

# Nedostatak vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 tijekom terapije metforminom

---

Schönberger, Ema

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:907699>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I**  
**DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE**

**Ema Schönberger**

**NEDOSTATAK VITAMINA B12 U**  
**OSOBA OBOLJELIH OD ŠEĆERNE**  
**BOLESTI TIP 2 TIJEKOM TERAPIJE**  
**METFORMINOM**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I**  
**DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE**

**Ema Schönberger**

**NEDOSTATAK VITAMINA B12 U**  
**OSOBA OBOLJELIH OD ŠEĆERNE**  
**BOLESTI TIP 2 TIJEKOM TERAPIJE**  
**METFORMINOM**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**

Rad je ostvaren na Zavodu za endokrinologiju Klinike za unutarnje bolesti u Kliničkom bolničkom centru Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Silvija Canecki-Varžić, dr. med.

Rad ima 42 stranice, 12 tablica i 1 sliku.

## **PREDGOVOR RADU**

Želim zahvaliti svojoj mentorici, doc. dr. sc. Silviji Canecki-Varžić, dr. med., na predloženoj temi, velikoj pomoći, brojnim savjetima i konstruktivnim kritikama pri izradi ovog rada.

Zahvaljujem i svim djelatnicima Zavoda za endokrinologiju na iznimnoj susretljivosti.

Posebno hvala Svenu na ljubavi, motivaciji, strpljenju i neizmornoj podršci.

Hvala mojim roditeljima, bratu i ostatku obitelji koji su vjerovali u mene i bili mi potpora tijekom cijelog mog školovanja.

Zahvaljujem svojim prijateljima na pomoći i podršci tijekom studiranja.

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. Šećerna bolest</b> .....	1
<b>1.1.1. Epidemiologija šećerne bolesti tipa 2</b> .....	1
<b>1.1.2. Patofiziologija šećerne bolesti tipa 2</b> .....	2
<b>1.1.3. Komplikacije šećerne bolesti</b> .....	3
<b>1.1.4. Dijagnoza šećerne bolesti</b> .....	4
<b>1.1.5. Liječenje šećerne bolesti tipa 2</b> .....	5
<b>1.2. Metformin</b> .....	7
<b>1.2.1. Mehanizam djelovanja</b> .....	7
<b>1.2.2. Klinička primjena</b> .....	8
<b>1.2.3. Nuspojave</b> .....	8
<b>1.3. Vitamin B12</b> .....	9
<b>2. CILJEVI</b> .....	11
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	12
<b>3.1. Ustroj studije</b> .....	12
<b>3.2. Ispitanici</b> .....	12
<b>3.3. Metode</b> .....	12
<b>3.4. Statističke metode</b> .....	13
<b>4. REZULTATI</b> .....	14
<b>5. RASPRAVA</b> .....	25
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	29
<b>7. SAŽETAK</b> .....	30
<b>8. SUMMARY</b> .....	31
<b>9. LITERATURA</b> .....	32
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	40
<b>11. PRILOZI</b> .....	42

## POPIS KRATICA

ACE inhibitori – inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (od engl. *angiotensin converting enzyme*)

ARB – antagonisti receptora angiotenzina II (od engl. *angiotensin II receptor blocker*)

CKS – crvena krvna slika

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

DPP-4 – dipeptidil-peptidaza 4

eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije (od engl. *estimated glomerular filtration rate*)

FFA – slobodna masna kiselina (od engl. *free fatty acid*)

GIP – inzulintropni peptid ovisan o glukozu (od engl. *gastric inhibitory peptide*)

GLP-1 – glukagonu sličan peptid 1 (od engl. *glucagon-like peptide-1*)

GLUT-1 – glukozni transporter 1 (od eng. *glucose transporter 1*)

GLUT-4 – glukozni transporter 4 (od eng. *glucose transporter 4*)

GUP – glukoza u plazmi

HbA1c – glikirani hemoglobin

IF – unutarnji čimbenik (od engl. *intrinsic factor*)

IPP – inhibitor protonске pumpe

ITM – indeks tjelesne mase

MALA - laktocidoza povezana s metforminom (od engl. *metformin-associated lactic acidosis*)

NPDR – neproliferativna dijabetička retinopatija

NPH – neutralni protaminski Hagedorn inzulin

OGTT – oralni test opterećenja glukozom (od engl. *oral glucose tolerance test*)

PDR – proliferativna dijabetička retinopatija

SGLT-1 – suprijenosnik natrija i glukoze 1 (od engl. *sodium-glucose co-transporter 1*)

SGLT-2 – suprijenosnik natrija i glukoze 2 (od engl. *sodium-glucose co-transporter 2*)

TSH – tireostimulirajući hormon

VLDL – lipoprotein vrlo male gustoće (od engl. *very low density lipoprotein*)

XR – produljeno oslobađanje (od engl. *extended release*)



## 1. UVOD

### 1.1. Šećerna bolest

Šećerna bolest naziv je za skupinu metaboličkih poremećaja koje karakterizira nemogućnost održavanja glukoze u krvi unutar fiziološkog raspona odnosno hiperglikemija. Čimbenici koji, ovisno o etiologiji šećerne bolesti, pridonose hiperglikemiji obuhvaćaju smanjeno izlučivanje inzulina, smanjeno iskorištenje glukoze i povećanu proizvodnju glukoze (1). Kronična hiperglikemija povezana je s dugoročnim oštećenjem, poremećajem te naposljetku zatajenjem različitih organa. Kriteriji za klasifikaciju šećerne bolesti mijenjali su se tijekom godina, a danas se, ovisno o patološkom procesu koji dovodi do hiperglikemije, dijele u četiri skupine:

1. Šećerna bolest tipa 1
2. Šećerna bolest tipa 2
3. Drugi specifični tipovi
4. Gestacijska šećerna bolest (2).

#### 1.1.1. Epidemiologija šećerne bolesti tipa 2

Pretilost, sjedilački način života i nezdrava prehrana rezultirali su dramatičnim porastom broja oboljelih od šećerne bolesti tipa 2. Prema podacima Međunarodne dijabetičke federacije iz 2019. godine procijenjeno je da 463 milijuna ljudi u dobi od 20 do 79 godina boluje od šećerne bolesti, a udio oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 veći je od 90 %. Predviđa se da će ukupan broj oboljelih dosegnuti 578 milijuna do 2030. i 700 milijuna do 2045. godine. U Europi od šećerne bolesti boluje 59 milijuna ljudi, a do 2045. godine predviđa se porast broja oboljelih za 15 %, što je ipak manje u odnosu na ostale dijelove svijeta (3). Prema podacima Nacionalnog registra osoba sa šećernom bolešću CroDiab, u Hrvatskoj se broj osoba oboljelih nastavio povećavati te je 2019. godine bilo 315 298 osoba s dijagnozom šećerne bolesti (4). Analiza trenda podataka CroDiab registra od 2005. do 2014. godine uglavnom ne ukazuje na veća odstupanja u pojedinom udjelu tipa 1, tipa 2 i drugog tipa šećerne bolesti. Udio tipa 1 kreće se od 6,5 % do 7,5 %, tipa 2 od 90 % do 93 %, a drugog tipa bolesti od 0,5 % do 1,5 % (5). Velik problem, kako u svijetu tako i u Hrvatskoj, predstavlja veliki postotak nedijagnosticiranih slučajeva šećerne bolesti koji trenutno iznosi preko 50 % (3).

### 1.1.2. Patofiziologija šećerne bolesti tipa 2

Tri su osnovna metabolička poremećaja u šećernoj bolesti tipa 2: smanjena osjetljivost perifernih tkiva na inzulin - inzulinska rezistencija, poremećena funkcija  $\beta$ -stanica gušterače koja se očituje nedostatnim izlučivanjem inzulina i povećano oslobađanje glukoze i lipida iz jetrenih stanica (1, 6). U uobičajenom kliničkom slijedu razvitka šećerne bolesti tipa 2 mogu se prepoznati tri faze. Najprije dolazi do povećane sekrecije inzulina kao odgovor na inzulinsku rezistenciju kojim se pokušava održati normalna razina glukoze u plazmi. S vremenom se inzulinska rezistencija pogoršava te se, unatoč povišenim vrijednostima inzulina, javlja hiperglikemija (2, 7). U trećoj fazi dolazi do zatajenja  $\beta$ -stanica i smanjenja sekrecije inzulina (7). Zatajenje  $\beta$ -stanica nastaje zbog gubitka funkcije i / ili smanjenja broja istih (8, 9). Značajan uzrok smanjenja broja  $\beta$ -stanica taloženje je amiloida u Langerhansovim otočićima, a depoziti amiloida prisutni su u određenoj mjeri kod 97 % oboljelih od šećerne bolesti (10).

