

L.G. Kraemer de Aguiar, C.M. Laflor, L. Bahia, N.R. Villela, N. Wiernsperger, D.A. Bottino, E. Bouskela

Department of Physiological Sciences, Laboratório de Pesquisas em Microcirculação, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Metformina a poprawa reaktywności skórných naczyń włosowatých u osób z zespołem metaboliczným i prawidłową wartością glikemii

Metformin improves skin capillary reactivity in normoglycaemic subjects with the metabolic syndrome

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetic Medicine* 2007; 24: 272–279

ABSTRACT

AIMS. Insulin resistance and a parental history of diabetes mellitus are independently associated with endothelial dysfunction. Oxidative stress has a pivotal role in the pathophysiology of vascular injury. Metformin, in addition to its glucose-lowering properties, has vasculoprotective effects. We investigated whether metformin has beneficial effects on the nutritive skin capillary circulation and decreases oxidative stress in a group at high risk for type 2 diabetes mellitus (T2DM) and cardiovascular disease.

METHODS. Thirty normoglycaemic subjects with the metabolic syndrome (MS), who had first-degree relatives with T2DM, participated. The mean age was 39.1 ± 8.4 years and body mass index (BMI) 35.7 ± 4.8 kg/m² (mean \pm SD). Subjects were randomized 1:1 to receive placebo (n = 14) or metformin (n = 16; 1700 mg/day) in a double-blind study. At

baseline and post treatment, blood and urine samples were collected for biochemical and 8-epi-prostaglandin F_{2α} (8-epi-PGF_{2α}) analysis, respectively. Microcirculation was assessed by nailfold videocapillaroscopy, analysing afferent (AF), efferent (EF) and apical (AP) diameters of capillary loops, functional capillary density (FCD), red blood cell velocity at rest (RBCV), after 1 min arterial occlusion (RBCV_{max}) and time (TRBCV_{max}) taken to reach it.

RESULTS. Groups did not differ significantly in anthropometric, clinical, laboratory or microvascular measurements at baseline. In the metformin group, weight, BMI, systolic blood pressure and fasting plasma glucose fell, and lipid profile and microcirculatory parameters FCD, AF, EF, AP, RBCV_{max} and TRBCV_{max} improved (all p < 0.01). No relationship between clinico-laboratory parameters and microvascular reactivity was observed, except for changes in total and lowdensity lipoprotein-cholesterol and RBCV_{max}. 8-epi-PGF_{2α} did not change significantly in either group.

CONCLUSIONS. Metformin improved skin capillary reactivity in normoglycaemic MS subjects independently of significant changes in 8-epi-PGF_{2α} levels.

Key words: metabolic syndrome, metformin, microvascular disease, oxidative stress

Adres do korespondencji: L.G. Kraemer de Aguiar
Rua Candido Mendes 279/303, Rio de Janeiro
RJ, CEP: 20241-220, Brazil
e-mail: gkraemer@ig.com.br
Diabetologia Praktyczna 2007, tom 8, 6, 238–247
Copyright © 2007 *Diabetes UK*
Tłumaczenie: lek. Ewa Węgrzynowicz
Wydanie polskie: VM Group, Grupa Via Medica

STRESZCZENIE

WSTĘP. Insulinooporność i rodzinne występowanie cukrzycy niezależnie wiążą się z dysfunkcją śródbłonna. Stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w patofizjologii uszkodzenia naczyń krwionośnych. Metformina, oprócz obniżania stężenia glukozy, działa ochronnie na naczynia. Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy metformina korzystnie wpływa na krążenie w odżywczych naczyniach włosowatych skóry oraz czy zmniejsza stres oksydacyjny u osób wysokiego ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2 i chorób sercowo-naczyniowych.

METODY. Badaniem objęto 30 pacjentów z prawidłowym stężeniem glukozy i zespołem metabolicznym (MS), którzy mieli krewnych chorych na cukrzycę typu 2. Średni wiek wynosił $39,1 \pm 8,4$ roku, a wskaźnik masy ciała (BMI) $35,8 \pm 4,8$ kg/m² (średnia \pm odchylenie standardowe). Pacjentów losowo podzielono na 2 grupy za pomocą metody podwójnie ślepej próby w stosunku 1:1 — 14 osób otrzymywało placebo, a 16 metforminę (1700 mg/d.). Wyjściowo i po zakończeniu badania pobrano krew do analizy biochemicznej oraz mocz w celu określenia stężenia 8-epi-prostaglandyny F_{2 α} (8-epi-PGF_{2 α}). Krążenie w naczyniach włosowatych oceniano za pomocą wideokapilaroskopii obrąbka naskórkowego, podczas której analizowano średnicę pętli naczyń włosowatych doprowadzających (AF), odprowadzających (EF) i wierzchołkowych (AP), funkcjonalną gęstość naczyń włosowatych (FCD), prędkość przepływu czerwonych ciałek krwi w spoczynku (RBCV) oraz po 1 minucie od okluzji naczyń tętniczych (RBCV_{max}), a także czas potrzebny do jej osiągnięcia (TRBCV_{max}).

WNIOSKI. Metformina poprawiła reaktywność naczyń włosowatych skóry u osób z prawidłową glikemią i zespołem metabolicznym, niezależnie od zmian stężenia 8-epi-PGF_{2 α} .

Słowa kluczowe: zespół metaboliczny, metformina, choroba mikronaczyniowa, stres oksydacyjny

Wstęp

Na podstawie koncepcji, że zmniejszona wrażliwość na insulinę jest zaburzeniem pierwotnym, prowadzącym do dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego, upośledzenia tolerancji glukozy lub cukrzycy typu 2, uważa się, iż insulinooporność (IR, *insulin resistance*) stanowi metaboliczną podstawę rozwoju zmian miażdżycowych u osób z zespołem metabolicznym (MS, *metabolic syndrome*). Wykładnikami klinicznymi

MS mogą być wszystkie wymienione zaburzenia lub część z nich. Fenotypowo zespół ten wiąże się z otyłością brzuszną oraz ostatecznie zwiększa ryzyko wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego [1].

Otyłość staje się coraz ważniejszym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, oddziałując na duże naczynia tętnicze, a także prowadząc na przykład do zawału serca i udaru mózgu [2, 3] oraz chorób całkowicie lub częściowo wywołanych zaburzeniami funkcjonowania mikrokrążenia, takich jak retinopatia, nefropatia czy niewydolność serca [4–6]. Hiperinsulinemia i IR często towarzyszą otyłości zarówno u ludzi, jak i u zwierząt eksperymentalnych. Trzewne gromadzenie się tkanki tłuszczowej nawet u mężczyzn, którzy nie są otyli [7], również wiąże się z dysfunkcją śródbłonna w obrębie dużych naczyń. Dysfunkcję śródbłonna zaobserwowano u krewnych pierwszego stopnia chorych na cukrzycę typu 2, nawet jeśli nie występowała u nich hiperglikemia [8–10].

