

**Retrospektiv studie som gäller
sambandet mellan långtidsbehandling
med metformin och plasma-
koncentration av kobalamin
(B12- vitamin) hos patienter med
diabetes mellitus typ 2**

Rafal Nowicki, ST-läkare VC Dalbo

rafal.nowicki@kronoberg.se

Handledare: Yasir Mahdi, specialist
allmänmedicin, VC Dalbo

Hans Thulesius, professor i allmänmedicin,
Linnéuniversitetet

Sven Tågerud, professor, Linnéuniversitetet

Mattias Rööst, FoU-handledare, med.dr,
specialist allmänmedicin

Sammanfattning

Retrospektiv studie av sambandet mellan långtidsbehandling med metformin och blodkoncentration av kobalamin. Studie av två patientgrupper som behandlades för diabetes mellitus typ 2 på VC Dalbo i Växjö under perioden 2011 till 2021. I denna studie jämfördes kobalaminvärde i två patientgrupper som hade pågående behandling för diabetes mellitus typ 2. Den ena gruppen hade behandling med metformin under minst 6 månader. Den andra gruppen hade kostbehandling och/eller behandling med andra diabetesläkemedel.

I studien ingick 60 patienter i gruppen som behandlats med metformin och 58 patienter i gruppen som behandlats med andra diabetesläkemedel eller endast kostbehandling. Totalt 118 patienter ingick i studien.

Analys med ANOVA parametric distribution test (datorprogram Statistica). visade statistisk signifikant skillnad i uppmätt medelvärde av kobalamin mellan patientgrupp behandlad med metformin jämfört med den patientgrupp som behandlats med andra blodsockersänkande läkemedel eller kostbehandling (patienter med insulinbehandling exkluderades). Medelvärde för Kobalamin-nivå i patientgruppen som behandlats med metformin var $272,0 \pm 114,6$ pmol/L. Medelvärde för kobalaminnivå i patientgruppen som behandlats med andra diabetesläkemedel och kostbehandling var $323,6 \pm 115,4$ pmol/L. Skillnaden mellan grupperna var statistiskt signifikant ($p=0,016$).

Den genomförda studien visade att de patienter som behandlats med metformin hade i genomsnitt 16 procent lägre kobalaminnivåer än patienter som behandlats med andra diabetesläkemedel eller kostbehandling.

Innehåll

Introduktion	3
Syfte	5
Material och metod	6
Studiepopulation/urval	6
Metoder	7
Etik	8
Tidsplan	8
Finansiering	8
Resultat	9
Diskussion	12
Slutsats	13
Referenser	14

Introduktion

Metformin spelar fortfarande roll som basbehandling för diabetes typ 2 i Sverige men också i hela världen. Det är därför viktigt att vara medveten om negativa effekter relaterade till metforminbehandling särskilt då de flesta patienter använder metformin under långa tidsperioder.

Långtidsbehandling med metformin kan leda till lägre koncentration av kobalamin i blodet genom att minska absorption av kobalamin i tarmarna. I vissa studier har man sett att Metformin kan inducera malabsorption av kobalamin och intrinsic factor i tunntarmen (1,8,13).

Metforminbehandling kan sannolikt även leda till förändring i bakterifloran i tarmen, påverka tarmmotorik och inducera förändringar i vävnadsstrukturer i tarmen. (10)

Den negativa effekten av långtidsbehandling med metformin på kobalaminnivå kvarstår över tid. Kobalaminnivå sjunker mest under de första 4 månaderna av behandling med metformin men sedan minskar den effekten (8).

I samband med vitamin B12-brist och folatbrist har det noterats en ökning av homocystein efter korttidsbehandling med metformin (16 veckor). Resultatet från tidigare studier visar att metforminbehandling leder till signifikant minskad blodkoncentration av kobalamin men effekten på homocystein är inte signifikant. Det kan troligtvis bero på ganska låg frekvens av kobalaminbrist som patienter kan utveckla under behandling med metformin. (8,13)

Kobalamin har en signifikant roll i homocysteinmetabolismen i kroppen. Kobalamin spelar också en roll som kofaktor (katalysator) i remetylering av homocystein till methionin (1,5,13).