Ulogu u patogenezi šećerne bolesti tipa 2 imaju i masne stanice, probavni sustav,  $\alpha$ -stanice gušterače, bubrezi i mozak (11). U masnim stanicama zdravih pojedinaca inzulin inhibira lipolizu i na taj način suzbija oslobađanje slobodnih masnih kiselina (FFA od engl. *free fatty acid*). Kod oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 inzulinska rezistencija sprječava djelovanje inzulina na masne stanice što dovodi do povećane lipolize i povišene koncentracije FFA-a, a što dodatno potiče inzulinsku rezistenciju. Također, u masnim stanicama dolazi do poremećaja sekrecije različitih vrsta citokina što doprinosi razvitku inzulinske rezistencije (12). Inkretini su hormoni koji se izlučuju iz crijeva kao odgovor na unos hrane u organizam, a uključuju glukagonu sličan peptid 1 (GLP-1 od engl. *glucagon-like peptide-1*) i inzulintropni peptid ovisan o glukozu (GIP od engl. *gastric inhibitory peptide*). Oba hormona aktiviraju receptore na  $\beta$ -stanicama gušterače i doprinose o glukozu ovisnom izlučivanju inzulina od početka obroka, a njihovi se učinci progresivno pojačavaju s porastom koncentracije glukoze u plazmi (13, 14). GLP-1 djeluje i na  $\alpha$ -stanice gušterače te smanjuje sekreciju glukagona i odgađa pražnjenje želuca te također utječe na regulaciju teka za jelo u središnjem živčanom sustavu. Oba hormona vrlo brzo inaktivira enzim dipeptidil-peptidaza 4 (DPP-4) i uklanjaju se iz cirkulacije putem bubrega (14). U osoba sa šećernom bolešću tipa 2 učinak inkretina smanjen je zbog smanjenje sekrecije ili djelotvornosti inkretina (13). Povećanje koncentracije aktivnog oblika GLP-1 u cirkulaciji inaktivacijom enzima DPP-4 ili uporabom agonista GLP-1 receptora noviji je pristup liječenju ove bolesti (15). Kod osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 pojavljuje se i povećano lučenje glukagona iz  $\alpha$ -stanica gušterače što pridonosi razvoju hiperglikemije natašte te nakon obroka, odnosno u postprandijalnom razdoblju (16). U bubrezima se odvija iskorištavanje i

apsorpcija glukoze pomoću suprijenosnika natrija i glukoze 1 i 2 (SGLT-1, SGLT-2 od engl. *sodium-glucose co-transporter 1&2*), pri čemu je SGLT-2 odgovoran za reapsorpciju 90 % glukoze (17). Ako se razina glukoze u krvi poveća iznad bubrežnog praga za glukozu, višak se izlučuje urinom. U bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 povećan je prag za izlučivanje viška glukoze vjerojatno zbog povećane ekspresije SGLT-1 i SGLT-2. To dovodi do povećane reapsorpcije glukoze i doprinosi održavanju hiperglikemije (18). SGLT-2-inhibitori najnovija su skupina oralnih hipoglikemika, a djelovanje ostvaruju kočenjem SGLT-2 suprijenosnika te time snižavaju bubrežni prag za glukozu, povećavajući izlučivanje glukoze urinom (15).

### 1.1.3. Komplikacije šećerne bolesti

Kronično povišena razina glukoze u krvi dovodi do oštećenja krvnih žila (angiopatije) i razvoja kroničnih vaskularnih komplikacija (19). Komplikacije šećerne bolesti dijele se na mikroangiopatije (dijabetička retinopatija, nefropatija, neuropatija) i makroangiopatije (koronarna bolest srca, cerebrovaskularna bolest i periferna vaskularna bolest) (1, 20).

Dijabetička retinopatija vodeći je uzrok gubitka vida u razvijenim zemljama (21, 22). Klinički se razlikuju dva stupnja: neproliferativna dijabetička retinopatija (NPDR) i proliferativna dijabetička retinopatija (PDR) (1). Oštećenje vida uzrokovano je edemom makule, a može se pojaviti u bilo kojem stadiju retinopatije (23). NPDR obilježena je mikroaneurizmama, krvarenjima, eksudacijom, venodilatacijom i intraretinalnim mikrovaskularnim poremećajima (23). Stvaranje neovaskularizacija označava napredovanje prema PDR. U težim slučajevima dolazi do fibrovaskularne proliferacije te uslijed krvarenja iz novih krvnih žila ili ablacije retine može nastati nagli gubitak vida (24).

Dijabetička nefropatija vodeći je uzrok završnog stupnja kronične bubrežne bolesti u zapadnim zemljama. Karakteristične patohistološke promjene sastoje se od zadebljanja glomerularne bazalne membrane, širenja mezangija, nodularne skleroze, promjena u mikrocirkulaciji bubrega te intersticijske fibroze i atrofije tubula (25). Dijabetička nefropatija klinički je obilježena razvojem proteinurije s naknadnim padom glomerularne filtracije koji napreduje tijekom godina (19). Za liječenje koriste se inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE od engl. *angiotensin converting enzyme*) i antagonisti receptora angiotenzina II (ARB od engl. *angiotensin II receptor blocker*) kako bi se postigle ciljne vrijednosti krvnog tlaka, a također je bitna i stroga kontrola glikemije (19, 26, 27).

Dijabetička neuropatija najčešća je komplikacija šećerne bolesti i razvije ju više od 50 % oboljelih (28). Najčešće se manifestira kao distalna simetrična polineuropatija koja zahvaća ekstremitete (1). Tijekom razvitka ove komplikacije dolazi do gubitka i mijeliniziranih i nemijeliniziranih živčanih vlakana. Gubitak nemijeliniziranih vlakana rezultira gubitkom percepcije topline i boli dok oštećenje mijeliniziranih vlakana rezultira gubitkom dodira i percepcije vibracija (29). Uključenost osjetilnih vlakana može rezultirati *pozitivnim* simptomima: hiperestezijama, parestezijama i disestezijama ili *negativnim* simptomima kao što je smanjen osjet, ali čak je do 50 % bolesnika asimptomatsko (30). Kod osoba koje boluju od šećerne bolesti tipa 2 s razvijenom dijabetičkom neuropatijom, promjena stila života, regulacija arterijske hipertenzije i hiperlipidemije uz poboljšanu kontrolu glikemije mogu biti učinkoviti u smanjenju simptoma. Treba izbjegavati alkohol i pušenje te primijeniti vitamine (folnu kiselinu i vitamin B12) ukoliko postoji deficit istih (1). U Hrvatskoj se za liječenje boli uzrokovane dijabetičkom neuropatijom preporučuje primjena tricikličkih antidepresiva, duloksetina, venlafaksina, gabapentina, pregabalina, opioida i tramadola (31).

Osobe koje boluju od šećerne bolesti tipa 2 imaju dva puta veći rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti od osoba koje nemaju šećernu bolest tipa 2 (32). Uz to, kardiovaskularne bolesti vodeći su uzrok pobola i smrtnosti među osobama sa šećernom bolešću (3). Glavni faktori rizika za prerano pojavljivanje kardiovaskularne bolesti u osoba sa šećernom bolešću tipa 2 su bubrežna bolest, dislipidemija, loša kontrola glikemije i povišene vrijednosti krvnog tlaka (19). Visoke vrijednosti glikiranog hemoglobina (HbA1c) povećavaju rizik od kardiovaskularnih komplikacija, ali uzročna povezanost kronične hiperglikemije i razvoja makrovaskularnih komplikacija nije konačno utvrđena (1, 33). Liječenje kardiovaskularnih komplikacija uključuje strogu kontrolu glikemije, liječenje arterijske hipertenzije dijetom s ograničenim unosom soli i terapijom ACE inhibitorima ili ARB-ovima te terapiju statinima i antiagregacijskim lijekovima (niskim dozama aspirina) (34).

#### **1.1.4. Dijagnoza šećerne bolesti**

Dijagnoza šećerne bolesti postavlja se mjerenjem vrijednosti glukoze u plazmi (GUP) ili HbA1c-a. HbA1c pokazatelj je prosječne koncentracije glukoze u plazmi u protekla 2 do 3 mjeseca te se koristi kao biljeg za procjenu primjerenosti upravljanja glikemijom kao i za procjenu rizika za razvoj komplikacija šećerne bolesti (35, 36). Vrijednost glukoze može se mjeriti natašte, nakon 8-14 sati gladovanja, ili 2 sata nakon opterećenja glukozom koja je ekvivalentna 75 g glukoze otopljene u vodi [oralni test opterećenja glukozom (OGTT od engl.

*oral glucose tolerance test*]). Kriteriji za postavljanje dijagnoze su: GUP natašte  $\geq 7$  mmol/l, GUP nakon 2 sata  $\geq 11,1$  mmol/l, HbA1c  $\geq 6,5$  % ili slučajan nalaz GUP  $\geq 11,1$  mmol/l uz prisutnost simptoma hiperglikemije. Kod osoba koje nemaju simptome šećerne bolesti, testiranje treba ponoviti barem dva puta (20). Isti testovi koriste se i za probir na šećernu bolest, a probir treba obuhvatiti osobe starije od 45 godina, osim mlađih od 45 godina s indeksom tjelesne mase (ITM) većim od  $25 \text{ kg/m}^2$  i dodatnim čimbenicima rizika. Testiranje treba ponoviti jednom u tri godine ako su vrijednosti normalne, a jednom godišnje ako se utvrdi predijabetes (37).

### 1.1.5. Liječenje šećerne bolesti tipa 2

Cilj liječenja šećerne bolesti uklanjanje je simptoma vezanih uz hiperglikemiju, sprječavanje ili smanjenje rizika za razvitak kroničnih mikrovaskularnih i makrovaskularnih komplikacija te omogućavanje što bolje kvalitete života bolesnika (38). Za uspješno liječenje osim postizanja ciljnih vrijednosti glikemije, tzv. *glukotrijade* (GUP natašte  $\leq 6,6$  mmol/l; GUP postprandijalno  $\leq 7,8$  mmol/l, HbA1c  $\leq 6,5$  %), potrebno je utvrditi i adekvatno liječiti specifične komplikacije bolesti, popratne kardiovaskularne čimbenike rizika te komorbiditete, kao i procijeniti psihološki profil bolesnika, očekivano trajanje života te prema tome eventualno dodatno prilagoditi individualne ciljeve liječenja (39). Liječenju šećerne bolesti tipa 2 možemo pristupiti na farmakološki i nefarmakološki način.

