kleber G Franchini, Claudio F Tormena, and Mario J A Saad. Metformin acts in the gut and induces gut-liver crosstalk. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 120(4):e2211933120, Jan 2023.
- [283] C J Bailey, C Wilcock, and J H B Scarpello. Metformin and the intestine. *Diabetologia*, 51(8):1552–1553, Aug 2008.
- [284] Paige V Bauer, Frank A Duca, T M Zaved Waise, Brittany A Rasmussen, Mona A Abraham, Helen J Dranse, Akshita Puri, Catherine A O’Brien, and Tony K T Lam. Metformin alters upper small intestinal microbiota that impact a glucose-sglT1-sensing glucoregulatory pathway. *Cell Metab*, 27(1):101–117, Jan 2018.
- [285] Amélie Bravard, Céline Gérard, Clémence Defois, Bérengère Benoit, Kassem Makki, Emmanuelle Meugnier, Dominique Rainteau, Jennifer Rieusset, Murielle Godet, and Hubert Vidal. Metformin treatment for 8 days impacts multiple intestinal parameters in high-fat high-sucrose fed mice. *Sci Rep*, 11(1):16684, Aug 2021.
- [286] Lulu Sun, Cen Xie, Guang Wang, Yue Wu, Qing Wu, Xuemei Wang, Jia Liu, Yangyang Deng, Jialin Xia, Bo Chen, Songyang Zhang, Chuyu Yun, Guan Lian, Xiujuan Zhang, Heng Zhang, William H Bisson, Jingmin Shi, Xiaoxia Gao, Pupu Ge, Cuihua Liu, Kristopher W Krausz, Robert G Nichols, Jingwei Cai, Bipin Rimal, Andrew D Patterson, Xian Wang, Frank J Gonzalez, and Changtao Jiang. Gut microbiota and intestinal fxr mediate the clinical benefits of metformin. *Nat Med*, 24(12):1919–1929, Dec 2018.
- [287] Ralph A DeFronzo, John B Buse, Terri Kim, Colleen Burns, Sharon Skare, Alain Baron, and Mark Fineman. Once-daily delayed-release metformin lowers plasma glucose and enhances fasting and postprandial glp-1 and ppy: results from two randomised trials. *Diabetologia*, 59(8):1645–1654, Aug 2016.
- [288] Eryun Zhang, Lihua Jin, Yangmeng Wang, Jui Tu, Ruirong Zheng, Lili Ding, Zhipeng Fang, Mingjie Fan, Ismail Al-Abdullah, Rama Natarajan, Ke Ma, Zhengtao Wang, Arthur D Riggs, Sarah C Shuck, Li Yang, and Wendong Huang. Intestinal ampk modulation of microbiota mediates crosstalk with brown fat to control thermogenesis. *Nat Commun*, 13(1):1135, Mar 2022.

- [289] Na-Ri Shin, June-Chul Lee, Hae-Youn Lee, Min-Soo Kim, Tae Woong Whon, Myung-Shik Lee, and Jin-Woo Bae. An increase in the *akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut*, 63(5):727–735, May 2014.
- [290] Haoran Ke, Fang Li, Wenlin Deng, Zitong Li, Siqi Wang, Pinjing Lv, and Ye Chen. Metformin exerts anti-inflammatory and mucus barrier protective effects by enriching *akkermansia muciniphila* in mice with ulcerative colitis. *Front Pharmacol*, 12:726707, 2021.
- [291] Zi-Yu Zhou, Li-Wei Ren, Ping Zhan, Han-Yan Yang, Dan-Dan Chai, and Zhi-Wen Yu. Metformin exerts glucose-lowering action in high-fat fed mice via attenuating endotoxemia and enhancing insulin signaling. *Acta Pharmacol Sin*, 37(8):1063–1075, Aug 2016.