Genom ovanstående mekanism kan brist på kobalamin leda till förhöjt homocysteinvärde. Hyperhomocysteinemi är riskfaktor för åderförkalkning som rökning, ökad kolesterol, förhöjt blodsockervärde och förhöjt blodtryck (1,4,5).

Enligt nya studier är hyperhomocysteinemi indikator för cerebrovaskulär och kranskärslsjukdom eller dysfunktion och substitutionsbehandling med B12-vitamin och folat kan minska

homocysteinnivå i kroppen men inte minska risken för akut hjärtinfarkt eller hjärninfarkt i sekundär prevention (5).

Homocystein leder till endotelskada genom att öka proliferationsprocessen i den glatta kärlmuskulaturen och ökar samtidigt kollagensyntesen i kärlstrukturen. Hyperhomocysteinemi leder till endotelskada, minskar elasticitet i blodkärlen och försämrar deras diastolisk funktion (5, 9)

Hög homocysteinnivå leder också till hemostasrubbingar, stimulerar monocyter och T-lymfocytens bindning till endotelceller, aktiverar proteinkinas C, stimulerar tromboxan A₂ och inducerar trombocyttaggregation. Hög homocysteinnivå korrelerar med trombocytaktivering genom att reducera deras NO nivå och fungerar som självständig riskfaktor för åderförkalkningsprocesser i kärlen (9).

Hög homocysteinnivå korrelerar också med diabetesretinopati och sannolikt korrelerar det även med förhöjd risk för kranskärlssjukdom och cerebrovaskulär sjukdom (1,6) då det leder till förändring i genexpression i endotelceller som leder till acceleration av åderförkalkning (6).

Långtidsbrist på kobalamin kan leda till makrocytär anemi, neuropati och även till mentala och kognitiva störningar (8, 10).

Enligt olika studier korrelerar förhöjt homocystein, och andra kobalaminrelaterade metaboliter som MMA, bra med kobalamin brist. Det föreslås att man mäter homocystein eller MMA istället för kobalamin för att utreda symtomatisk kobalaminbrist (10).

Metformin kan, genom kobalaminbrist, leda till exacerbation av perifer neuropati hos personer med diabetes. Periodisk kontroll av kobalamin eller homocystein samtidigt med supplementering av kobalamin hos dem som har noterat brist vid behandling med metformin kan förebygga perifer neuropati (10).

Enligt prospektiv studie korrelerade kumulativ metformindos med kobalaminvärde i blodet (Spearman = -0,41 , $p < 0,001$) och med perifera neuropatisymtom (Spearman = 0,8, $p < 0,001$) (10). Insulinbehandling kan också leda till hyperhomocysteinemi troligen genom att insulin dämpar cystathionin-beta syntas aktivitet i lever som leder till ökning av homocystein (1).

Syfte

Att undersöka samband mellan långtidsbehandling med metformin och blodkoncentration av kobalamin.

Material och metod

Patientdata är hämtade från journalsystemet Cambio Cosmic samt det medicinska registret Medrave. Kontroller gällande inklusions- och exklusionskriterier är genomförda i Cambio Cosmic journalsystem för alla deltagande patienter

Följande patientinformation är insamlad från databasen Medrave/Cosmic:

- Ålder
- Kön
- Diabetesbehandling
- Kobalaminvärde
- GFR/kreatinin
- HbA1c
- Tobaksbruk (rökning, snus).

I gruppen som behandlas med metformin är ytterligare uppgifter insamlade från Medrave/Cosmic:

- Behandlingstart av metformin
- Behandlingstid med metformin före kontroll av kobalaminvärde
- Dygnsdos av metformin under behandlingen.