Nefarmakološko liječenje podrazumijeva terapijsku edukaciju, pravilnu prehranu, tjelovježbu i samokontrolu bolesnika. Terapijska edukacija temelj je liječenja, a cilj je podučiti bolesnika o šećernoj bolesti, pomoći mu u svladavanju vještina primjene terapije i provođenju samokontrole te ga uputiti kako se nositi s mogućim poteškoćama (39). Edukacija omogućava bolju suradljivost bolesnika i motivira ih da preuzmu veću odgovornost i aktivno brinu o vlastitom zdravlju (1). Pravilna je prehrana bitna za prevenciju šećerne bolesti te regulaciju glikemije i tjelesne mase. Pretilost je značajan čimbenik rizika za razvoj šećerne bolesti tipa 2 i bolesti kardiovaskularnog sustava i mnoge studije sugeriraju da je regulacija tjelesne mase najvažnije terapijsko sredstvo za bolesnike sa šećernom bolesti tipa 2 (40). Pravilna prehrana može znatno pridonijeti boljoj regulaciji šećerne bolesti i smanjiti HbA1c za 1,0 do 2,0 % (41). Savjete o prehrani trebalo bi prilagoditi svakome individualno uzimajući u obzir osobne, kulturološke i socijalne karakteristike bolesnika (42). Tjelovježba je važan dio ukupnoga programa liječenja šećerne bolesti te znatno utječe na njen tijek, nastanak i progresiju

komplikacija kao i na ukupnu smrtnost (39). Za optimalnu regulaciju glikemije bolesnici sa šećernom bolešću tipa 2 trebali bi provoditi tjelesnu aktivnost svaki dan, ili barem ne imati stanku dužu od 2 dana, uz minimalno trajanje aktivnosti od 150 minuta tjedno. Tjelesna aktivnost trebala bi uključivati aerobne vježbe i vježbe snage (39, 43).

U oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 poseže se za farmakološkim liječenjem kada osnovni principi liječenja ne daju željene rezultate. Lijekovi koji se danas koriste mogu se podijeliti u tri osnovne skupine:  $\beta$ -citotropni lijekovi, ne- $\beta$ -citotropni lijekovi i inzulinski pripravci. Prema mehanizmu djelovanja oralnih antihiperглиkemika i ostalih neinzulinskih lijekova razlikuje se skupina  $\beta$ -citotropnih lijekova koja izravno stimulira  $\beta$ -stanice na lučenje inzulina neovisno o razini glukoze u krvi (preparati sulfonil uree i glinidi) i skupina ne- $\beta$ -citotropnih lijekova koja antihiperглиkemijski učinak postiže drugim mehanizmima (bigvanidi, tiazolidindioni, inhibitori  $\alpha$ -glukozidaze, DPP-4 inhibitori i SGLT-2-inhibitori). Učinak prvih tako ovisi o funkciji  $\beta$ -stanica u Langerhansovim otočićima gušterače, a kod drugih se pri niskim koncentracijama glukoze u plazmi ne opaža hipoglikemijski učinak. Kao posebna skupina lijekova izdvaja se neinzulinska injektibilna terapija, odnosno skupina GLP-1 receptor agonista koja svoj učinak temelji na stimulaciji specifičnih GLP-1 receptora te tako podstiče o glukozi ovisnu sekreciju inzulina iz gušterače, ali i na nizu drugih učinaka u organizmu važnih za održavanje homeostaze glukoze (15).

Pripravci inzulina mogu se, u ovisnosti o vremenu potrebnom za početak djelovanja i trajanju učinka, podijeliti u četiri skupine: brzodjelujući, srednjedugodjelujući, dugodjelujući te predmiješani inzulinski pripravci (44). Skupina brzodjelujućih inzulina, koji se nazivaju i prandijalni inzulini, obuhvaća pripravke humanih inzulina i pripravke inzulinskih analoga (lispro, aspart, glulizin) (45). Ovi se inzulini uobičajeno primjenjuju prije obroka. Inzulinski analozi imaju brži početak i kraće trajanje djelovanja te pružaju bolju kontrolu postprandijalne glikemije od humanog inzulina (46). Neutralni protaminski Hagedorn inzulini (NPH) je srednjedugodjelujući inzulini čiji su apsorpcija i početak djelovanja odgođeni kombiniranjem odgovarajuće količine inzulina i protamina. Primjenjuje se kao bazalni inzulini, najčešće dva puta dnevno (47). Bazalni inzulinski analozi su dugodjelujući inzulini koji oponašaju bazalnu sekreciju endogenog inzulina tijekom dana, a uključuju inzulini glargin i inzulini detemir te dva predstavnika druge generacije dugodjelujućih inzulina, inzulini glargin U300 i inzulini degludek (15, 44, 48). Obično se primjenjuju prije spavanja i osiguravaju bolju regulaciju koncentracije GUP-a natašte (49, 50). Dugodjelujući inzulinski analozi osiguravaju ravnomjerniju koncentraciju inzulina u plazmi nakon primjene i smanjuju rizik od noćne hipoglikemije (51).

Predmiješani inzulinski pripravci bifazične su mješavine brzodjelujućeg inzulina i istog inzulina kristaliziranog s protaminom. Njihova je primjena praktična i podrazumijeva manje svakodnevnih injekcija pa ih često koriste starije osobe sa šećernom bolesti tipa 2 (52). Treba imati na umu da postoji nekoliko oblika primjene inzulinske terapije, a liječnik odabire onaj režim koji je najprimjereniji za pojedinu osobu (38).

## 1.2. Metformin

Metformin je predstavnik skupine bigvanida i lijek je prvog izbora za liječenje šećerne bolesti tipa 2. Poluvijek eliminacije metformina iznosi od 1,5 do 3 sata, lijek se ne veže se za proteine plazme, ne metabolizira se te se izlučuje bubrezima kao aktivni spoj (47).

### 1.2.1. Mehanizam djelovanja

Metformin svoj antihiperглиkemijski učinak primarno ostvaruje kočenjem stvaranja te oslobađanja glukoze u jetrenim stanicama te poboljšanjem iskorištavanja glukoze u perifernim tkivima. Brojna *in vitro* i *in vivo* istraživanja pokazala su da metformin inhibira glukoneogenezu (53-56). Metformin također smanjuje aktivnost glukoza-6-fosfataze u jetri i tako smanjuje glikogenolizu. Glukagon je aktivator jetrene adenilat ciklaze, a sposobnost inzulina da istu inhibira smanjuje se u inzulinskoj rezistenciji. Metformin oporavlja sposobnost inhibicije, čime se objašnjava poboljšanje djelovanja inzulina u jetri (57).

U prisutnosti hiperglikemije i / ili inzulinske rezistencije metformin povećava inzulinom posredovano iskorištenje glukoze u perifernim tkivima (57). Poboljšanje iskorištenja glukoze gotovo je u potpunosti rezultat neoksidativnog metabolizma, pokazatelja sinteze glikogena, iako se primjenom metformina natašte postiže i povećanje oksidacije glukoze (58). Povećano iskorištenje glukoze najznačajnije je u skeletnim mišićima. Metformin taj učinak ostvaruje pomoću povećane translokacije i aktivnosti glukoznog transportera 1 i 4 (GLUT1, GLUT4 od eng. *glucose transporter 1&4*) (57).

Indirektna kalorimetrijska mjerenja u oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 pokazala su smanjenu oksidaciju lipida prilikom primjene metformina, dok je oksidacija glukoze bila neznatno povećana. Sprječavanje oksidacije lipida i FFA u korelaciji je sa smanjenjem proizvodnje glukoze u jetri, što implicira da smanjena opskrba jetre energijom koja nastaje oksidacijom masnih kiselina pridonosi smanjenoj glukoneogenezi. Metformin može sniziti razinu cirkulirajućih FFA, vjerojatno povećanom reesterifikacijom, a ne smanjenom lipolizom

(59). Liječenje metforminom također smanjuje razinu triglicerida u plazmi, a taj učinak nastaje uslijed smanjene sinteze i povećanog klirensa lipoproteina vrlo male gustoće (VLDL od engl. *very low density lipoprotein*) (60). Smanjenje dotoka FFA u jetru, smanjena sinteza triglicerida i povećana osjetljivost na inzulin mogu doprinijeti smanjenju nakupljanja masti u jetri (56).

### 1.2.2. Klinička primjena

Metformin je zlatni standard u liječenju šećerne bolesti tipa 2, a za to su zaslužni niska cijena, dobar sigurnosni profil (vrlo nizak rizik od razvoja hipoglikemije) i povezanost sa stabilnom tjelesnom masom (61). Također, prospektivna je studija pokazala da terapija metforminom smanjuje rizik od makrovaskularnih i mikrovaskularnih oboljenja (62). Može se koristiti kao monoterapija ili u kombinaciji s drugim terapijskim opcijama za liječenje šećerne bolesti tipa 2 (61). Iako je preporučena maksimalna doza 2,55 g dnevno, kod većine se oboljelih maksimalna učinkovitost ostvaruje ukupnom dnevnom dozom od 2000 mg. Savjetuje se postupno uvođenje i titracija lijeka do optimalne ili podnošljive doze (47). Terapija metforminom smanjuje razinu HbA1c-a za 1 do 1,5 % (63). Metformin je kontraindiciran u bolesnika s teškom kroničnom bolešću bubrega [procijenjena brzina glomerularne filtracije, eGFR (od engl. *estimated glomerular filtration rate*) < 30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>], uznapredovalom bolesti jetre, alkoholizmom, akutnim kongestivnim srčanim zatajenjem, respiratornim zatajenjem i stanjima koja su karakterizirana acidozom (20).

### 1.2.3. Nuspojave

Najčešće nuspojave metformina su gastrointestinalne, a uključuju proljev, mučninu, povraćanje i nelagodu u trbuhu. Gastrointestinalne nuspojave obično su blage, prolazne i ovisne o dozi, ali se mogu pojaviti u 50 % bolesnika. Oko 5 % pojedinaca ne može podnijeti lijek, čak ni u niskim dozama (64). Ove nuspojave mogu biti povezane s nakupljanjem lijeka u stanicama tankog crijeva. Preparati metformina s produljenim oslobađanjem (XR od engl. *extended release*) povezani su s manje gastrointestinalnih nuspojava (65).