W organizmach wielokomórkowych mikrokrążenie podtrzymuje funkcjonowanie poszczególnych komórek poprzez dostarczanie tlenu i substancji odżywczych bezpośrednio do komórek oraz podtrzymuje homeostazę płynów tkankowych wokół komórek. Przypuszcza się, że dysfunkcja śródbłonna w różnych łożyskach naczyniowych jest pierwotną przyczyną IR [11]. Uważa się, że głównym czynnikiem patogennym chorób naczyniowych są zaburzenia w obrębie układu oksydoredukcyjnego, co zwiększa szkodliwy wpływ reaktywnych form tlenu i azotu [12].

Stres oksydacyjny definiuje się jako brak równowagi między pro- i antyutleniaczami na korzyść proutleniaczy, co powoduje uszkodzenia w reakcji utleniania.

W opracowaniu przygotowanym przez NCEP/ATPIII [13] stwierdzono, że 4 spośród 5 kryteriów zespołu metabolicznego (hipertriglicerydemia, hiperglikemia, nadciśnienie tętnicze i otyłość brzuszna) niezależnie charakteryzują się obecnością nasilonego uogólnionego stresu oksydacyjnego [14–17]. Uszkodzenie śródbłonna jest silnie wyrażone w środowisku utleniaczy, co jest najważniejszą patofizjologiczną podstawą przedwczesnej miażdżycy.

Metformina, niezależnie od jej funkcji regulującej stężenie glukozy, wywiera także działanie naczynioprotekcyjne zarówno w obrębie mikro-, jak i makrokrążenia zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* [18, 19]. Lek zmniejsza częstość występowania cukrzycy typu 2 [20] oraz redukuje chorobowość i umieralność u chorych na cukrzycę typu 2 z nadwagą [21]. Jedną z możliwych teorii tłumaczących ten stan jest fakt, że u pacjentów z IR, nawet bez

hiperglikemii, metformina może działać na naczynia poprzez zdolność aktywowania śródnabłonkowej aktywowanej przez adenozyonomonofosforan (AMP) kinazy proteinowej (AMPK, *AMP-activated protein kinase*). Ten efekt przyczyniałby się do utleniania wolnych kwasów tłuszczowych (FFA, *free fatty acids*) w tkance śródbłonka i zmniejszałby stres oksydacyjny, zwiększając wrażliwość na insulinę [22].

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy metformina korzystnie wpływa na krążenie odżywczych naczyń włosowatych skóry oraz czy zmniejsza stres oksydacyjny u osób z MS i prawidłową tolerancją glukozy, których krewni pierwszego stopnia chorują na cukrzycę typu 2.

Pacjenci i metody

Pacjenci

Wszystkie osoby zakwalifikowane do badania były pacjentami ambulatoryjnymi Kliniki Kardiometabolicznej Uniwersytetu Stanowego w Rio de Janeiro. Zgodnie z kryteriami NCEP/ATPIII [13] do próby włączono osoby z MS, mające krewnych pierwszego stopnia chorych na cukrzycę typu 2, wyłączając pacjentów z nietolerancją glukozy lub cukrzycą typu 2. Głównym kryterium wyłączenia była ciąża, cukrzyca typu 2, palenie tytoniu, poważne choroby, przebyty zawał serca lub dławica piersiowa w wywiadzie, wiek pomenopauzalny, przyjmowanie środków antykon-

cepcyjnych i wartość stężenia triglicerydów większa od 678 mmol/l. Badaniem objęto 50 pacjentów (11 mężczyzn, 39 kobiet). Z próby wyłączono 20 osób — 6 z powodu słabej współpracy lekarz–pacjent, 13 ze względu na złą jakość obrazów mikrokążeń w wideokapilaroskopii obróbka naskórkowego, zaś 1 — z powodu nasilonej biegunki. Pacjentów włączonych do badań (n = 30) losowo podzielono na grupę przyjmującą placebo (n = 14) lub metforminę (n = 16) (tab. 1). Parametry antropomorficzne, kliniczne, laboratoryjne i mikronaczyniowe były podobne u osób, które włączono do badania, jak i u tych, którzy zostali z niego wyłączeni. Wszyscy chorzy wyrazili pisemną, świadomą zgodę na udział w badaniach, a protokół zatwierdziła lokalna Komisja Etyczna.

Ten sam przeszkolony badacz dokonywał 2 pomiarów antropomorficznych w fazie wyjściowej oraz po zakończeniu próby. Obwód talii mierzono w jej najwyższym miejscu, z rozluźnionymi mięśniami brzucha. Do pomiaru masy ciała użyto wagi cyfrowej (Filizola[®], Sao Paulo, SP, Brazylia). Wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*) zdefiniowano jako stosunek masy ciała [kg] do kwadratu wzrostu [m²]. Ciśnienie tętnicze mierzono również dwukrotnie, z 5-minutową przerwą w spoczynku, w pozycji leżącej na wznak, za pomocą automatycznego aparatu (Multiparameter patient monitor, Lifewindow LW 6000; Digicare Biomedical Technology, West Palm Beach, WA, Stany Zjednoczone).

Tabela 1. Antropomorficzna, kliniczna i laboratoryjna charakterystyka wyjściowo i po zakończeniu badania u osób stosujących placebo lub metforminę

| | Placebo | | Metformina | |
|--|------------------|-------------------------------|-------------------|--------------------|
| | Wyjściowo | Po leczeniu | Wyjściowo | Po leczeniu |
| Płeć (K/M) | 8/6 | – | 13/3 | – |
| Wiek (lata) | 36,5 (32–49) | – | 40 (33,5–50) | – |
| Stwierdzone nadciśnienie | 6 (42,8%) | – | 8 (50%) | – |
| Masa ciała [kg] | 101 (84,6–109,9) | 102,4 (86,2–111,6) | 83,5 (78,6–96,7) | 82,5 (77,5–96,4)* |
| Wskaźnik masy ciała [kg/m ²] | 37,0 (34,3–40,1) | 37,3 (33,9–41,1) [†] | 34,2 (29,8–39,5) | 33,6 (30,1–38,3) |
| Obwód w talii [cm] | 104,5 (99–112) | 105,5 (96–113) | 97,5 (90,5–104,5) | 97,5 (92,5–105,5) |
| Ciśnienie skurczowe [mm Hg] | 140 (124–141) | 130 (121–139) | 143 (123,5–149,5) | 133,5 (124–141,5)* |
| Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg] | 81 (71–85) | 82 (74–86) | 80,5 (73–87,5) | 78 (72–87,5) |
| FPG [mmol/l] | 4,9 (4,7–5,2) | 5,1 (4,8–5,4) ^{††} | 5,2 (4,8–5,4) | 5,0 (4,5–5,24)* |
| Stężenie glukozy po obciążeniu [mmol/l] | 5,6 (4,9–6,1) | – | 6,1 (5,5–6,8) | – |
| Cholesterol całkowity [mmol/l] | 4,8 (4,24–5,22) | 5,1 (4,80–5,89) ^{††} | 5,4 (4,93–5,76) | 5,1 (4,59–5,67)* |
| Cholesterol LDL [mmol/l] | 3,1 (2,76–3,39) | 3,5 (3,18–3,83) ^{††} | 3,4 (2,97–4,00) | 3,1 (2,58–3,62)** |
| Cholesterol HDL [mmol/l] | 0,93 (0,91–1,14) | 1,03 (0,98–1,21) | 1,03 (0,93–1,30) | 1,21 (0,89–1,38)* |
| Triglicerydy [mmol/l] | 1,5 (1,20–2,21) | 1,4 (1,11–1,83) | 1,8 (1,28–2,32) | 2,1 (1,22–2,53) |