Mätning av statistisk skillnad i kobalaminvärde är analyserat i de båda grupperna. Analysmetod för Statistiskt test är genomfört med ANOVA parametric distribution test i ”Statistica” datorprogram. En hypotes var att kobalaminbrist oftare drabbar patienter behandlade med metformin jämfört med dem som enbart kostbehandlades eller fick annan läkemedelsbehandling exklusive insulin. Hypotesen testades med Pearsons Chi²test i ”Statistica” datorprogram.

Studiepopulation/urval

Retrospektiv studie av 640 patienter som haft diabetes mellitus typ 2 under perioden 2011 till 2021 och som var listade på Dalbo Vårdcentral i Växjö.

Efter datainsamling och bedömning enligt inklusions och exklusionskriterier ingick i studien 60 patienter i grupp som behandlats med metformin. 58 patienter ingick i grupp som behandlats med andra diabetesläkemedel eller kostbehandling. Patienter med insulinbehandling ingick inte studien. Totalt ingick 118 patienter i studien.

Metoder

Metoden är en retrospektiv studie av två patientgrupper som behandlats för diabetes mellitus typ 2 på VC Dalbo i Växjö.

I denna studie jämförs två patientgrupper som hade pågående behandling för diabetes mellitus typ 2. Den ena gruppen hade behandling med metformin under minst 6 månader. Den andra gruppen hade kostbehandling och/eller behandling med andra diabetesläkemedel.

Patienter med insulinbehandling exkluderades från studien.

Inklusionskrav för studien var också att patienterna sedan tidigare skulle haft ett kontrollerat kobalaminvärde. I metformingruppen inkluderades bara de patienterna som hade ett kontrollerat kobalaminvärde efter minst 6 månader behandling med metformin.

Inklusionskriterier:

1. Patienter behandlade för diabetes mellitus typ 2 på VC Dalbo de senaste 10 åren
2. Patienter med tidigare kontrollerade kobalaminvärde under behandling. Kontroll av kobalamin minst 6 månader efter insättande av metformin (gäller metformingruppen).

Exklusionskriterier:

1. Cancersjukdom (pågående eller tidigare i sjukdomshistorien)
2. Patient behandlad med insulin (pågående eller tidigare i livet)
3. Kronisk njursvikt med kreatinin >120 $\mu\text{mol/l}$
4. Tidigare gastric-bypass opererad
5. Patienter med kronisk inflammatorisk tarmsjukdom eller glutenintolerans
6. Patient med supplement av B12-vitamin (pågående eller tidigare i livet)
7. Patienter som använde calciumpreparat inom metformingruppen
8. Alkoholberoende patient (aktuellt eller tidigare i anamnesen).
9. Tobaksbruk (rökning, snus).

Etik

Retrospektiv studie som baserade sig på historisk datainsamling. Studien krävde ingen vetenskaplig etikprövning eftersom den var ett studentarbete. Dataanalys gjordes i excelfiler utan personuppgifter. Datainsamling gjordes i lösenordsskyddad dator på VC Dalbo kopplad till intranät i Region Kronoberg.

Tidsplan

Planering av vetenskaparbete: första planering under Vetenskaplig kurs maj/juni 2018 sedan korrigerig och senaste validering av planen i februari 2021.

- Datainsamling under perioden från 08 mars 2021 till 24 mars 2021.
- Dataanalys från 24 mars 2021 till 21 april 2021.
- Redigering av manuskript från 21 april 2021 till 18 oktober 2021.

Finansiering

Retrospektiv studie under ST-utbildning på VC Dalbo i Region Kronoberg. Studien behövde ingen extra finansiering. Studien ingår i vetenskaplig utbildning under pågående specialiseringstjänstgöring i allmänmedicin.