Laktacidoza je puno rjeđa, ali potencijalno smrtonosna nuspojava terapije metforminom. Metformin povećava koncentraciju laktata u plazmi inhibicijom kompleksa I. mitohondrijskog respiracijskog lanca što dovodi do poremećaja glukoneogeneze u jetri i inhibicije respiracijskog ciklusa mitohondrija pretežno u jetri, ali i u skeletnim mišićima, srčanom mišiću i bubrezima (66, 67). Povećanje koncentracije laktata posebno je izraženo pri



povišenoj koncentraciji metformina u plazmi koja se javlja zbog smanjenog bubrežnog klirensa u uznapredovanoj kroničnoj bubrežnoj bolesti ili akutnoj bubrežnoj ozljedi. Za nastanak laktacidoze povezane s metforminom (MALA, od engl. *metformin-associated lactic acidosis*) obično je, uz bubrežno oštećenje, potrebna prisutnost drugih stanja koja dodatno narušavaju proizvodnju ili izlučivanje laktata (sepsa, ciroza jetre ili hipoperfuzija) (66). Istraživanje iz 2017. godine pokazalo je da je akutna bubrežna ozljeda najznačajniji rizični čimbenik za razvoj laktacidoze te da bi se terapija metforminom trebala privremeno prekinuti u slučaju akutnog bubrežnog oštećenja (68).

Nedostatak vitamina B12 još je jedna moguća nuspojava o kojoj su napravljena brojna istraživanja (64). Točan mehanizam nastanka još uvijek nije poznat, ali metformin najvjerojatnije ometa o kalciju ovisnu apsorpciju kompleksa vitamina B12 i unutarnjeg čimbenika (IF, od engl. *intrinsic factor*) u terminalnom ileumu. Hidrofobni rep metformina proteže se u lipidni sloj stanične membrane, a protonizirana skupina stvara pozitivan naboj na površini membrane. To uzrokuje odbijanje dvovalentnih kationa i ometa funkcije stanične membrane koje su ovisne o istima (69). Kao jedan od rizičnih čimbenika za razvoj nedostatka vitamina B12 navodi se niža vrijednost HbA1c-a. Ta se povezanost može barem djelomično objasniti poštivanjem liječenja metforminom koje je često nedostatno zbog gastrointestinalnih nuspojava. Smatra se da pacijenti s lošom kontrolom glikemije (višim HbA1c-om) ne poštuju propisano liječenje metforminom pa imaju više razine vitamina B12 (70). Veća dnevna doza metformina i starija dob bolesnika također su čimbenici rizika, dok su podaci o utjecaju dužine terapije različiti (70-72).

### 1.3. Vitamin B12

Vitamin B12 je vitamin topljiv u vodi koji je prirodno prisutan u nekim namirnicama, a iz hrane se oslobađa djelovanjem klorovodične kiseline u želucu. Slobodni se vitamin B12 veže za IF kojeg luče parijetalne stanice sluznice želuca te se nastali kompleks apsorbira u završnom dijelu ileuma. Vitamin B12 postoji u nekoliko oblika i sadrži mineral kobalt pa se spojevi s aktivnošću vitamina B12 zajedno nazivaju kobalamini. U ljudskom organizmu nalazimo dva aktivna oblika vitamina B12: metilkobalamin i 5-deoksiadenozilkobalamin (73). Vitamin B12 kofaktor je za dva enzima: metionin sintazu i L-metilmalonil-CoA mutazu, a potreban je i za pravilnu neurološku funkciju, proizvodnju crvenih krvnih stanica i sintezu deoksiribonukleinske kiseline (DNK) (74).

Glavni su izvori vitamina B12 u ljudskoj prehrani meso i ostali proizvodi životinjskog podrijetla. Životinjska tkiva u kojim se pohranjuje vitamin B12 najbogatiji su izvor vitamina B12. Tako su najbogatiji izvori jetra i bubreg, a slijede ih mliječni proizvodi, meso, jaja, riba i školjke. Znatne količine vitamina B12 nalaze se i u nekim vrstama jestivih algi te fermentiranim proizvodima od soje. Preporučeni dnevni unos vitamina B12 za osobe starije od 14 godina je 2,5 µg/dan (75).

Nedostatak vitamina B12 češće se javlja tijekom rasta u djece i u adolescenciji, potom u trudnoći i laktaciji, u starijih ljudi te ljudi koji se pridržavaju veganske ili vegetarijanske prehrane. Čimbenici rizika za razvoj nedostatka vitamina B12 su sljedeći:

- gubitak funkcije parijetalnih stanica želučane sluznice koji može nastati zbog perniciozne anemije, *Helicobacter pylori* infekcije, gastrektomije, kroničnog korištenja inhibitora protonske pumpe (IPP) i nasljednih poremećaja
- insuficijencija gušterače
- smanjena crijevna apsorpcija zbog resekcije ileuma, Chornove bolesti, parazitskih bolesti
- kemijski čimbenici u što se ubrajaju kronična konzumacija alkohola, metformin, pušenje, dušikov oksid i oralni kontraceptivi (76).

Nedostatak vitamina B12 najčešće se očituje pojavom hematoloških poremećaja. Može se razviti megaloblastična anemija, ali i neutropenija i trombocitopenija (77). Kronični nedostatak vitamina B12 također može uzrokovati periferne i / ili centralne neurološke poremećaje. Najraniji simptomi periferne neuropatije obično su simetrične parestezije ruku i nogu, gubitak proprioceptije i osjećaja vibracije te ataksičan hod. Neuropatija može biti jedina klinička prezentacija nedostatka vitamina B12, a u osoba sa šećernom bolešću tipa 2 nije moguće razlikovati je od one koja nastaje kao mikrovaskularna komplikacija same bolesti (70). Cerebralni i psihijatrijski znakovi uključuju oštećenje pamćenja, depresiju, razdražljivost, psihozu i demenciju (76). Iako nešto rjeđe nedostatak vitamina B12 može se manifestirati glositisom, hiperpigmentacijama, neplodnošću ili kardiomiopatijom (77). Još uvijek ne postoji idealan test za mjerenje nedostatka vitamina B12, ali preporuča se mjerenje serumske koncentracije vitamina B12. Dodatno se može koristiti mjerenje serumske koncentracije metilmalonske kiseline, holotranskobalamina i homocisteina (77). Nedostatak vitamina B12 obično se liječi injekcijama vitamina B12 jer se tako zaobilaze potencijalne prepreke u apsorpciji, ali i visoke doze oralnog vitamina B12 mogu biti učinkovite (73).

## 2. CILJEVI

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

- Ispitati postoji li razlika u koncentraciji vitamina B12 i homocisteina između osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 na terapiji metforminom i osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 koje u terapiji nemaju metformin.
- Ispitati odnos terapije metforminom i nedostatka vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2.
- Ispitati odnos preporučenog dnevnog unosa vitamina B12 hranom i nedostatka vitamina B12.
- Ispitati odnos popratne terapije, konzumacije alkohola, dobi ispitanika, ITM-a, trajanja šećerne bolesti, trajanja terapije metforminom, dnevne doze i kumulativne doze metformina i nedostatka vitamina B12.
- Ispitati odnos vrijednosti GUP-a, HbA1c-a, tireostimulirajućeg hormona (TSH) i crvene krvne slike (CKS) i nedostatka vitamina B12.
- Ispitati odnos komplikacija šećerne bolesti i nedostatka vitamina B12.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječna studija (78).

#### 3.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno na Zavodu za endokrinologiju Klinike za unutarnje bolesti u Kliničkom bolničkom centru Osijek u razdoblju od veljače do srpnja 2020. godine, uz suglasnost svih predstojnika odjela, Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Osijek i Etičkog povjerenstva Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku Medicinskog fakulteta Osijek.

U istraživanje su uključeni bolesnici koji boluju od šećerne bolesti tipa 2 i na terapiji su metforminom najmanje godinu dana, dok osobe koje boluju od šećerne bolesti tipa 2 i prethodno nisu liječene metforminom čine kontrolnu skupinu. Očekivana veličina uzorka bila je 50 ispitanika koji su na terapiji metforminom i 50 ispitanika za kontrolnu skupinu. Iz obje skupine isključeni su ispitanici u slučaju kroničnog bubrežnog zatajenja, alkoholizma, megaloblastične anemije, trudnoće, nadoknade vitamina B12 oralnim pripravcima u posljednja 3 mjeseca ili intramuskularnim injekcijama u posljednjih godinu dana.

#### 3.3. Metode

Prilikom posjete dijabetološkom centru ispitanici su ispunili dva anketna upitnika. Prvim su se upitnikom procijenile osnovne kliničke karakteristike koje se odnose na šećernu bolest. Bilježili su se dob, spol, visina, tjelesna masa, godina dijagnoze šećerne bolesti tipa 2, prisutnost metformina u terapiji, doza koja se primjenjuje te trajanje terapije, ostala popratna terapija, vrijednosti GUP-a, HbA1c-a, TSH i CKS-a u posljednjem laboratorijskom nalazu, prisutnost komplikacija šećerne bolesti, prisutnost kardiovaskularnih poremećaja, prisutnost ostalih kroničnih bolesti, prethodni kirurški zahvati, fiziološke funkcije i navike te uzimanje dodataka prehrani (Prilog 1). Drugi se upitnik odnosio na procjenu dnevnog unosa vitamina B12 hranom (Prilog 2). Preporučeni dnevni unos vitamina B12 hranom iznosi 2,5 µg/dan (75). Također su prikupljeni uzorci krvi ispitanika za analizu serumske koncentracije vitamina B12 i homocisteina. Nedostatak vitamina B12 definiran je kao serumska koncentracija vitamina B12 manja od 220 pmol/l (79-82).

### 3.4. Statističke metode

Za izračun je li preporučeni dnevni unos vitamina B12 hranom zadovoljen, korišten je Program Prehrane Web verzija 2.0.0. (IG PROG, Rijeka, Hrvatska; <https://www.programprehrane.com>). Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su  $\chi^2$  testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Numerički podatci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike numeričkih varijabli između dvije nezavisne skupine testirane su Mann Whitneyevim U testom (83). Sve P vrijednosti dvostrane su. Razina značajnosti je postavljena na  $\alpha = 0,05$ . Za statističku analizu korišten je statistički program MedCalc Statistical Software version 19.1.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2020).