FPG (*fasting plasma glucose*) — stężenie glukozy na czczo; dane przedstawiono jako średnią (od pierwszej do trzeciej kwartyli); [†]p = 0,05; ^{††}p < 0,05, porównanie w grupie przyjmującej placebo; *p < 0,05; **p < 0,01, porównanie w grupie stosującej metforminę

Protokół badania

Podczas pierwszej wizyty pacjentów poddano badaniu fizykalnemu, doustnemu testowi tolerancji glukozy (75 g bezwodnej glukozy) oraz wykonano badanie profilu lipidowego na czczo po 10–12 godzin od ostatniego posiłku. U wszystkich pacjentów włączonych do badania doustny test tolerancji glukozy był prawidłowy, zgodnie z kryteriami Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego [23] oraz zgodnie z przynajmniej trzema kryteriami rozpoznania MS określonymi przez NCEP/ATPIII (NCEP).

Pacjentów losowo podzielono na 2 grupy (metformina lub placebo) za pomocą podwójnie ślepej próby w stosunku 1:1. Tabletki przyjmowano przynajmniej przez 90 dni — w pierwszym tygodniu leczenia tylko podczas kolacji, w celu zminimalizowania żołądkowo-jelitowych działań niepożądanych, a następnie podczas obiadu i kolacji. Jedna tabletka metforminy zawierała 850 g preparatu (Merck-Sante, Lyon, Francja). Właściwe stosowanie leku sprawdzano co 30 dni. Wszystkim osobom polecono kontynuację dotychczasowej diety i aktywności fizycznej. Jedynymi dozwolonymi preparatami, stosowanymi bez wcześniejszego uzgodnienia w określonej stałej dawce przez cały okres badania, były leki przeciwnadciśnieniowe. Podczas badania nie stosowano żadnego leczenia kontrolującego dyslipidemię.

Ocena funkcji mikronaczyniowych

Przed badaniem wszystkie osoby przebywały w pomieszczeniu o temperaturze $24 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 30 minut. Siedziały wygodnie w umocowanym fotelu o wysokiej podstawie z uniesionym do poziomu serca lewym ramieniem lekko zgiętym w stawie łokciowym. Wszystkim pacjentom zmierzono ciśnienie tętnicze w tej pozycji standardową metodą osłuchową. Przedramię i dłoń (stroną grzbietową do góry) opierano o podpórkę, a czwarty palec — o akrylową podstawkę, 2 cm powyżej poziomu palców, przymocowaną do stolika x-y trójokularowego mikroskopu Leica DM/LM (Wetzlar, Niemcy), wyposażonego w system dodatkowego oświetlenia (lampa Xenon 100-W). Mikroskop był połączony z kamerą wideo JVC TK-S250 (Japonia) oraz monitorami Philips VR 999/78 VCR (São Paulo, SP, Brazylia) i Kodo KBM1 700E (Seul, Korea Południowa). Opuszek palca był przymocowany do akrylowej podstawki metalową pętlą, by zminimalizować przesunięcia. Temperaturę skóry palca monitorowano za pomocą cyfrowego termometru YSI Precision 4000A (Dayton, OH, Stany Zjednoczone) z sondą termistorową umieszczoną w obrębie 1 cm proksymalnie do obrąbka naskórkowego. W polu obserwacyjnym rozproszono

kroplę oleju organicznego, aby poprawić jakość obrazu poprzez zmniejszenie dywergencji odbitego światła.

Funkcjonalną gęstość naczyń włosowatych (FCD, *functional capillary density*) oznaczono przy 250-krotnym powiększeniu w obszarze 3 mm dystalnego rzędu naczyń włosowatych i zdefiniowano ją jako liczbę kapilar/ mm^2 tkanki z przepływającymi czerwonymi ciałkami krwi. Przekroje naczyń włosowatych (doprowadzających, wierzchołkowych i odprowadzających) oraz prędkość przepływu czerwonych ciałek krwi w spoczynku (RBCV, *red blood cell velocity*) mierzono przy 680-krotnym powiększeniu. Przed wykonaniem pomiaru RBCV wokół proksymalnego paliczka umieszczano opaskę uciskową o szerokości 1 cm i przyłączano ją do manometru rtęciowego. Pomiar RBCV wykonywano dla pojedynczej pętli naczynia włosowatego. Po 1-minutowej okluzji naczynia tętniczego mierzono maksymalny wzrost RBCV powyżej poziomu spoczynkowego oraz czas do jej osiągnięcia. Obraz mikrokrążenia nagrano na taśmie superVHS i analizowano z użyciem oprogramowania CapImage [24]. Dziewięć osób wyraziło zgodę na 2-krotne badanie wideokapilaroskopowe w różne dni i na tej podstawie wyznaczono współczynnik zmienności wyników między testami (IECV, *interassy coefficient of variation*), który mieścił się w zakresie 12,3–17,3% dla parametrów morfologicznych oraz 2,0–9% dla czynnościowych.

Analiza laboratoryjna

Wszystkie badania laboratoryjne wykonywano podwójnie po 10–12 godzinach od ostatniego posiłku metodą automatyczną (Modular Analytics PP, Roche, Basel, Szwajcaria). Mierzono stężenie glukozy na czczo (FPG, *fasting plasma glucose*) metodą enzymatyczno-kolorymetryczną z użyciem odczynnika GOD-PAP (*Glucose Oxidase-Peroxidase-4-Aminophenason-Phenol*) (IECV 1,09%), oznaczenia stężenia cholesterolu całkowitego dokonano metodą enzymatyczną z użyciem GPO-PAP (*Glycerophosphate Oxidase-Phenol Aminophenason*) (IECV 2,93%), stężenie cholesterolu frakcji lipoprotein o dużej gęstości (HDL, *high-density lipoprotein*) mierzono standardową metodą enzymatyczną (IECV 1,29%), a w celu określenia stężenia triglicerydów zastosowano metodę enzymatyczno-kolorymetryczną, bez wcześniejszego leczenia (IECV 3,23%). Stężenie cholesterolu frakcji lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low-density lipoprotein*) w osoczu obliczono, korzystając z równania Friedwalda.