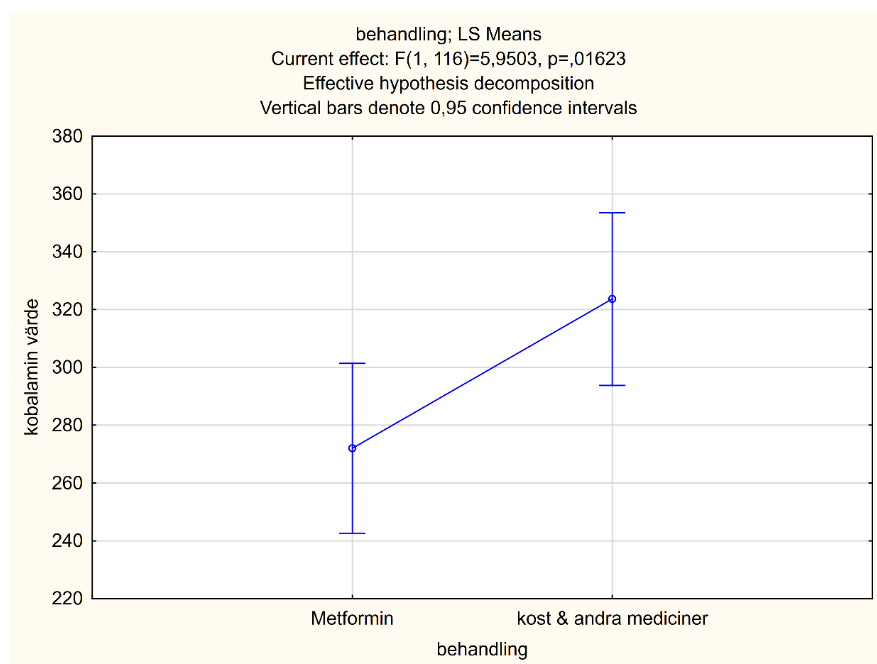
Resultat

En statistisk analys med ANOVA parametric distribution test påvisade statistisk signifikant skillnad i uppmätt medelvärde av kobalamin mellan patientgrupp behandlad med metformin jämfört med den patientgrupp som behandlats med andra blodsockersänkande läkemedel eller kostbehandling (patienter med insulinbehandling exkluderades).

Medelvärde för Kobalaminnivå i första patientgruppen som behandlats med metformin var 272 ± 115 pmol/L,

Medelvärde för kobalaminnivå i patientgruppen som behandlats med andra diabetesläkemedel och kostbehandling var 324 ± 115 pmol/L. Skillnaden mellan grupperna var statistiskt signifikant ($p=0,016$).

Den genomförda studien visar att de patienter som behandlats med metformin hade genomsnitt 16 procent lägre kobalaminnivåer i medelvärde än patienter som behandlats med andra diabetesläkemedel eller kostbehandling.