#### 4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 69 ispitanika od kojih je 28 (41 %) ispitanika bez terapije metforminom (kontrolna skupina) i 41 (59 %) ispitanik na terapiji metforminom. S obzirom na spol nešto je više muškaraca, 39 (56,5 %), u odnosu na žene, ali bez značajne razlike.

Dob ispitanika u obje skupine podjednaka je, medijana 66 godina, u rasponu od 36 do 85 godina u skupini svih ispitanika. U visini, masi i ITM-u ne postoje značajne razlike. Značajno stariji bili su ispitanici prilikom postavljanja dijagnoze šećerne bolesti tipa 2 u skupini kontrola, medijana dobi od 64 godine (interkvartilnog raspona od 51 do 64), u odnosu na ispitanike na terapiji metforminom (Mann Whitney U test,  $P = 0,001$ ).

Ispitanici koji su na terapiji metforminom značajno se dulje liječe od šećerne bolesti tipa 2, medijana 12 godina, u raspon od 5 do najviše 15 godina (Mann Whitney U test,  $P = 0,001$ ), u odnosu na kontrolnu skupinu (Tablica 1).

**Tablica 1. Raspodjela ispitanika prema demografskim, antropometrijskim i kliničkim obilježjima**

	Kontrola	Metformin	<i>P</i>
<b>Spol (n, %)</b>			
Muškarci	13 (46)	26 (63)	0,16*
Žene	15 (54)	15 (37)	
<b>Ostala obilježja (medijan, interkvartilni raspon)</b>			
Dob [godine]	66,5 (58,3 - 74)	66 (57 - 70,5)	0,51 <sup>†</sup>
Visina [m]	1,68 (1,6 - 1,8)	1,71 (1,6 - 1,8)	0,46 <sup>†</sup>
Masa [kg]	79,5 (66,3 - 103,3)	90 (75,5 - 107)	0,09 <sup>†</sup>
Indeks tjelesne mase [kg/m <sup>2</sup> ]	27,91 (24,3 - 35,1)	29,86 (27,3 - 35,5)	0,09 <sup>†</sup>
Dob kod postavljanja dijagnoze šećerne bolesti tipa 2 [godine]	64 (51 - 64)	52 (49,5 - 59)	0,001 <sup>†</sup>
Trajanje bolesti [godine]	0 (0 - 13)	12 (5 - 14,5)	0,001 <sup>†</sup>

\* $\chi^2$  test, <sup>†</sup>Mann Whitney U test

U skupini ispitanika koji su na terapiji metforminom, trajanje terapije je medijana 10 godina (interkvartilnog raspona od 5 do 14 godina) u rasponu od 2 do 24 godine. S obzirom na dozu kod 26 (63 %) ispitanika doza je viša od 1000 mg, a kod njih 15 (37 %) doza je 1000 mg ili manja.

Najučestaliji komorbiditet je arterijska hipertenzija kod 59 (86 %) ispitanika te hiperlipidemija kod njih 34 (49 %), i to značajnije više kod ispitanika koji su na terapiji metforminom ( $\chi^2$  test,  $P = 0,02$ ). (Tablica 2).

**Tablica 2. Prisutnost komorbiditeta u odnosu na skupine**

	Broj (%) ispitanika prema skupinama			<i>P</i> *
	Kontrola	Metformin	Ukupno	
<b>Arterijska hipertenzija</b>	23 (82)	36 (88)	59 (86)	0,51
<b>Kardiomiopatija</b>	7 (25)	7 (17)	14 (20)	0,42
<b>Hiperlipidemija</b>	9 (32)	25 (61)	34 (49)	0,02
<b>Hipotireoza</b>	3 (11)	4 (10)	7 (10)	0,90

\* $\chi^2$  test

Alkohol konzumira 19 (28 %) ispitanika, a puši ih 16 (23 %), značajnije više iz kontrolne skupine, dok je bivših pušača značajno više iz skupine na terapiji metforminom ( $\chi^2$  test,  $P = 0,03$ ).

Najučestalija komplikacija je cerebrovaskularna bolest kod 27 (39 %) ispitanika, a najučestalija mikrovaskularna komplikacija je polineuropatija koja je prisutna kod njih 23 (33 %). Ostale komplikacije bilježe se u nešto manjem broju. Ni u jednoj komplikaciji ne postoje značajne razlike (Tablica 3).

**Tablica 3. Mikrovaskularne i makrovaskularne komplikacije šećerne bolesti u odnosu na skupine**

	Broj (%) ispitanika prema skupinama			<i>P</i> *
	Kontrola	Metformin	Ukupno	
<b>Polineuropatija</b>	6 (21)	17 (42)	23 (33)	0,08
<b>Retinopatija</b>	4 (14)	6 (15)	10 (15)	0,97
<b>Nefropatija</b>	4 (14)	4 (10)	8 (12)	0,56
<b>Koronarna bolest</b>	3 (11)	10 (24)	13 (19)	0,15
<b>Cerebrovaskularna bolest</b>	10 (36)	17 (42)	27 (39)	0,63
<b>Periferna arterijska bolest</b>	4 (14)	3 (7)	7 (10)	0,35

\* $\chi^2$  test

Popratnu terapiju šećerne bolesti tipa 2 imaju 44 (64 %) ispitanika, i to značajnije više iz skupine koja je na terapiji metforminom ( $\chi^2$  test,  $P = 0,003$ ) (Tablica 4).

**Tablica 4. Raspodjela ispitanika u odnosu na popratnu terapiju šećerne bolesti i skupine**

	Broj (%) ispitanika prema skupinama			<i>P</i> *
	Kontrola	Metformin	Ukupno	
<b>Popratna terapija šećerne bolesti</b>				
<b>Ne</b>	16 (57)	9 (22)	25 (36)	0,003
<b>Da</b>	12 (43)	32 (78)	44 (64)	
<b>Ukupno</b>	28 (100)	41 (100)	69 (100)	
<b>Derivati sulfonilureje i meglitinidi</b>	5 (18)	18 (44)	23 (33)	0,02
<b>DPP4<sup>†</sup>-inhibitori</b>	1 (4)	16 (39)	17 (25)	0,001
<b>SGLT2<sup>‡</sup>-inhibitori</b>	0	2 (5)	2 (3)	0,24
<b>GLP1<sup>§</sup>-analози</b>	0	6 (15)	6 (7)	0,03
<b>Preparati inzulina</b>	5 (18)	17 (42)	22 (32)	0,04

\* $\chi^2$  test, <sup>†</sup>dipeptidil-peptidaza 4, <sup>‡</sup>suprijenosnik natrija i glukoze 2 (od engl. *sodium-glucose co-transporter 2*), <sup>§</sup>glukagonu sličan peptid 1 (od engl. *glucagon-like peptide-1*)



Ispitanici na metforminu značajnije više uzimaju statine ( $\chi^2$  test,  $P = 0,04$ ) i acetilsalicilnu kiselinu ( $\chi^2$  test,  $P = 0,02$ ). Iako ispitanici na terapiji metforminom u većem broju uzimaju ACE inhibitore i ARB-ove, razlika nije statistički značajna (Tablica 5).

**Tablica 5. Raspodjela ispitanika u odnosu na popratnu terapiju i skupine**

	Broj (%) ispitanika prema skupinama			<i>P</i> *
	Kontrola	Metformin	Ukupno	
<b>ACE<sup>†</sup> inhibitori i ARB<sup>‡</sup></b>	12 (43)	27 (66)	39 (57)	0,06
<b>β-blokatori</b>	11 (39)	16 (39)	27 (39)	0,98
<b>Blokatori kalcijevih kanala</b>	12 (43)	12 (29)	24 (35)	0,25
<b>Diuretici</b>	11 (39,3)	18 (44)	29 (42)	0,70
<b>Statini</b>	6 (21)	19 (46)	25 (36)	0,04
<b>Acetilsalicilna kiselina</b>	2 (7)	13 (32)	15 (22)	0,02
<b>IPP<sup>§</sup>, antagonisti H2 receptora</b>	6 (21)	11 (27)	17 (25)	0,61

\* $\chi^2$  test, <sup>†</sup>angiotenzin konvertirajući enzim (od engl. *angiotensin converting enzyme*), <sup>‡</sup>antagonisti receptora angiotenzina II (od engl. *angiotensin II receptor blocker*) <sup>§</sup>inhibitori protonske pumpe

S obzirom na biokemijske pokazatelje ne uočavamo značajne razlike u odnosu na to jesu li ispitanici na terapiji metforminom ili ne (Tablica 6).