Pomiaru poziomu stresu oksydacyjnego dokonano 2-krotnie, wykorzystując test immunoabsorp-

cji enzymozależnej (ELISA), oznaczając stężenia 8-epi-prostaglandyn $F_{2\alpha}$ (8-epi-PGF $_{2\alpha}$) w moczu zgodnie z procedurami zestawu BIOXYTECH Urinary 9-epi-PGF $_{2\alpha}$ (Oxis Research, Portland, OR, Stany Zjednoczone). Przed oznaczeniem 8-epi-PGF $_{2\alpha}$ próbki moczu rozcieńczano w stosunku 1:2, a wyniki korygowano w zależności od wartości stężenia kreatyniny w każdej próbce. Wartość IECV wynosiła 5% (2–14%).

Analiza statystyczna

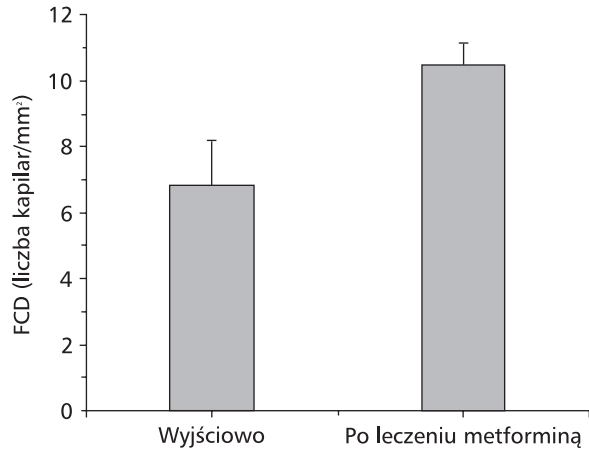
Dane analizowano za pomocą programu Statistic 6,0 (STATSOFT, Tulsa, OK, Stany Zjednoczone). Wykorzystując test nieparametryczny U Manna-Whitneya i test porównania par Wilcozona, porównano obie grupy, odpowiednio, wyjściowo i po zakończeniu badania. Porównania częstotliwości w tabelach 2×2 dokonano poprzez skorygowany test χ^2 Yatesa. Analizę porównawczą przeprowadzono za pomocą testu korelacji porządku rang Spearmana. Różnice uważano za istotne statystycznie, jeżeli poziom istotności był mniejszy od 0,05 ($p < 0,001$). Wszystkie dane dotyczące grup podano jako średnie (od pierwszej do trzeciej kwartyli).

Wyniki

Liczba dni stosowania placebo i metforminy była podobna [106 (98–113) vs. 102,2 (97–112,5) dni; $p = 0,2$]. Średni/maksymalny czas leczenia dla placebo i metforminy wynosił odpowiednio 107,1/116 i 102,5/116 dni. U około 50% osób w obu grupach stwierdzono nadciśnienie tętnicze w wywiadzie. Wyjściowe wartości parametrów antropometrycznych, klinicznych, laboratoryjnych i mikronaczyniowych były podobne (tab. 1).

W grupie osób przyjmujących placebo BMI ($p = 0,05$), FPG ($p < 0,05$), stężenie cholesterolu całkowitego ($p < 0,05$) i frakcji LDL ($p < 0,05$) wzrosły, natomiast wśród pacjentów stosujących metforminę zanotowano spadek: masy ciała ($p < 0,05$), BMI ($p < 0,05$), ciśnienia skurczowego ($p < 0,03$), stężenia cholesterolu całkowitego ($p = 0,01$) i frakcji LDL ($p < 0,01$) oraz FPG ($p = 0,01$), a wzrosło stężenie cholesterolu frakcji HDL ($p < 0,05$) w porównaniu z wartościami wyjściowymi (tab. 1).

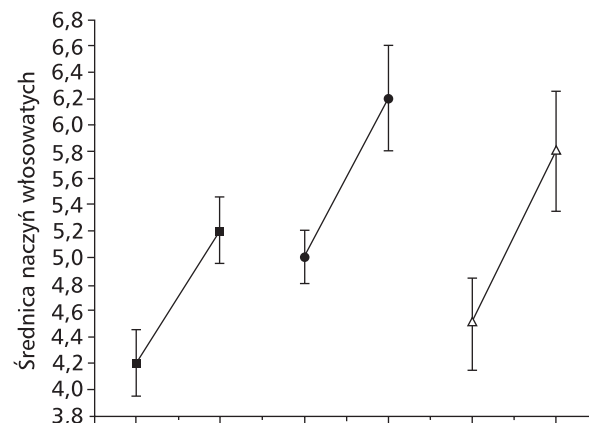
W grupie osób przyjmujących placebo nie zmienił się żaden analizowany parametr mikronaczyniowy, natomiast w grupie pacjentów stosujących metforminę poprawiła się FCD [6,83 (5,46–8,19) vs. 10,47 (9,55–10,9) kapilar/mm 2 ; $p < 0,01$; ryc. 1] i zwiększyła się średnica naczyń włosowatych doprowadzających [4,2 (3,7–4,2) vs. 5,2 (4,7–5,2) μm ; $p < 0,001$], wierzchołkowych [5,0 (4,8–5,2) vs. 6,20 (5,4–6,2) μm ;



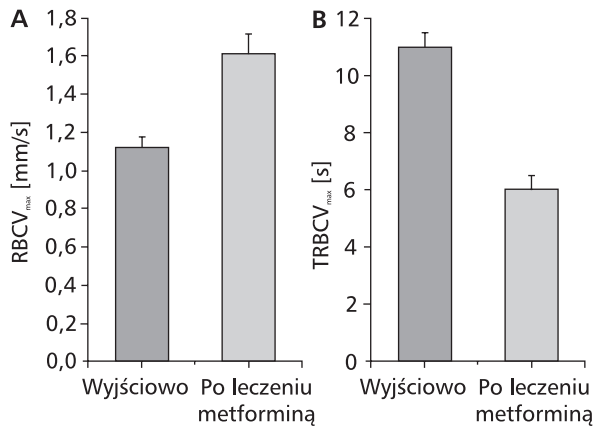
Rycina 1. Poprawa funkcjonalnej gęstości naczyń włosowatych (FCD, *functional capillary density*) u chorych z prawidłową wartością glikemii i z zespołem metabolicznym po leczeniu metforminą ($p < 0,001$)

$p < 0,001$] i odprowadzających [4,5 (4,1–4,8) vs. 5,8 (4,9–5,8) μm ; $p < 0,001$; ryc. 2]. Maksymalny wzrost RBCV [1,12 (1,07–1,18) vs. 1,61 (1,44–1,65) mm/s; $p < 0,001$; ryc. 3A] zwiększył się, a czas do jej osiągnięcia zmniejszył się [11,0 (10–11) vs. 6,0 (5–6) s; $p < 0,001$; ryc. 3B] w grupie leczonej metforminą. Maksymalny przyrost wartości RBCV wyniósł 43,7%, natomiast czas potrzebny do jej osiągnięcia skrócił się o 54,5% w porównaniu z okresem sprzed terapii. Na zmiany te nie wpływało ewentualne przyjmowanie leków przeciwnadciśnieniowych.