- [292] Shokouh Ahmadi, Atefeh Razazan, Ravinder Nagpal, Shalini Jain, Bo Wang, Sidharth P Mishra, Shaohua Wang, Jamie Justice, Jingzhong Ding, Donald A McClain, Stephen B Kritchevsky, Dalane Kitzman, and Hariom Yadav. Metformin reduces aging-related leaky gut and improves cognitive function by beneficially modulating gut microbiome/goblet cell/mucin axis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 75(7):e9–e21, Jun 2020.
- [293] Annette Brandt, Angélica Hernández-Arriaga, Richard Kehm, Victor Sánchez, Cheng Jun Jin, Anika Nier, Anja Baumann, Amélia Camarinha-Silva, and Ina Bergheim. Metformin attenuates the onset of non-alcoholic fatty liver disease and affects intestinal microbiota and barrier in small intestine. *Sci Rep*, 9(1):6668, Apr 2019.
- [294] Zikai Hao, Leyuan Li, Zhibin Ning, Xu Zhang, Janice Mayne, Kai Cheng, Krystal Walker, Hong Liu, and Daniel Figeys. Metaproteomics reveals growth phase-dependent responses of an in vitro gut microbiota to metformin. *J Am Soc Mass Spectrom*, 31(7):1448–1458, Jul 2020.
- [295] Dorines Rosario, Rui Benfeitas, Gholamreza Bidkhori, Cheng Zhang, Mathias Uhlen, Saeed Shoaie, and Adil Mardinoglu. Understanding the representative gut microbiota dysbiosis in metformin-treated type 2 diabetes patients using genome-scale metabolic modeling. *Front Physiol*, 9:775, 2018.
- [296] Rosina Pryor, Povilas Norvaisas, Georgios Marinos, Lena Best, Louise B Thingholm, Leonor M Quintaneiro, Wouter De Haes, Daniela Esser, Silvio Waschina, Celia Lujan, Reuben L Smith, Timothy A Scott, Daniel Martinez-Martinez, Orla Woodward, Kevin Bryson, Matthias Laudes, Wolfgang Lieb, Riekelt H Houtkooper, Andre Franke, Liesbet Temmerman, Ivana Bjedov, Helena M Cochemé, Christoph Kaleta, and Filipe Cabreiro. Host-microbe-drug-nutrient screen identifies bacterial effectors of metformin therapy. *Cell*, 178(6):1299–1312, Sep 2019.
- [297] Yujin Lee, Andrew HyoungJin Kim, Eunwoo Kim, SeungHwan Lee, Kyung-Sang Yu, In-Jin Jang, Jae-Yong Chung, and Joo-Youn Cho. Changes in the gut microbiome influence the hypoglycemic effect of metformin through the altered metabolism of branched-chain and nonessential amino acids. *Diabetes Res Clin Pract*, 178:108985, Aug 2021.

- [298] Wei-Wen Hung, Po Peng, Yi-Chun Tsai, Pei-Syuan Jhou, Chen-Chia Chang, Ching-Chun Hsieh, Yong-Chao Su, Chia-Yen Dai, and Wei-Chun Hung. Gut microbiota compositions and metabolic functions in type 2 diabetes differ with glycemic durability to metformin monotherapy. *Diabetes Res Clin Pract*, 174:108731, Apr 2021.
- [299] Filipe De Vadder, Petia Kovatcheva-Datchary, Daisy Goncalves, Jennifer Vinera, Carine Zitoun, Adeline Duchamp, Fredrik Bäckhed, and Gilles Mithieux. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 156(1-2):84–96, Jan 2014.
- [300] Jens Juul Holst, Lærke Smidt Gasbjerg, and Mette Marie Rosenkilde. The role of incretins on insulin function and glucose homeostasis. *Endocrinology*, 162(7), Jul 2021.
- [301] Daniel J Sansome, Cong Xie, Simon Veedfald, Michael Horowitz, Christopher K Rayner, and Tongzhi Wu. Mechanism of glucose-lowering by metformin in type 2 diabetes: Role of bile acids. *Diabetes Obes Metab*, 22(2):141–148, Feb 2020.