**Tablica 6. Biokemijski pokazatelji u odnosu na skupine**

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Kontrola	Metformin	
<b>GUP<sup>†</sup> [mmol/l]</b>	10,85 (8,5 - 12,7)	10,4 (7,5 - 12)	0,17
<b>HbA1c<sup>‡</sup> [%]</b>	8,1 (7,1 - 9,3)	8,2 (7,3 - 9,7)	0,70
<b>TSH<sup>§</sup> [ml/UI]</b>	1,41 (0,8 - 2,4)	1,18 (0,7 - 1,8)	0,10
<b>Eritrociti [10<sup>12</sup>/l]</b>	4,8 (4,5 - 5,2)	4,86 (4,4 - 5,2)	0,95
<b>Hemoglobin [g/l]</b>	143,5 (133,5 - 149,8)	138 (125,5 - 151,5)	0,30
<b>Hematokrit [l/l]</b>	0,418 (0,394 - 0,448)	0,41 (0,366 - 0,435)	0,22
<b>MCV<sup>¶</sup> [fl]</b>	86,65 (83,2 - 89,8)	84,7 (81 - 88)	0,05
<b>MCH<sup>  </sup> [pg]</b>	29,5 (28,7 - 31,1)	29,3 (27,3 - 30,5)	0,17
<b>MCHC<sup>**</sup> [g/l]</b>	341,5 (327,8 - 354)	340 (330 - 354)	0,87

\*Mann Whitney U test, <sup>†</sup>glukoza u plazmi, <sup>‡</sup>glikirani hemoglobin, <sup>§</sup>tireostimulirajući hormon, <sup>¶</sup>prosječni volumen eritrocita (od engl. *mean corpuscular volume*), <sup>||</sup>prosječni hemoglobin u eritrocitu (od engl. *mean corpuscular hemoglobin*), <sup>\*\*</sup>prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (od engl. *mean corpuscular hemoglobin concentration*)

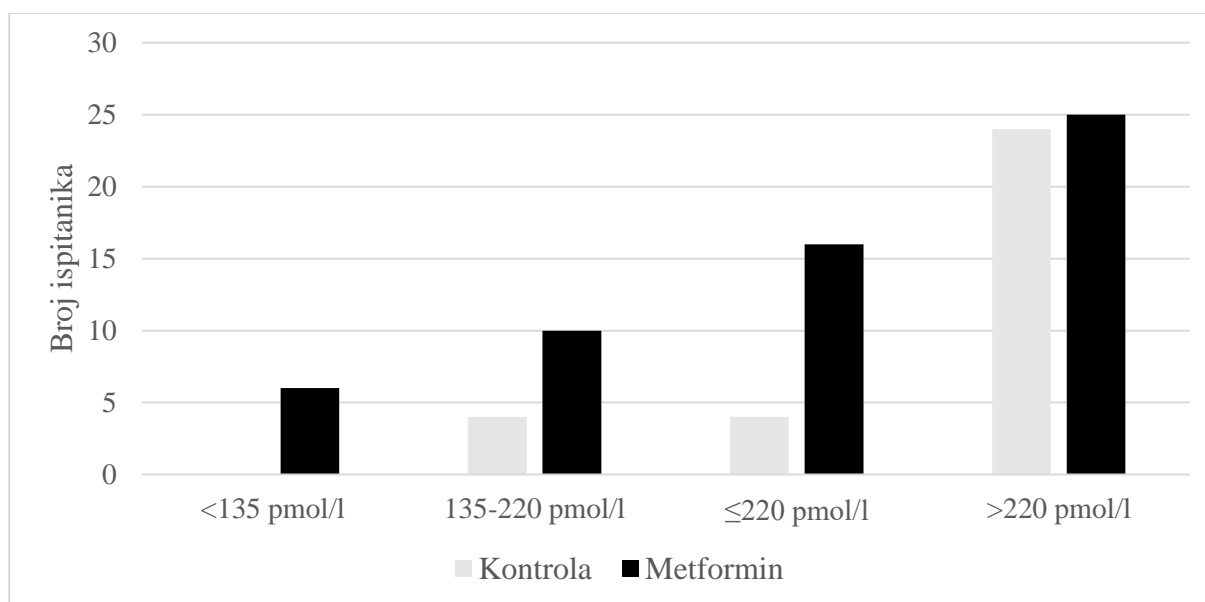
U Tablici 7 možemo vidjeti da je preporučeni dnevni unos vitamina B12 kroz hranu podjednako zadovoljen u obje skupine. Ne postoji značajna razlika u koncentraciji vitamina B12 i homocisteina između kontrolne skupine i skupine na terapiji metforminom. Nedostatak vitamina B12 ima 20 (29 %) ispitanika, značajno češće u skupini na terapiji metforminom (Fisherov egzakti test, *P* = 0,03) (Tablica 7).

**Tablica 7. Dnevni unos vitamina B12, koncentracija vitamina B12 i homocisteina te nedostatak vitamina B12 u odnosu na skupine**

	<b>Kontrola</b>	<b>Metformin</b>	<b>P</b>
<b>Zadovoljen preporučeni dnevni unos vitamina B12 kroz hranu (n, %)</b>	14 (50)	17 (41)	0,62*
<b>Koncentracija vitamina B12 (medijan, interkvartilni raspon)</b>	286 (239,5 - 369,3)	252 (187,5 - 341)	0,08†
<b>Koncentracija homocisteina (medijan, interkvartilni raspon)</b>	12 (8 - 18)	12,5 (10 - 15,8)	0,67†
<b>Imaju nedostatak vitamina B12 (n, %)</b>	4 (14)	16 (39)	0,03*

\*Fisherov egzakti test, †Mann Whitney U test

Slika 1 prikazuje raspodjelu ispitanika u odnosu na serumsku koncentraciju vitamina B12. Koncentracija manja od 135 pmol/l predstavlja apsolutni nedostatak vitamina B12, koncentracija od 135 do 220 pmol/l predstavlja granični nedostatak, a vrijednost veća od 220 pmol/l normalna je razina vitamina B12. Nitko od ispitanika u kontrolnoj skupini nema apsolutni nedostatak vitamina B12 te većim dijelom imaju normalne koncentracije vitamina B12, a ispitanici na terapiji metforminom u usporedbi s kontrolom češće imaju apsolutni i granični nedostatak vitamina B12. Između skupina s apsolutnim nedostatkom, graničnim nedostatkom i normalnom koncentracijom vitamina B12 dobivena je statistički značajna razlika ( $\chi^2$  test,  $P = 0,04$ ).



Slika 1. Raspodjela ispitanika u odnosu na koncentraciju vitamina B12 u serumu. Između skupina s apsolutnim nedostatkom, graničnim nedostatkom i normalnom koncentracijom vitamina B12 dobivena je statistički značajna razlika ( $\chi^2$  test,  $P = 0,04$ ).

Nema povezanosti unosa vitamina B12 hranom u odnosu na to imaju li ispitanici nedostatak vitamina B12 (Tablica 8).

**Tablica 8. Preporučeni dnevni unos vitamina B12 hranom u odnosu na nedostatak vitamina B12**

Preporučeni dnevni unos vitamina B12 hranom	Broj (%) ispitanika prema skupinama			$P^*$
	Nema nedostatak B12	Ima nedostatak B12	Ukupno	
Zadovoljavajući	20 (41)	11 (55)	31 (45)	0,3
Nezadovoljavajući	29 (59)	9 (45)	38 (55)	
<b>Ukupno</b>	49 (100)	20 (100)	69 (100)	

\* $\chi^2$  test

Ispitanici s nedostatkom vitamina B12 značajno više koriste acetilsalicilnu kiselinu (Fisherov egzaktni test,  $P = 0,008$ ), dok u ostalim skupinama lijekova nema značajnih razlika s obzirom na nedostatak vitamina B12 (Tablica 9).

**Tablica 9. Popratna terapija u odnosu na nedostatak vitamina B12**

	Broj (%) ispitanika prema skupinama			<i>P</i> *
	Nema nedostatak B12	Ima nedostatak B12	Ukupno	
<b>ACE<sup>†</sup> inhibitori i ARB<sup>‡</sup></b>	27 (55)	12 (60)	39 (57)	0,79
<b>β-blokatori</b>	19 (39)	8 (40)	27 (39)	> 0,99
<b>Blokatori kalcijevih kanala</b>	19 (39)	5 (25)	24 (35)	0,4
<b>Diuretici</b>	20 (41)	9 (45)	29 (42)	0,79
<b>Statini</b>	16 (33)	9 (45)	25 (36)	0,41
<b>Acetilsalicilna kiselina</b>	6 (12)	9 (45)	15 (22)	0,008
<b>IPP<sup>§</sup>, antagonisti H2 receptora</b>	13 (27)	4 (20)	17 (25)	0,76

\*Fisherov egzaktni test, <sup>†</sup>angiotenzin konvertirajući enzim (od engl. *angiotensin converting enzyme*), <sup>‡</sup>antagonisti receptora angiotenzina II (od engl. *angiotensin II receptor blocker*)  
<sup>§</sup>inhibitori protonske pumpe

Alkohol je konzumiralo 13 (27 %) ispitanika koji nemaju nedostatak vitamina B12 i 6 (30 %) ispitanika s nedostatkom vitamina B12, bez značajne razlike između skupina (Fisherov egzaktni test,  $P = 0,77$ ).

Trajanje šećerne bolesti tipa 2 dulje je u skupini s nedostatkom vitamina B12, ali bez statističke značajnosti. Trajanje terapije metforminom značajnije je dulje u skupini koja ima nedostatak vitamina B12, medijana 10 godina (interkvartilnog raspona od 4,3 do 12,8), nego u skupini bez nedostatka (Mann Whitney U test,  $P = 0,008$ ). Dnevna doza metformina značajno je veća u skupini s nedostatkom vitamina B12 (Mann Whitney U test,  $P = 0,007$ ) u odnosu na skupinu koja ima normalnu koncentraciju vitamina B12. Također je i kumulativna doza metformina značajno veća u skupini s nedostatkom vitamina B12, medijana  $13 \cdot 10^3$  (intervartilnog raspona od  $8,5 \cdot 10^3$  do  $24 \cdot 10^3$ ), u rasponu od 0 do  $48 \cdot 10^3$ , u odnosu na skupinu koja nema nedostatak (Mann Whitney U test,  $P = 0,005$ ) (Tablica 10).

**Tablica 10. Obilježja ispitanika, trajanje bolesti, trajanje terapije metforminom, dnevna i kumulativna doza metformina u odnosu na nedostatak vitamina B12**

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Nema nedostatak B12	Ima nedostatak B12	
<b>Dob ispitanika [godine]</b>	64 (57 - 73)	68,5 (65 – 73,5)	0,21
<b>Indeks tjelesne mase [kg/m<sup>2</sup>]</b>	29,41 (24,9 - 36)	29,05 (26,7 – 33,4)	0,86
<b>Trajanje bolesti [godine]</b>	5 (0 - 14)	12 (5,5 – 15,8)	0,05
<b>Trajanje terapije metforminom [godine]</b>	2 (0 – 7)	10 (4,3 – 12,8)	0,008
<b>Dnevna doza metformina [mg]</b>	750 (0 – 1850)	2000 (1000 – 2000)	0,007
<b>Kumulativna doza metformina<sup>†</sup> [mg*godine*10<sup>3</sup>]</b>	1,5 (0 – 13,5)	13 (8,5 – 24)	0,005

\*Mann Whitney U test, <sup>†</sup>umnožak dnevne doze i trajanja terapije metforminom

U biokemijskim pokazateljima nema značajnih razlika s obzirom na nedostatak vitamina B12 (Tablica 11).