Poza związkiem między stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL a wartością maksymalnej RBCV podczas odczynowego przekrwienia nie udało się wykazać żadnych innych bezpośrednich zależności między zaobserwowaną po-



Rycina 2. Przyrost średnicy naczyń włosowatych doprowadzających (■), wierzchołkowych (●) i odprowadzających (△) u osób z prawidłową wartością glikemii i z zespołem metabolicznym po leczeniu metforminą ($p < 0,001$)



Rycina 3. Poprawa maksymalnej prędkości przepływu czerwonych ciałek krwi (RBCV_{max}, red blood cell velocity) (A) i czasu potrzebnego do jej osiągnięcia (TRBCV_{max}, time to reach peak red blood cell velocity) 1 minutę po okluzji tętnicy (B) u chorych z prawidłową wartością glikemii i z zespołem metabolicznym po leczeniu metforminą ($p < 0,001$)

prawą parametrów: masy ciała, BMI, ciśnienia skurczowego, profilu lipidowego i FPG po leczeniu metforminą a poprawą parametrów mikronacyniowych. Redukcja masy ciała nie wiązała się bezpośredniego z poprawą parametrów kliniczno-laboratoryjnych (tab. 2).

Stężenia 8-epi-PGF_{2α} w moczu było podobne w fazie wyjściowej u pacjentów stosujących placebo i u osób leczonych metforminą [1,59 (0,87–7,21) vs. 3,07 (1,21–18,48) ng/ml; $p = 0,032$] i nie uległy zmianie w żadnej z grup mimo zastosowanego leczenia [3,07 (1,21–18,48) vs. 1,58 (0,54 vs. 7,93); $p = 0,33$ dla metforminy i 1,59 (0,87–7,21) vs. 3,55 (0,44–5,51) ng/ml; $p = 0,58$ dla placebo]. Zmiana stężenia 8-epi-PGF_{2α} w moczu u osób przyjmujących placebo wynosiła 53,7% (57,4–249,1), natomiast u badanych leczonych metforminą –43,6% (–90,6–82,9; NS).

Dyskusja

Rośnie liczba publikacji na temat korzystnego wpływu metforminy na układ naczyniowy. Ten lek z grupy biguanidów poprawia zależne od śródbłonnka rozszerzenie naczyń u szczurów [25] i u chorych na cukrzycę typu 2 [26]. Ostatnio wykazano również, że u osób z MS metformina poprawia, zależne od śródbłonnkowego przepływu, rozszerzenie tętnicy ramiennej [27] oraz śródbłonnkową reaktywność w naczyniach oporowych przedramienia [28]. Wyniki te sugerują, że metformina może poprawiać śródbłonnkową reaktywność na poziomie mikro- i makrokrążenia, w równym stopniu wpływającego na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego [29, 30]. W tym badaniu zaobserwowano dodatkowy korzystny wpływ na reaktywność skórných odżywczych naczyń włosowatých przy krótkotrwałym przyjmowaniu metforminy u osób z MS i prawidłową wartością glikemii. Interpretując wyniki niniejszej pracy, należy uwzględnić liczbę osób z MS włączonych do badania. Jednak uwzględniając nieznaczne odchylenia współczynnika zmienności (IECV) dla parametrów czynnościowych przy użyciu wideokapilaroskopii obróbka naskórkowego, znamienna poprawa w zakresie maksymalnego wzrostu RBCV i czasu do jej osiągnięcia prawdopodobnie jest realna i odzwierciedla rozszerzenie naczyń przedwłosowatých i ostatecznie poprawę funkcjonowania mikrokrążenia. Poprawa reaktywności naczyń włosowatých odzwierciedla funkcję śródbłonnka naczyń przedwłosowatých oraz włosowatých i najpewniej potwierdza wyniki uzyskane wcześniej w innych ośrodkach [26–28, 31].

Mikro- i makronacyniowe funkcje śródbłonnka zależą głównie od biodostępności tlenu azotu (NO, nitric oxide), dlatego jej poprawa powoduje polep-

Tabela 2. Matryca współzależności między zmianami parametrów klinicznych i laboratoryjnych a zmianami parametrów naczyniowych stwierdzonymi po leczeniu metforminą

| | ΔFCD | ΔAF | ΔAP | ΔEF | ΔRBCV | ΔRBCV _{max} | ΔTRBCV _{max} | ΔMasa ciała |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------------|-----------------------|-------------|
| ΔMasa ciała | –0,16 | 0,05 | 0,01 | 0,07 | 0,14 | 0,20 | 0,10 | – |
| ΔWskaźnik masy ciała | –0,16 | 0,05 | 0,01 | 0,08 | 0,15 | 0,21 | 0,10 | – |
| ΔCiśnienie skurczowe | 0,42 | 0,22 | –0,22 | –0,33 | –0,07 | –0,10 | –0,04 | –0,01 |
| ΔFPG | 0,02 | –0,24 | –0,28 | –0,37 | 0,23 | 0,31 | –0,19 | –0,19 |
| ΔCholesterol całkowity | –0,14 | 0,04 | –0,21 | 0,01 | 0,35 | 0,65† | –0,13 | –0,02 |
| ΔCholesterol LDL | –0,39 | –0,06 | –0,45 | –0,18 | 0,26 | 0,49†† | –0,25 | 0,08 |
| ΔCholesterol HDL | 0,08 | –0,04 | 0,27 | 0,04 | 0,07 | 0,20 | 0,19 | 0,01 |
| ΔTriglicerydy | –0,02 | –0,21 | 0,22 | –0,10 | –0,11 | 0,08 | –0,07 | –0,04 |