- [302] Alexandra Zhernakova, Alexander Kurilshikov, Marc Jan Bonder, Etti F Tigchelaar, Melanie Schirmer, Tommi Vatanen, Zlatan Mujagic, Arnau Vich Vila, Gwen Falony, Sara Vieira-Silva, Jun Wang, Floris Imhann, Eelke Brandsma, Soesma A Jankipersadsing, Marie Joossens, Maria Carmen Cenit, Patrick Deelen, Morris A Swertz, Rinse K Weersma, Edith J M Feskens, Mihai G Netea, Dirk Gevers, Daisy Jonkers, Lude Franke, Yurii S Aulchenko, Curtis Huttenhower, Jeroen Raes, Marten H Hofker, Ramnik J Xavier, Cisca Wijmenga, and Jingyuan Fu. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science*, 352(6285):565–569, Apr 2016.
- [303] Janis Kuka, Melita Videja, Marina Makrecka-Kuka, Janis Liepins, Solveiga Grinberga, Eduards Sevostjanovs, Karlis Vilks, Edgars Liepinsh, and Maija Dambrova. Metformin decreases bacterial trimethylamine production and trimethylamine n-oxide levels in db/db mice. *Sci Rep*, 10(1):14555, Sep 2020.
- [304] Chunyan Su, Xingxing Li, Yuxin Yang, Yu Du, Xiumin Zhang, Li Wang, and Bin Hong. Metformin alleviates choline diet-induced tmao elevation in c57bl/6j mice by influencing gut-microbiota composition and functionality. *Nutr Diabetes*, 11(1):27, Jul 2021.
- [305] Elena Maria Seicaru, Ioana Rada Popa Ilie, Adrian Cătinean, Alexandra Marioara Crăciun, and Cristina Ghervan. Enhancing metformin effects by adding gut microbiota modulators to ameliorate the metabolic status of obese, insulin-resistant hosts. *J Gastrointest Liver Dis*, 31(3):344–354, Sep 2022.
- [306] Ara Koh, Louise Mannerås-Holm, Na-Oh Yunn, Peter M Nilsson, Sung Ho Ryu, Antonio Molinaro, Rosie Perkins, J Gustav Smith, and Fredrik Bäckhed. Microbial imidazole propionate affects responses to metformin through p38-dependent inhibitory ampk phosphorylation. *Cell Metab*, 32(4):643–653, Oct 2020.
- [307] Fabrice Bonnet and André Scheen. Understanding and overcoming metformin gastrointestinal intolerance. *Diabetes Obes Metab*, 19(4):473–481, Apr 2017.

- [308] Cristina Ma Díaz-Perdigones, Araceli Muñoz-Garach, María Dolores Álvarez-Bermúdez, Isabel Moreno-Indias, and Francisco J Tinahones. Gut microbiota of patients with type 2 diabetes and gastrointestinal intolerance to metformin differs in composition and functionality from tolerant patients. *Biomed Pharmacother*, 145:112448, Jan 2022.
- [309] Hanako Nakajima, Fumie Takewaki, Yoshitaka Hashimoto, Shizuo Kajiyama, Saori Majima, Hiroshi Okada, Takafumi Senmaru, Emi Ushigome, Naoko Nakanishi, Masahide Hamaguchi, Masahiro Yamazaki, Yoshiki Tanaka, Yousuke Oikawa, Shunji Nakajima, Hiroshi Ohno, and Michiaki Fukui. The effects of metformin on the gut microbiota of patients with type 2 diabetes: A two-center, quasi-experimental study. *Life (Basel)*, 10(9), Sep 2020.
- [310] M Stumvoll, N Nurjhan, G Perriello, G Dailey, and J E Gerich. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 333(9):550–554, Aug 1995.
- [311] Group Diabetes Prevention Program Research. Long-term safety, tolerability, and weight loss associated with metformin in the diabetes prevention program outcomes study. *Diabetes Care*, 35(4):731–737, Apr 2012.