**Tablica 11. Biokemijski pokazatelji u odnosu na nedostatak vitamina B12**

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Nema nedostatak B12	Ima nedostatak B12	
<b>GUP<sup>†</sup> [mmol/l]</b>	10,5 ( 8,3 – 12)	11,1 (8,8 – 12,8)	0,34
<b>HbA1c<sup>‡</sup> [%]</b>	8,1 (7,3 – 9,8)	8,1 (7,3 – 9,2)	0,57
<b>TSH<sup>§</sup> [ml/UI]</b>	1,2 (0,8 – 2,1)	1,3 (0,6 - 1,7)	0,23
<b>Eritrociti [10<sup>12</sup>/l]</b>	4,76 (4,4 - 5,2)	4,95 (4,1 - 5,4)	0,79
<b>Hemoglobin [g/l]</b>	141 (131 - 150)	141 (125,8 – 153,3)	0,85
<b>Hematokrit [l/l]</b>	0,41 (0,38 - 0,44)	0,42 (0,36 - 0,45)	0,78
<b>MCV<sup>¶</sup> [fl]</b>	85,5 (81,5 - 89)	84,9 (81,6 - 87,5)	0,38
<b>MCH<sup>  </sup> [pg]</b>	29,4 (27,9 - 30,7)	29 (27,7 – 30,8)	0,54
<b>MCHC<sup>**</sup> [g/l]</b>	341 (327 - 354)	343 (332 - 356)	0,47

\*Mann Whitney U test, <sup>†</sup>glukoza u plazmi, <sup>‡</sup>glikirani hemoglobin, <sup>§</sup>tireostimulirajući hormon, <sup>¶</sup>prosječni volumen eritrocita (od engl. *mean corpuscular volume*), <sup>||</sup>prosječni hemoglobin u eritrocitu (od engl. *mean corpuscular hemoglobin*), <sup>\*\*</sup>prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (od engl. *mean corpuscular hemoglobin concentration*)

S obzirom na komplikacije, cerebrovaskularna bolest je značajnije češće zastupljena kod ispitanika koji imaju nedostatak vitamina B12 (Fisherov egzaktni test, *P* = 0,001) nego kod onih koji nemaju nedostatak, dok u drugim komplikacijama nema značajnih razlika (Tablica 12).

**Tablica 12. Raspodjela ispitanika prema mikrovaskularnim i makrovaskularnim komplikacijama u odnosu na nedostatak vitamina B12**

	Broj (%) ispitanika prema skupinama			<i>P</i> *
	Nema nedostatak B12	Ima nedostatak B12	Ukupno	
<b>Polineuropatija</b>	18 (37)	5 (25)	23 (33)	0,41
<b>Retinopatija</b>	7 (14)	3 (15)	10 (14)	> 0,99
<b>Nefropatija</b>	5 (10)	3 (15)	8 (12)	0,68
<b>Koronarna bolest</b>	8 (16)	5 (25)	13 (19)	0,5
<b>Cerebrovaskularna bolest</b>	13 (27)	14 (70)	27 (39)	0,001
<b>Periferna arterijska bolest</b>	5 (10)	2 (10)	7 (14)	> 0,99

\*Fisherov egzaktni test



## 5. RASPRAVA

Zbog pandemije COVID-19 broj bolesnika koji su uključeni u istraživanje ipak je bio manji pa skupinu koja u terapiji ima metformin čini 41 (59 %) ispitanik, a kontrolnu skupinu 28 (41 %) ispitanika. Osnovna obilježja između skupina značajno se ne razlikuju, izuzev dobi u vrijeme dijagnoze šećerne bolesti tipa 2 i trajanja bolesti. U vrijeme dijagnoze šećerne bolesti tipa 2 značajno su stariji bili ispitanici u kontrolnoj skupini, medijana 64 godine. Ta razlika nije bila očekivana, ali ne utječe na kompromitiranje rezultata. Trajanje bolesti je značajno duže u skupini na terapiji metforminom, što se moglo i očekivati. Budući da je metformin prvi lijek izbora za liječenje šećerne bolesti tipa 2 i ne primaju ga samo oni bolesnici kod kojih je kontraindiciran ili ga ne podnose, većina liječenih bolesnika u sklopu terapije ima i metformin. Stoga većina bolesnika u kontrolnoj skupini ima novootkrivenu bolest, odnosno medikamentozno liječenje nije započeto. Istu razliku među ispitivanim skupinama imalo je istraživanje provedeno na Tajlandu, dok je u drugim istraživanjima kontrolna skupina bila nešto starija, ali bez statističke značajnosti (81, 84, 85).

Popratnu terapiju šećerne bolesti imaju 44 (64 %) ispitanika i to značajnije više iz skupine koja je na terapiji metforminom zbog prethodno navedenih razloga. Ispitanici na terapiji metforminom značajnije više uzimaju nekoliko skupina oralnih antihiperглиkemika (preparate sulfonil uree, meglitinide, DPP-4 inhibitore), GLP-1 analoge te inzulinske pripravke. U istraživanju iz 2019. godine nije postojala značajna razlika u korištenju ni jedne grupe oralnih antihiperглиkemika i inzulina između kontrolne skupine i skupine na terapiji metforminom (86). Razlog zašto se naš rezultat razlikuje su oni ispitanici u kontrolnoj skupini koji imaju novootkrivenu šećernu bolest tipa 2 te dosad nisu liječeni ili su liječeni nefarmakološkim mjerama.

Unatoč tome što je trajanje šećerne bolesti tipa 2 kraće u ispitanika iz kontrolne skupine, prisutnost komorbiditeta te mikrovaskularnih i makrovaskularnih komplikacija nije se značajno razlikovala od ispitanika na terapiji metforminom. To govori u prilog velikom broju nedijagnosticiranih slučajeva šećerne bolesti tipa 2, rastućem problemu na koji Međunarodna dijabetička federacija upozorava već godinama (3). Najčešća mikrovaskularna komplikacija je polineuropatija, a prisutna je u 23 (33 %) ispitanika što je slična prevalencija kao i u drugim istraživanjima (82, 87). Ispitanici na terapiji metforminom značajno su više koristili statine i acetilsalicilnu kiselinu, a više su koristili i ACE inhibitore i ARB-ove, iako bez značajne razlike.

Bolesti kardiovaskularnog sustava i dislipidemija čimbenici su rizika za razvoj šećerne bolesti tipa 2 i povećavaju rizik od pojave komplikacija (20). U kontrolnoj skupini ti čimbenici rizika nisu adekvatno liječeni što je doprinijelo ranijem razvoju komplikacija. Naši rezultati su u skladu s najnovijim publikacijama koje navode kako su kod sve većeg broja oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 komplikacije prisutne već u trenutku dijagnoze te naglašavaju važnost rane dijagnoze bolesti i pravovremenog uvođenja terapije (3, 20).

Medijan koncentracije HbA1c-a u skupini na terapiji metforminom iznosio je 8,2 %, dok je u kontrolnoj skupini medijan iznosio 8,1 %, bez značajne razlike prema skupinama. Značajan broj bolesnika uključenih u istraživanje hospitaliziran je zbog loše regulacije glikemije i korekcije terapije što se odražava u visokim vrijednostima HbA1c-a. U drugim istraživanjima vrijednosti HbA1c-a su također bile bez značajne razlike među skupinama, a iznose od 7,0 % do 8,6 % (81, 86-88). U taj se raspon uklapa i naš rezultat.

Zadovoljavajući unos vitamina B12 hranom imao je 31 (45 %) ispitanik, njih 14 (50 %) u kontrolnoj skupini i 17 (41 %) u skupini liječenih metforminom. Unos vitamina B12 hranom nije se razlikovao među skupinama, stoga nije utjecao na razlike u serumskoj koncentraciji i udjelu bolesnika s nedostatkom vitamina B12. Nije uočena značajna razlika u serumskoj koncentraciji vitamina B12 ( $P = 0,08$ ), kao ni u serumskoj koncentracije homocisteina ( $P = 0,67$ ) između kontrolne skupine i skupine na terapiji metforminom. Dosad su provedena brojna istraživanja o utjecaju terapije metforminom na serumsku koncentraciju vitamina B12, a opažanja su različita. Veći broj istraživanja ukazuje na značajnu razliku u serumskoj koncentraciji vitamina B12 između bolesnika liječenih metforminom, bilo da se lijek koristi kao monoterapija ili u kombinaciji s drugim oralnim antihiperглиkemicima, i onih koji u terapiji nemaju metformin (81, 87, 89, 90). U našem istraživanju vrijednost medijana serumske koncentracije vitamina B12 u skupini na terapiji metforminom iznosila je 252 pmol/l, a slične vrijednosti dobila su i druga istraživanja. Međutim, medijan koncentracije vitamina B12 u kontrolnoj skupini iznosio je 286 pmol/l, što je niža vrijednost u odnosu na ostala istraživanja u kojima su prosječne vrijednosti bile iznad 370 pmol/l (86, 89, 90). Rezultati dva nedavno provedena istraživanja u Japanu i Meksiku podudaraju se s našima; nije bilo značajne razlike u koncentraciji vitamina B12 i homocisteina među skupinama (86, 91).

Glavni je rezultat ovog istraživanja utvrđivanje nedostataka vitamina B12, definiran kao serumska koncentracija niža od 220 pmol/l, koji je imalo 16 (39 %) ispitanika u skupini na terapiji metforminom i 4 (14 %) ispitanika koji u terapiji nemaju metformin, te je dobivena

statistički značajna razlika ( $P = 0,03$ ) među skupinama. Studija o ishodima programa prevencije dijabetesa zaključila je da je terapija metforminom povezana s nedostatkom vitamina B12 te je preporučeno periodično testiranje serumske koncentracije vitamina B12 (80).