FCD (functional capillary density) — funkcjonalna gęstość naczyń włosowatých; AF (afferent capillary diameter) — średnica naczyń włosowatých doprowadzających; AP (apical capillary diameter) — średnica naczyń włosowatých szczytowych; EF (efferent capillary diameter) — średnica naczyń włosowatých odprowadzających; RBCV (red blood cell velocity) — prędkość przepływu czerwonych ciałek krwi; RBCV_{max} (peak red blood cell velocity) — maksymalna prędkość przepływu czerwonych ciałek krwi; TRBCV_{max} (time to reach peak red blood cell velocity) — czas do osiągnięcia maksymalnej prędkości przepływu czerwonych ciałek krwi; FPG (fasting plasma glucose) — stężenie glukozy na czczo; † $p < 0,01$; †† $p = 0,05$

szczenie zależnej od śródbłonna zdolności do rozszerzania naczyń. Jednak poza NO również lokalne mediatory w łożysku naczyniowym naczyń włosowatych odgrywają istotną rolę w regulacji ich działania. Reaktywne przekrwienie, obserwowane w odpowiedzi na 1-minutową okluzję naczyń tętniczego, zależy od reaktywności komórek śródbłonna (zależne od przepływu uwalnianie NO) i mięśni gładkich (nagły wzrost ciśnienia śródnaczyniowego) oraz od ilości reaktywnych form tlenu i wyprodukowanych metabolitów. Po usunięciu okluzji naczyń tętniczego, z następowym zwiększeniem ciśnienia perfuzyjnego w niedokrwionym obszarze, przez krótki okres może wystąpić silny skurcz naczyń tętniczych, czyli tak zwana reakcja miogenna. Następnie zwykle następuje gwałtowny wzrost napływu krwi do tkanek, który stopniowo powraca do poziomu spoczynkowego. Ta reakcja zwykle nie zależy od nerwów naczynioruchowych, ale od NO i gromadzenia się metabolitów rozkurczających naczyń, w zwykłych warunkach wypłukiwanych lub niszczonej we krwi. Zatem za reakcję przekrwioną odpowiadają dwa przeciwstawne mechanizmy. Za skurcz naczyń krwionośnych odpowiada reakcja miogenna i reaktywne związki tlenu, natomiast za rozkurcz naczyń — NO i inne metabolity rozszerzające naczyń. Stopień rozszerzenia naczyń, który wpływa na maksymalny wzrost RBCV i czas do jej osiągnięcia, zależy od końcowego współdziałania tych wszystkich czynników.

Wideokapilaroskopia obróbka naskórkowego znalazła zastosowanie jako nieinwazyjna metoda pozwalająca ocenić morfologię mikrokrążenia oraz jego parametry hemodynamiczne [32]. Nieprawidłowa reakcja miogenna w obrębie naczyń mikrokrążenia na nagły wzrost wewnątrznaczyniowego ciśnienia, po zwolnieniu zamknięcia naczyń tętniczego u podstawy palca, mogłaby prowadzić do zmniejszenia maksymalnej prędkości przepływu czerwonych ciałek i przepływu krwi podczas reaktywnego przekrwienia a także do wydłużenia czasu potrzebnego do jej osiągnięcia. Zwiększenie średnicy naczyń włosowatych można interpretować jako redukcję oporności naczyń włosowatych na przepływ krwi, biorąc pod uwagę, że zastosowana metoda nie umożliwia wizualizacji ściany naczyń włosowatych, a przytoczone pomiary dotyczą szerokości słupa czerwonych ciałek krwi wewnątrz naczyń. Uwzględniając fakt, że na poziomie naczyń włosowatych wiele mediatorów wpływa na odpowiedź na okluzję naczyń (włącznie z tymi, które dotyczą przedziału mikronaczyniowego), wydaje się, że metformina mogłaby działać nie tylko poprzez poprawę biodostępności NO, ale również na inne, jeszcze nieznanne mediatory funkcji mi-

kronaczyniowych. Należy zauważyć, że zaobserwowany w niniejszym badaniu wzrost perfuzji mikronaczyniowej jest prawdopodobnie osłabiany w innych narządach i tkankach; w przeciwnym razie dochodziłoby do znacznego zwiększenia rzutu serca. Prawdopodobnie powodowane jest to przez właściwą dla skóry, w porównaniu z innymi narządami i tkankami, kontrolę układu współczulnego [33]. Z tego powodu działanie metforminy może być odmienne w poszczególnych tkankach.

W badaniach dotyczących chorych na cukrzycę typu 2 wykazano, że zastosowanie metforminy w monoterapii lub w połączeniu z sulfonilomocznikiem prowadzi do obniżenia śmiertelności spowodowanej niewydolnością serca [34]. Ponadto w badaniu UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*) u osób przyjmujących metforminę zaobserwowano mniej powiązanych z cukrzycą punktów końcowych [21]. Zmiany w obrębie mikrokrążenia wieńcowego wydają się ważnym czynnikiem sprawczym zastojowej niewydolności serca. Obecnie uważa się również, że IR jest niezależnym czynnikiem rozwoju tej niewydolności [35], będąc bezpośrednio związana z zaburzeniami funkcjonowania mikrokrążenia wieńcowego [36]. Na podstawie wyników niniejszego badania nie można stwierdzić, że poprawa funkcji mikrokrążenia w naczyniach skórnych może bezpośrednio wiązać się z korzystnymi zmianami w mikrokrążeniu wieńcowym. Jednak prawdopodobnie zmiany w mikrokrążeniu nie są ograniczone tylko do jednego narządu. Ponadto u kobiet z opornością na insulinę i zespołem policystycznych jajników zaobserwowano poprawę funkcjonowania mikrokrążenia wieńcowego po 6 miesiącach leczenia metforminą [37]. Podstawą wyników uzyskanych w tym badaniu jest prawdopodobnie poprawa funkcjonowania mikrokrążenia wieńcowego związana z leczeniem metforminą [21, 34].

Kliniczne wyniki niniejszego badania potwierdzają wcześniejsze rezultaty uzyskane u zwierząt, prezentujące poprawę perfuzji naczyń włosowatych u osobników, u których zastosowano krótkotrwałą, semichroniczną terapię metforminą [38]. Podczas fizjologicznego wzrostu stężenia insuliny we krwi u zdrowych ludzi zwiększa się udział skórnych naczyń włosowatych [39]. U osób otyłych zaburzenia funkcji mikrokrążenia w warunkach prawidłowych i podczas hiperinsulinemii wywołanej uciśnięciem naczyń wiążą się ze zmniejszoną wrażliwością na insulinę [40]. Zaburzenia komórkowe szlaków sygnalizacyjnych insuliny stanowią dobrze poznaną przyczynę insulinooporności [41]; jednak obecnie uważa się, że dodatkową przyczyną IR jest dysfunkcja mi-

kronaczyń [38, 42]. Mimo że skóra nie jest organem docelowym insulinozależnego wychwytu glukozy, można tu zaobserwować naczyniowe efekty działania insuliny, takie jak zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych związana z wrażliwością na insulinę u osób z podwyższonym stężeniem glukozy w osoczu na czczo [45]. Metformina, która jest preparatem zwiększającym wrażliwość na insulinę, powodowała redukcję częstości występowania cukrzycy typu 2 i rozwoju MS u osób wysokiego ryzyka podczas długotrwałej obserwacji [20, 44]. Być może poprawa funkcji mikrokrążenia i spowodowane tym zwiększenie wrażliwości na insulinę mogłoby wytłumaczyć uzyskane wyniki, jednak dobrze poznane na poziomie molekularnym działanie metforminy w komórkach tłuszczowych i mięśniowych również jest niezwykle istotne.