Figur 1. Behandling

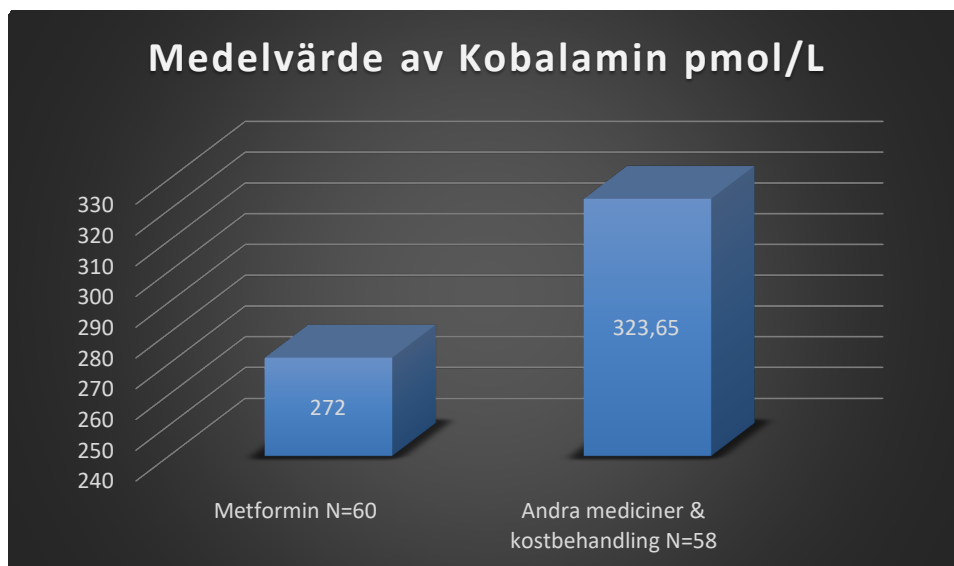


Diagram 1. Medelvärde av Kobalamin pmol/L

Antal patient med kobalaminbrist var högre i den patientgrupp som fick behandling med metformin (47 %) än hos patienter behandlade med andra mediciner eller kostbehandlade (27 %). Se Tabell 1 nedan.

Tabell 1.

Behandling	Antal patient med kobalaminbrist <250 pmol/L	Antal patient med normalt kobalaminvärde ≥250 pmol/L	% patient med kobalaminbrist kobalamin <250 pmol/L	% patient med normalt kobalaminvärde ≥250 pmol/L
Metformin	28	32	47 %	53 %
Kost & andra mediciner	16	42	28 %	72 %

Hypotesen att kobalaminbrist oftare drabbade patienter behandlade med metformin jämfört med dem som står på enbart kostbehandling eller icke metformin behandling exklusiv insulin testades med Pearsons Chi²-test. Statistisk analys påvisade att kobalaminbrist förekom oftare hos patienter behandlade med metformin än på den grupp som inte hade metformin $p < 0,05$ ($p = 0,032$). Se Diagram 2 nästa sida.

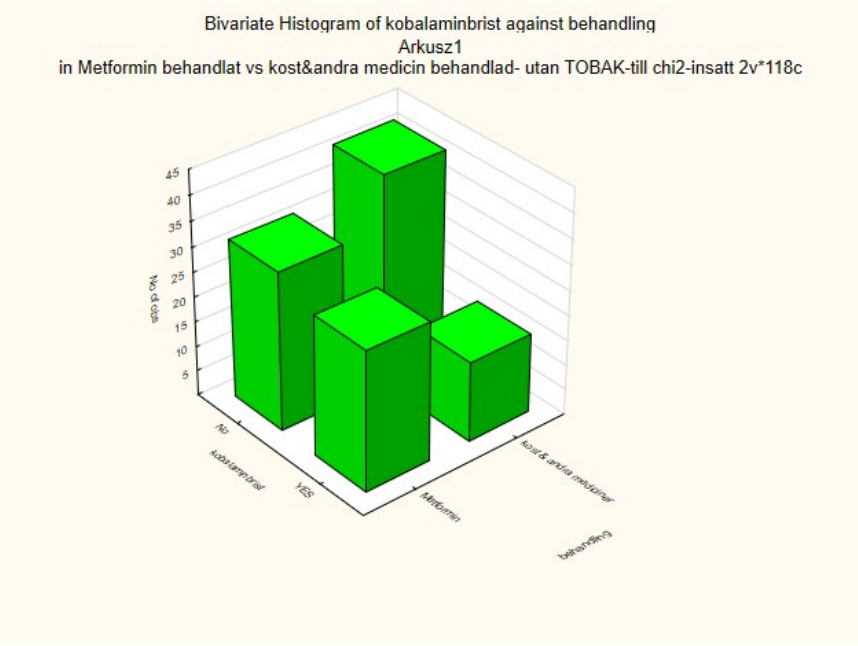


Diagram 2.