- [312] Armen Yerevanian and Alexander A Soukas. Metformin: Mechanisms in human obesity and weight loss. *Curr Obes Rep*, 8(2):156–164, Jun 2019.
- [313] Varuni Asanka de Silva, Chathurie Suraweera, Suhashini S Ratnatunga, Madhubashinee Dayabandara, Nimali Wanniarachchi, and Raveen Hanwella. Metformin in prevention and treatment of antipsychotic induced weight gain: a systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry*, 16(1):341, Oct 2016.
- [314] S Mäkimmattila, K Nikkilä, and H Yki-Järvinen. Causes of weight gain during insulin therapy with and without metformin in patients with type ii diabetes mellitus. *Diabetologia*, 42(4):406–412, Apr 1999.
- [315] A Lee and J E Morley. Metformin decreases food consumption and induces weight loss in subjects with obesity with type ii non-insulin-dependent diabetes. *Obes Res*, 6(1):47–53, Jan 1998.
- [316] H Yki-Järvinen, K Nikkilä, and S Mäkimmattila. Metformin prevents weight gain by reducing dietary intake during insulin therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 58 Suppl 1:53–54, 1999.
- [317] Ichiro Tokubuchi, Yuji Tajiri, Shimpei Iwata, Kento Hara, Nobuhiko Wada, Toshihiko Hashinaga, Hitomi Nakayama, Hiroharu Mifune, and Kentaro Yamada. Beneficial effects of metformin on energy metabolism and visceral fat volume through a possible mechanism of fatty acid oxidation in human subjects and rats. *PLoS One*, 12(2):e0171293, 2017.
- [318] Hashim Islam, Logan K Townsend, Greg L McKie, Philip J Medeiros, Brendon J Gurd, and Tom J Hazell. Potential involvement of lactate and interleukin-6 in the appetite-regulatory hormonal response to an acute exercise bout. *J Appl Physiol (1985)*, 123(3):614–623, Sep 2017.

- [319] Madhu Chari, Carol K L Lam, Penny Y T Wang, and Tony K T Lam. Activation of central lactate metabolism lowers glucose production in uncontrolled diabetes and diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 57(4):836–840, Apr 2008.
- [320] Carol K L Lam, Madhu Chari, Penny Y T Wang, and Tony K T Lam. Central lactate metabolism regulates food intake. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295(2):E491–6, Aug 2008.
- [321] Andrew J Mulherin, Amy H Oh, Helena Kim, Anthony Grieco, Lina M Lauffer, and Patricia L Brubaker. Mechanisms underlying metformin-induced secretion of glucagon-like peptide-1 from the intestinal l cell. *Endocrinology*, 152(12):4610–4619, Dec 2011.
- [322] John B Buse, Ralph A DeFronzo, Julio Rosenstock, Terri Kim, Colleen Burns, Sharon Skare, Alain Baron, and Mark Fineman. 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*, 39(2):198–205, Feb 2016.
- [323] Fleur Lien, Alexandre Berthier, Emmanuel Bouchaert, Céline Gheeraert, Jeremy Alexandre, Geoffrey Porez, Janne Prawitt, Hélène Dehondt, Maheul Ploton, Sophie Colin, Anthony Lucas, Alexandre Patrice, François Pattou, Hélène Diemer, Alain Van Dorsselaer, Christophe Rachez, Jelena Kamilic, Albert K Groen, Bart Staels, and Philippe Lefebvre. Metformin interferes with bile acid homeostasis through ampk-fxr crosstalk. *J Clin Invest*, 124(3):1037–1051, Mar 2014.