Niniejsze dane wykazały, że metformina wywiera korzystny wpływ na profil lipidowy, FPG, masę ciała, BMI i ciśnienie skurczowe. Nie zaobserwowano związku między zmianami FPG oraz funkcji skórnych naczyń włosowatych i nie wydaje się, żeby zmiany FPG były czynnikiem prowadzącym do poprawy reaktywności naczyń włosowatych skóry. Ponadto zmiany ciśnienia skurczowego, profilu lipidowego i FPG nie wiązały się z utratą masy ciała obserwowaną po leczeniu, co sugeruje, że przyczyną tych zmian może być wewnętrzny mechanizm działania metforminy. Jedynie zmiany stężenia cholesterolu całkowitego i frakcji LDL wiązały się z poprawą maksymalnego wzrostu prędkości przepływu czerwonych ciałek krwi. Wyniki uzyskane w niniejszym badaniu nie mogą tłumaczyć dokładnego mechanizmu przyczynowo-skutkowego między tymi powiązаныmi właściwościami, ale powinno się je uwzględnić.

Magazynowanie triglicerydów jest często zwiększone u pacjentów z IR, co dodatkowo powoduje wyższą wrażliwość na FFA (lipotoksyczność). Prawdopodobnie u osób z IR naczyniowe działanie metforminy może być zwiększone dzięki jej zdolnościom do aktywowania śródnabłonkowego AMPK [22], co z kolei ułatwia utlenianie FFA w śródnabłonku i zmniejsza stres oksydacyjny. Być może jest to dodatkowy sposób reagowania na lipotoksyczność, więc osoby z MS mogłyby odnieść korzyść również z tego typu aktywności metforminy. Ostatnio zaobserwowano również, że FFA modulują funkcję skórnych naczyń włosowatych zarówno u pacjentów szczupłych, jak i u otyłych [45].

W licznych badaniach wykazano, że w wielu chorobach stężenie F2-izoprostanu jest zwiększone [46]. F2-izoprostan jest nie tylko klinicznym i ekspery-

mentalnym markerem stresu oksydacyjnego, ale wywołuje też reakcję pobudzającą właściwie w każdym badanym łożysku naczyniowym mięśni gładkich [47]. Warto zauważyć, że stres oksydacyjny może powodować IR zarówno w tkankach naczyniowych, jak i nienaczyniowych [12]. W niniejszym badaniu potwierdzono tezę, że zastosowanie metforminy wywołuje redukcję stresu oksydacyjnego, wtórnie do zmniejszenia lipotoksyczności, klinicznie wyrażoną obniżeniem stężenia 8-epi-PGF_{2α} po leczeniu, i w takim przypadku mogłoby się to wiązać z zaobserwowanym korzystnym działaniem na naczynia. Wykazano dużą różnicę stężenia 8-epi-PGF_{2α} w moczu w obrębie grup, bez znamienych różnic po zastosowaniu placebo lub metforminy. Należy jednak zauważyć, że izoprostany są jedynym z metabolitów przemiany kwasu arachidonowego spowodowanej stresem oksydacyjnym. Stopień i prawdziwa istota stresu oksydacyjnego, jak i nawyki żywieniowe z tym związane u pacjentów z zespołem metabolicznym, pozostają wyjaśnione. Mimo że niniejsze dane nie tłumaczą poprawy reaktywności mikrokrążenia odżywczego poprzez redukcję stężenia 8-epi-PGF_{2α} w moczu, zdaniem autorów to zagadnienie patofizjologiczne warte jest przeprowadzenia kolejnych badań.

Podsumowując, w niniejszym badaniu wykazano po raz pierwszy, że metformina poprawia reaktywność odżywczych mikronaczyń skóry u osób z MS i z prawidłową tolerancją glukozy. Aby ocenić korzystny wpływ metforminy na naczynia i układ naczyniowo-sercowy u chorych z MS oraz z prawidłowym stężeniem glukozy w osoczu, należy przeprowadzić długoterminowe badania, chociaż korzystny wpływ metforminy na funkcje naczyniowe w krótkiej obserwacji wskazuje również na inne możliwości jej klinicznego zastosowania.

Konflikt interesów

Nie zadeklarowano.

Podziękowania

Autorzy dziękują: Luiz S. Capella, Fatima Z.A. Cyrino, M. das Gracas Souza, F. Sicuro, P.A. Maranhao, R.B. Torres i S. Gama za wsparcie pomoc techniczną. Dane uprzednio opublikowane jako streszczenie w *Diabetes* 2005; 54: A522. Subwencja: National Research Council, Agencja Finansowa Stanu Rio de Janeiro (FAPEJ) i Merc-Sante, Lyon, Francja. Źródła finansowania nie odgrywały roli w projekcie lub wykonaniu badania, zbieraniu, analizie lub interpretacji danych ani w przygotowaniu, sprawdzeniu bądź akceptacji manuskryptu.