Diskussion

Denna studie undersökte kobalaminvärde för patienter med diabetes med och utan metformin-behandling och fann lägre kobalaminvärden hos gruppen med metforminbehandling. Kobalamin-brist förekom också signifikant oftare hos patienter behandlade med metformin än hos gruppen med kostbehandling eller andra läkemedel än metformin.

Resultatet gäller den patientgrupp jag träffar på vårdcentralen. I gruppen ingår patienter från olika etniska grupper men studien kan inte förklara på vilket sätt det påverkat resultatet.

På grund av metodiken är det svårt att bedöma compliance för behandling med metformin. Vissa patienter tar inte mediciner regelbundet trots att de är ordinerade och läkemedlet finns på deras medicinlista. I studien ingår journaldata från vårdcentralens datasystem som inte är verifierad direkt med patienterna.

Studien kan inte ange på vilket sätt metformindos och total behandlingstid har påverkat resultatet. I studien ingick patienter behandlade med olika doseringsschema under olika tider från sex månader till flera år. Våra resultat liknar dem som framkommit i prospektiva studier (8, 10, 13).

I denna studie kontrollerades kobalaminvärdet hos patienter behandlade med metformin vs dem som inte tog metformin. I båda grupperna ingick patienter som också tog andra blodsocker-sänkande mediciner. På vilket sätt de andra mediciner påverkade kobalaminvärdet är oklart. Trots detta avviker resultatet inte från andra liknande studier (1,8,13).

Det är svårt att exkludera patienter som använde kosttillskott i denna studie. Hur många av dem som åt B12-vitamin eller calciumpreparat är svårt att bekräfta utan kontakt med patienter.

I denna studie är det svårt att bedöma patienters levnadsvanor och utesluta dem som dricker mycket alkohol eller röker cigaretter då samtliga uppgifter är baserade på datorjournalen. Vi har inte fått direkt bekräftelse att alla uppgifterna stämmer med verkligheten. Studien kan dra begränsade slutsatser på grund av att den bygger på mätning av ett särskilt ämne i blodet dvs kobalamin. Vi har mätt totalt kobalamin nivå utan kontroll av holotranskobalamin II eller MMA

(metylmalonic acid). Vi har inte kollat homocystein i blodet trots att deras nivå korrelerar bra med symtom på B12 brist. (referens 8)

Resultatet av studie är som andra tidigare undersökningar att metformin behandling korrelerar med låg kobalaminnivå. (8, 10)

Slutsats

Studien visar korrelation mellan metforminbehandling och lägre kobalaminnivå hos patienter med diabetes mellitus typ 2 jämfört med patienter utan metformin.

Det är rekommenderat att kontrollera kobalaminnivå hos patienter med diabetes som har långtidsbehandling med metformin, särskilt hos dem som har symtom på kobalaminbrist eller hos dem som har andra riskfaktorer för låg kobalaminnivå (alkoholberoende, kronisk inflammatorisk tarmsjukdom, gastric bypass-operation). De patienter som har lågt kobalamin – under referensnivå – bör få supplement med B12 preparat (5,8,10,15)