- [324] Rune E Kuhre, Nicolai J Wewer Albrechtsen, Olav Larsen, Sara L Jepsen, Emilie Balk-Møller, Daniel B Andersen, Carolyn F Deacon, Kristina Schoonjans, Frank Reimann, Fiona M Gribble, Reidar Albrechtsen, Bolette Hartmann, Mette M Rosenkilde, and Jens J Holst. Bile acids are important direct and indirect regulators of the secretion of appetite- and metabolism-regulating hormones from the gut and pancreas. *Mol Metab*, 11:84–95, May 2018.
- [325] Frank A Duca, Clémence D Côté, Brittany A Rasmussen, Melika Zadeh-Tahmasebi, Guy A Rutter, Beatrice M Filippi, and Tony K T Lam. Metformin activates a duodenal ampk-dependent pathway to lower hepatic glucose production in rats. *Nat Med*, 21(5):506–511, May 2015.
- [326] Yung-Cheng Huang, Chien-Chin Hsu, Wei-Che Lin, Tang-Kai Yin, Chi-Wei Huang, Pei-Wen Wang, Han-Hsuan Chang, and Nan-Tsing Chiu. Effects of metformin on the cerebral metabolic changes in type 2 diabetic patients. *ScientificWorldJournal*, 2014:694326, 2014.
- [327] Sanne de Wit, Philip R Corlett, Mike R Aitken, Anthony Dickinson, and Paul C Fletcher. Differential engagement of the ventromedial prefrontal cortex by goal-directed and habitual behavior toward food pictures in humans. *J Neurosci*, 29(36):11330–11338, Sep 2009.
- [328] Claudia I Huerta, Pooja R Sarkar, Timothy Q Duong, Angela R Laird, and Peter T Fox. Neural bases of food perception: coordinate-based meta-analyses of neuroimaging studies in multiple modalities. *Obesity (Silver Spring)*, 22(6):1439–1446, Jun 2014.

- [329] Yale Duan, Rui Zhang, Min Zhang, Lijuan Sun, Suzhen Dong, Gang Wang, Jun Zhang, and Zheng Zhao. Metformin inhibits food intake and neuropeptide y gene expression in the hypothalamus. *Neural Regen Res*, 8(25):2379–2388, Sep 2013.
- [330] Darko Stevanovic, Kristina Janjetovic, Maja Misirkic, Ljubica Vucicevic, Mirjana Sumarac-Dumanovic, Dragan Micic, Vesna Starcevic, and Vladimir Trajkovic. Intracerebroventricular administration of metformin inhibits ghrelin-induced hypothalamic amp-kinase signalling and food intake. *Neuroendocrinology*, 96(1):24–31, 2012.
- [331] Elisa Lazzaroni, Moufida Ben Nasr, Cristian Loretelli, Ida Pastore, Laura Plebani, Maria Elena Lunati, Luciana Vallone, Andrea Mario Bolla, Antonio Rossi, Laura Montefusco, Elio Ippolito, Cesare Berra, Francesca D’Addio, Gian Vincenzo Zuccotti, and Paolo Fiorina. Anti-diabetic drugs and weight loss in patients with type 2 diabetes. *Pharmacol Res*, 171:105782, Sep 2021.
- [332] Xiaopeng Zhu, Hongmei Yan, Mingfeng Xia, Xinxia Chang, Xi Xu, Liu Wang, Xiaoyang Sun, Yan Lu, Hua Bian, Xiaoying Li, and Xin Gao. Metformin attenuates triglyceride accumulation in hepg2 cells through decreasing stearyl-coenzyme a desaturase 1 expression. *Lipids Health Dis*, 17(1):114, May 2018.
- [333] Brennan K Smith, Katarina Marcinko, Eric M Desjardins, James S Lally, Rebecca J Ford, and Gregory R Steinberg. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease: role of ampk. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 311(4):E730–E740, Oct 2016.
- [334] Matthew James Armstrong, Piers Gaunt, Guruprasad P Aithal, Darren Barton, Diana Hull, Richard Parker, Jonathan M Hazlehurst, Kathy Guo, George Abouda, Mark A Aldersley, Deborah Stocken, Stephen C Gough, Jeremy W Tomlinson, Rachel M Brown, Stefan G Hübscher, and Philip N Newsome. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (lean): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet*, 387(10019):679–690, Feb 2016.