PIŚMIENICTWO

1. Grundy S.M., Cleeman J.I., Daniels S.R. i wsp. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112: 2735–2752.
2. Hubert H.B., Feinleib M., McNamara P.M., Castelli H.P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year followup of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67: 968–977.
3. Manson J.E., Colditz G.A., Stampfer M.J. i wsp. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322: 882–889.
4. Van Leiden H.A., Dekker J.M., Moll A.C. i wsp. Blood pressure, lipids, and obesity are associated with retinopathy: the Hoorn study. *Diabetes Care* 2002; 25: 1320–1325.
5. de Jongh P.E., Verhave J.C., Pinto-Sietsma S.J., Hillege H.L.; for the Prevend Study Group. Obesity and target organ damage: the kidney. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2002; 26: S21–S24.
6. Kenchaiah S., Evans J.C., Levy D. i wsp. Obesity and the risk of heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 305–313.
7. Jang Y., Kim O.Y., Ryu H.J. i wsp. Visceral fat accumulation determines postprandial lipemic response, lipid peroxidation, DNA damage, and endothelial dysfunction in nonobese Korean men. *J. Lipid. Res.* 2003; 44: 1356–1364.
8. Balletshofer B.M., Rittig K., Enderle M. i wsp. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation* 2000; 101: 1780–1784.
9. Caballero A.E., Arora S., Saouaf R. i wsp. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 1856–1862.
10. Jörnescorg G., Kalani M., Kuhl J. i wsp. Early microvascular dysfunction in healthy normal-weight males with heredity for type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 1495–1497.
11. Pinkney J.H., Stehouwer C.D.A., Coppack S.W., Yudkin J.S. Endothelial dysfunction: cause of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 1997; 46: 95–135.
12. Ceriello A., Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The Common Soil Hypothesis revisited. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 816–823.
13. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486–2497.
14. Bae J.H., Bassenge E., Kim Y.N. i wsp. Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis* 2001; 155: 517–523.
15. Redon J., Olivia M.R., Tormos C. i wsp. Antioxidant activities and oxidative stress by products in human hypertension. *Hypertension* 2003; 41: 1096–1101.
16. Oberley L.W. Free radicals and diabetes. *Free Radic. Biol. Med.* 1988; 5: 113–124.
17. Kerney J.F. Jr., Larson M.G., Vasan R.S. i wsp. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 434–439.
18. Wiernsperger N.F. Metformin: intrinsic vasculoprotective properties. *Diabetes Tech. Therap.* 2000; 2: 259–272.
19. Grant P.J. Beneficial effects of metformin on haemostasis and vascular function in man. *Diabet. Med.* 2003; 29: 6544–6552.
20. Knowler W.C., Barrett-Connor E., Fowler S.E. i wsp. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 393–403.
21. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998; 352: 854–865.
22. Ming-Hui Z., Kirkpatrick S.S., Davis B.J. i wsp. Activation of the AMP-activated protein kinase by the anti-diabetic drug metformin *in vivo* — role of mitochondrial reactive nitrogen species. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 43940–43951.
23. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27: S5–S10.
24. Klyszcz T., Jünger M., Jung F., Zeintl H. Cap Image — ein neuartiges computerunterstütztes Videoanalysensystem für die dynamische Kapillarmikroskopie. *Biomed. Tech.* 1997; 42: 168–175.
25. Katakam P.V.G., Ujhelyi M.R., Hoening M., Miller A.W. Metformin improves vascular function in insulin-resistant rats. *Hypertension* 2000; 35: 108–112.
26. Mather K.J., Verma S., Anderson T.J. Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 37: 1344–1350.
27. Vitale C., Mercurio G., Cornoldi A., Fini M., Volterrani M., Rosano G.M.C. Metformin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *J. Intern. Med.* 2005; 258: 2005.
28. Kraemer de Aguiar L.G., Bahia L.R., Villela N. i wsp. Metformin improves endothelial vascular reactivity in first-degree relatives of type 2 diabetic patients with metabolic syndrome and normal glucose tolerance. *Diabetes Care* 2006; 29: 1083–1089.
29. Lieberman E.H., Gerhard M.D., Uehata A. i wsp. Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients < 40 years of age with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 1996; 78: 1210–1214.
30. Fichtlscherer S., Breuer S., Zeiher A.M. Prognostic value of systemic endothelial dysfunction in patients with acute coronary syndrome. *Circulation* 2004; 110: 1926–1932.
31. Sirtori C.R., Franceschini G., Gianfranceschi G. Metformin improves peripheral vascular flow in normohyperlipidemic patients with arterial disease. *J. Cardiovascular. Pharmacol.* 1984; 6: 914–923.
32. Fagrell B., Fronek A., Intaglietta M. Capillary flow velocity during rest and post occlusive reactive hyperemia in skin areas of the toe and lower leg. *Bibl. Anat.* 1977; 16: 159–161.
33. Muntzel M.S., Abe A., Petersen J.S. Effects of adrenergic, cholinergic and ganglionic blockade on acute depressor responses to metformin in spontaneously hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997; 281: 618–623.
34. Masoudi F.A., Inzucchi S.E., Wang Y., Havranek E.P., Foody J.M., Krumholz H.M. Thiazolidinediones, metformin, and outcomes in older patients with diabetes and heart failure: an observational study. *Circulation* 2005; 111: 583–590.
35. Ingelsson E., Ärnlöv J., Sundström J., Zethelius B., Vessby B., Lind L. Novel metabolic risk factors for heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 46: 2054–2060.
36. Quinones M.J., Hernandez-Pampaloni M., Schelbert H. i wsp. Coronary vasomotor abnormalities in insulin-resistant individuals. *Ann. Intern. Med.* 2004; 140: 700–708.
37. Topcu S., Tok D., Caliskan M., Ozciment E.E. Metformin therapy improves coronary microcirculation function in patients with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. *Clin. Endocrinol.* 2006; 65: 75–80.
38. Wiernsperger N., Bouskela E. Microcirculation in insulin resistance and diabetes: more than just a complication. *Diabetes Metab.* 2003; 29: 6577–6587.
39. Serné E.H., Ijzerman R.G., Gans R.O.B. i wsp. Direct evidence for insulin-induced capillary recruitment in skin of healthy subjects during physiological hyperinsulinemia. *Diabetes* 2002; 51: 1515–1522.
40. de Jongh R.T., Serné E.H., Ijzerman R.G., de Vries G., Stehouwer C.D.A. Impaired microvascular function in obesity. Implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance. *Circulation* 2004; 109: 2529–2535.

41. DeFronzo R.A. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev.* 1997; 5: 177–269.
42. Wiernesperger N. Defects in microvascular haemodynamics during prediabetes: contributor or epiphenomenon? *Diabetologia* 2000; 43: 1439–1448.
43. Jaap A.J., Shore J.E., Tooke J.E. Relationship of insulin resistance to microvascular dysfunction in subjects with fasting hyperglycaemia. *Diabetologia* 1997; 40: 238–243.
44. Orchard T.J., Temprosa M., Goldberg R. i wsp. The Diabetes Prevention Program Research Group. The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: The Diabetes Prevention Program Randomized Trial. *Ann. Intern. Med.* 2005; 142: 611–619.
45. de Jongh R.T., Serné E.H., Ijzerman R.G., de Vries G. Free fatty acid levels modulate microvascular function. Relevance for obesity-associated insulin resistance, hypertension, and microangiopathy. *Diabetes* 2004; 53: 2873–2882.
46. Musiek E.S., Huiyong Y., Milne G.L., Morrow J.D. Recent advances in the biochemistry and clinical relevance of the isoprostane pathway. *Lipids* 2005; 40: 987–994.
47. Janssen L.J. Are endothelium-derived hyperpolarizing and contracting factors isoprostanes? *Trends Pharmacol. Sci.* 2002; 23: 59–62.