Referenser

- 1) Borowska M, Dworacka M, Winiarska H, Krzyżagórska E. Homocysteine as a non-classical risk factor for atherosclerosis in relation to pharmacotherapy of type 2 diabetes mellitus. *Acta Biochim Pol.* 2017;64(4):603-607.
- 2) Sato Y, Ouchi K, Funase Y, Yamauchi K, Aizawa T. Relationship between metformin use, vitamin B12 deficiency, hyperhomocysteinemia and vascular complications in patients with type 2 diabetes. *Endocr J.* 2013;60(12):1275-80.
- 3) Roy RP, Ghosh K, Ghosh M, Acharyya A, Bhattacharya A, Pal M, Chakraborty S, Sengupta N. Study of Vitamin B12 deficiency and peripheral neuropathy in metformin-treated early Type 2 diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab.* 2016 Sep-Oct;20(5):631-637.
- 4) Qin X, Huo Y, Xie D, Hou F, Xu X, Wang X. Homocysteine-lowering therapy with folic acid is effective in cardiovascular disease prevention in patients with kidney disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr.* 2013 Oct;32(5):722-7.
- 5) Baszczuk A, Kopczynski Z (2014) Hyperhomocysteinemia in patients with cardiovascular disease. *Postęp Hig Med Dosw* 68: 579. Doi: 10.5604/17322693.1102340
- 6) Gurda D, Handschuh L, Kotkowiak W, Jakubowski H (2015) Homocysteine thiolactone and N-homocysteinylated protein induce pro-atherogenic changes in gene wxpression in human vascular endothelial cells, *Amino Acids* 47: 1319-1339. Doi: 10.1007/s00726-015-1956-7
- 7) Guthiconda S, Haynes WG (2006) Homocysteine: role and implications in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 8: 100-106
- 8) Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffele MG, van der Kolk J, Bets D, Verburg J, Donker AJ, Stehouwer CD (2010) Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency, randomized placebo controlled trial. *BMJ* 340: 2181. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.c2181>
- 9) Signorello MG, Segantin A, Passalacqua M, Leoncini G (2009) Homocysteine decreased platelet NO level via protein Kinase C activation. *Nitric Oxide* 20: 104-113. doi: 10.1016/j.niox.2008.11.005
- 10) Wile DJ, Toth C (2010) Association of metformin, elevated homocysteine and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care* 33: 156-161. doi: 10.2337/dc09-0606

- 11) Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ, Mackaay AJ, Jakobs C, Bouter LM, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: A population-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:133-8. (PubMed: 9445267)
- 12) Carlsen SM, Folling I, Grill V, Bjerve KS, Schneede J, refsum H. Metformin increases total serum homocysteine levels in non-diabetic male patients with coronary heart disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 1997;57:521-7. (PubMed: 9350072)
- 13) Wulffele MG, Kooy A, Lehert P, Bets D, Ogterop JC, Borger van der Burg B, et al. Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and Vitamin B-12 in type 2 diabetes mellitus: A randomized, placebo-controlled trial. *J Intern Med.* 2003;254:455-63. (PubMed: 14535967)
- 14) Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Montgomery DA, Vitamin B12 status of patients on long-term metformin therapy. *Br Med J.* 1971;2:685-7. (PubMed: 5556053)
- 15) Kibirige D, Mwebaze R. Vitamin B12 deficiency among patients with diabetes mellitus: Is routine screening and supplementation justified? *J Diabetes Metab Disord.* 2013;12:17. (PubMed: 23651730)
- 16) Liu KW, Dai LK, Woo J. Metformin related Vitamin B12 deficiency. *Oxf J Med Age Ageing.* 2006;35:200-2.
- 17) Reinstatler L, Qi YP, Williamson RS, Garn JV, Oakley GP, Jr Association of biochemical B12 deficiency with metformin therapy and Vitamin B12 supplements: The National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care.* 2012;35:327-33. (PubMed: 22179958)
- 18) Chen S, Lansdown JA, Moat SJ, Ellis R, Goringe A, Dunstan DF, et al. An observational study of the effect of metformin on B12 status and peripheral neuropathy. *Br J Diabetes Vascular Dis.* 2012;12:189-93.
- 19) Pierce SA, Chung AH, Black KK. Evaluation of Vitamin B12 monitoring in a veteran population on long-term, high-dose metformin therapy. *Ann Pharmacother.* 2012;46:1470-6. (PubMed: 23115224)
- 20) Bell DS. Metformin-induced Vitamin B12 deficiency presenting as a peripheral neuropathy. *South Med J.* 2010;103:265-7. (PubMed: 20134380)
- 21) Kumthekar AA, Gidwani HV, kumthekar AB. Metformin associated B12 deficiency. *J Assoc Physicians India.* 2012;60:58-60. (PubMed: 22799121).