- [335] Takahiro Takase, Akinobu Nakamura, Hideaki Miyoshi, Chiho Yamamoto, and Tatsuya Atsumi. Amelioration of fatty liver index in patients with type 2 diabetes on ipragliflozin: an association with glucose-lowering effects. *Endocr J*, 64(3):363–367, Mar 2017.
- [336] Dan Yang, Qiuda Zheng, Phong K Thai, Fahad Ahmed, Jake W O’Brien, Jochen F Mueller, Kevin V Thomas, and Ben Tscharke. A nationwide wastewater-based assessment of metformin consumption across australia. *Environ Int*, 165:107282, Jul 2022.
- [337] Yuanzhen He, Yanyan Zhang, and Feng Ju. Metformin contamination in global waters: Biotic and abiotic transformation, byproduct generation and toxicity, and evaluation as a pharmaceutical indicator. *Environ Sci Technol*, 56(19):13528–13545, Oct 2022.
- [338] Akash Balakrishnan, Mika Sillanpää, Meenu Mariam Jacob, and Dai-Viet N Vo. Metformin as an emerging concern in wastewater: Occurrence, analysis and treatment methods. *Environ Res*, 213:113613, Oct 2022.
- [339] Eliane Papa Ambrosio-Albuquerque, Luis Fernando Cusioli, Rosângela Bergamasco, Adriana Aparecida Sinópolis Gigliolli, Luara Lupepsa, Brennda Ribeiro Paupitz, Pablo Américo Barbieri, Luciana Andreia Borin-Carvalho, and Ana Luiza de Brito

- Portela-Castro. Metformin environmental exposure: A systematic review. *Environ Toxicol Pharmacol*, 83:103588, Apr 2021.
- [340] John L Wilkinson and et al Boxall. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 119(8), Feb 2022.
- [341] Gustavo Axel Elizalde-Velázquez and Leobardo Manuel Gómez-Oliván. Occurrence, toxic effects and removal of metformin in the aquatic environments in the world: Recent trends and perspectives. *Sci Total Environ*, 702:134924, Feb 2020.
- [342] Nicholas J Niemuth and Rebecca D Klaper. Low-dose metformin exposure causes changes in expression of endocrine disruption-associated genes. *Aquat Toxicol*, 195:33–40, Feb 2018.
- [343] Susana Barros, Nélon Alves, Marlene Pinheiro, Marta Ribeiro, Hugo Morais, Rosa Montes, Rosario Rodil, JoséBenito Quintana, Ana M Coimbra, Miguel M Santos, and Teresa Neuparth. Are fish populations at risk? metformin disrupts zebrafish development and reproductive processes at chronic environmentally relevant concentrations. *Environ Sci Technol*, 57(2):1049–1059, Jan 2023.
- [344] Jessica Phillips, Camille Akemann, Jeremiah N Shields, Chia-Chen Wu, Danielle N Meyer, Bridget B Baker, David K Pitts, and Tracie R Baker. Developmental phenotypic and transcriptomic effects of exposure to nanomolar levels of metformin in zebrafish. *Environ Toxicol Pharmacol*, 87:103716, Oct 2021.
- [345] Susana Barros, Marta Ribeiro, Ana M Coimbra, Marlene Pinheiro, Hugo Morais, Nélon Alves, Rosa Montes, Rosario Rodil, JoséBenito Quintana, Miguel M Santos, and Teresa Neuparth. Metformin disrupts danio rerio metabolism at environmentally relevant concentrations: A full life-cycle study. *Sci Total Environ*, 846:157361, Nov 2022.
- [346] Tao Li, Zhi-Jing Xu, and Ning-Yi Zhou. Aerobic degradation of the antidiabetic drug metformin by aminobacter sp. strain nyz550. *Environ Sci Technol*, Jan 2023.