Apsolutni nedostatak vitamina B12, definiran kao serumska koncentracija niža od 135 pmol/l, imalo je 6 (9 %) ispitanika i svi su bili na terapiji metforminom. Granični nedostatak, definiran kao serumska koncentracija niža od 220 pmol/l, imala su 4 (14 %) ispitanika u kontrolnoj skupini i njih 10 (24 %) na terapiji metforminom, a ostali ispitanici imali su normalne serumske koncentracije vitamina B12. Istraživanje iz 2012. godine provedeno na 109 ispitanika dobilo je sličan rezultat: apsolutni nedostatak vitamina B12 imalo je 7 (8,6 %) ispitanika na terapiji metforminom i ni jedan ispitanik koji u terapiji nije imao metformin (89).

Analizom dnevnog unosa vitamina B12 hranom nisu pronađene razlike u skupini koja ima nedostatak vitamina B12 i skupini koja nema nedostatak ( $P = 0,3$ ). Pretraživanjem baze PubMed pronađena je samo jedna novija studija koja je istraživala unos vitamina B12 hranom u osoba sa šećernom bolesti tipa 2 na terapiji metforminom. U toj su studiji ispitanici s nedostatkom vitamina B12 imali niži tjedni unos vitamina B12 hranom te je utvrđena pozitivna korelacija između tjednog unosa vitamina B12 hranom i serumske koncentracije vitamina B12. Međutim, povećani unos vitamina B12 hranom nije zaštitio ispitanike na terapiji metforminom od nedostatka vitamina B12 (92).

Ukupno je 15 (22 %) ispitanika u terapiji imalo acetilsalicilnu kiselinu. U drugim istraživanjima udio ispitanika na terapiji acetilsalicilnom kiselinom bio je veći (70). Ispitanici s nedostatkom vitamina B12 češće su u terapiji imali acetilsalicilnu kiselinu nego ispitanici s normalnom koncentracijom vitamina B12. Razlog tome može biti primjena acetilsalicilne kiseline za sekundarnu prevenciju cerebrovaskularnog infarkta, komplikacije šećerne bolesti koja je bila značajno češća u ispitanika s nedostatkom vitamina B12. Konzumacija alkohola nije se razlikovala u skupini s nedostatkom vitamina B12 i skupini bez nedostatka, a konzumiralo ga je ukupno 19 (28 %) ispitanika. U usporedbi s ostalim istraživanjima koja su prikupila podatke o konzumaciji alkohola, naš je rezultat bliže gornjoj granici raspona (70-72).

Osobe s nedostatkom vitamina B12 značajno su duže bile na terapiji metforminom nego osobe bez nedostatka ( $P = 0,008$ ). Naš je rezultat u skladu s rezultatima nedavno provedenih istraživanja (70, 92). Međutim, dva su istraživanja iz 2019. godine dobila drugačije rezultate (71, 86). Podaci o povezanosti dnevne doze metformina i nedostatka vitamina B12 puno su usklađeniji. Gotova sva istraživanja naglašavaju povezanost veće dnevne doze metformina s

nižim koncentracijama vitamina B12 (71, 72, 86, 92). U ovom istraživanju ispitanici s nedostatkom vitamina B12 u terapiji imaju značajno veće dnevne doze metformina ( $P = 0,007$ ). Vrijednost kumulativne doze metformine bila je također značajno veća u ispitanika s nedostatkom vitamina B12 ( $P = 0,005$ ).

Iako se nedostatak vitamina B12 može očitovati pojavom periferne neuropatije, velik broj istraživanja unatrag nekoliko godina nije utvrdio statistički značajnu razliku u prisutnosti neuropatije između oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 s normalnom i sniženom razinom vitamina B12 (70, 93, 94). U našoj studiji također nije uočena veća pojavnost polineuropatije u osoba s nedostatkom vitamina B12, čak obrnuto. Veći je broj ispitanika s normalnom koncentracijom vitamina B12 imao polineuropatiju, njih 18 (37 %), dok je u skupini s nedostatkom vitamina B12 polineuropatiju imalo 5 (25 %) ispitanika. Možemo pretpostaviti kako je u podlozi polineuropatije u naših ispitanika vjerojatno šećerna bolest tipa 2. U presječnoj studiji de Groot-Kamphuisa i suradnika dobiveni su slični rezultati (95).

Ova presječna studija daje uvid u prevalenciju nedostatka vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 na terapiji metforminom, a trenutno u Hrvatskoj, kao ni u susjednim zemljama, nije provedeno slično istraživanje koje bi ukazalo na potrebu za rutinskom provjerom vitaminskog statusa B12 tijekom terapije metforminom. Prednosti ovoga istraživanja su to što su isključeni svi ispitanici koji su uzimali pripravke za nadoknadu vitamina B12 ili su imali komorbiditet koji može utjecati na serumsku koncentraciju vitamina B12 te je uz serumsku koncentraciju vitamina B12 mjerena i koncentracija homocisteina kao dodatnog biljega za otkrivanje nedostatka vitamina B12. Ograničenje studije je mali broj ispitanika u obje skupine i odsutnost podatka o poštivanju liječenja metforminom. U budućnosti bi trebalo u sličnu studiju uključiti veći broj ispitanika, što bi omogućilo daljnju podjelu ispitanika ovisno o trajanju terapije i dozi metformina, te detaljnije ispitivanje čimbenika rizika za razvoj nedostatka vitamina B12. Američko dijabetološko društvo u najnovijim smjernicama iz 2020. godine i dalje navodi metformin kao lijek prvog izbora za liječenje šećerne bolesti tipa 2, ali preporuča i periodične provjere serumske koncentracije vitamina B12 (96). U hrvatskim smjernicama za liječenje šećerne bolesti tipa 2 nema preporuke za provjeru serumske koncentracije vitamina B12 u osoba liječenih metforminom, a rezultati ovog istraživanja ukazuju na to da bi trebalo razmotriti mijenjanje preporuka.

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Nije uočena razlika u serumskoj koncentraciji vitamina B12 između osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 na terapiji metforminom i osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 koje u terapiji nemaju metformin.
- Nije uočena razlika u serumskoj koncentraciji homocisteina između osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 na terapiji metforminom i osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 koje u terapiji nemaju metformin.
- Nedostatak vitamina B12 značajno češće imale su osobe na terapiji metforminom.
- Apsolutni nedostatak vitamina B12 imalo je 6 (9 %) ispitanika i svi su bili na terapiji metforminom.
- Nema povezanosti unosa vitamina B12 hranom u odnosu na to imaju li ispitanici nedostatak vitamina B12.
- Nije uočena povezanost popratne terapije, konzumacije alkohola, dobi ispitanika, ITM-a i trajanja šećerne bolesti i nedostatka vitamina B12.
- Duže trajanje terapije metforminom, veća dnevna doza i veća kumulativna doza metformina povezani su s nedostatkom vitamina B12.
- Vrijednosti GUP-a, HbA1c-a, TSH i CKS-a ne razlikuju se u skupini s normalnom koncentracijom vitamina B12 i u skupini s nedostatkom vitamina B12.
- Cerebrovaskularna bolest značajno je češća u ispitanika s nedostatkom vitamina B12, dok su ostale komplikacije šećerne bolesti približno podjednako zastupljene neovisno vitaminskom statusu.

## 7. SAŽETAK

**Cilj:** Ispitati postoji li povezanost terapije metforminom i nedostatka vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 te otkriti moguće faktore rizika.

**Nacrt studije:** Presječno istraživanje.

**Ispitanici i metode:** Uključeno je 69 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2, njih 28 (41 %) koji u terapiji nemaju metformin (kontrolna skupina) i 41 (59 %) na terapiji metforminom. Ispitanici su ispunili dva anketna upitnika: jedan za procjenu osnovnih kliničkih karakteristika, a drugi za procjenu dnevnog unosa vitamina B12 hranom, te im je određena serumska koncentracija vitamina B12 i homocisteina.

**Rezultati:** Medijan serumske koncentracija vitamina B12 u kontrolnoj skupini iznosio je 286 pmol/l (interkvartilnog raspona od 239,5 do 369,3), a u skupini na terapiji metforminom 252 pmol/l (interkvartilnog raspona od 187,5 do 341), bez značajne razlike među skupinama ( $P = 0,08$ ). Serumska se koncentracija homocisteina također nije značajno razlikovala među skupinama ( $P = 0,67$ ). Nedostatak vitamina B12 ukupno je imalo 20 (29 %) ispitanika, značajno više na terapiji metforminom (14 % naspram 39 %,  $P = 0,03$ ). Zadovoljavajući unos vitamina B12 hranom imalo je 20 (41 %) ispitanika s normalnom serumskom koncentracijom vitamina B12 i 11 (55 %) ispitanika s nedostatkom vitamina B12. Rizični čimbenici za nedostatak vitamina B12 bili su duže trajanje terapije metforminom te veća dnevna i kumulativna doza metformina.

**Zaključak:** Dugotrajna terapija metforminom povezana je s nedostatkom vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2. Osobama na terapiji metforminom preporuča se odrediti serumsku koncentraciju vitamina B12 kako bi se u slučaju nedostatka pravovremeno započelo s nadoknadom.

**Ključne riječi:** metformin; vitamin B12; šećerna bolest tipa 2

## 8. SUMMARY

### Vitamin B12 deficiency in metformin treated type 2 diabetic patients

**Aim:** To investigate whether there is an interconnection between metformin therapy and vitamin B12 deficiency in people with type 2 diabetes and to identify possible risk factors.

**Study draft:** Cross-sectional study.

**Subjects and methods:** 69 patients with type 2 diabetes were included, 28 of them (41 %) who do not have metformin in their therapy (control group) and 41 (59 %) on metformin therapy. Subjects completed two questionnaires, one to assess basic clinical characteristics and the other to assess daily dietary intake of vitamin B12. Also, their serum concentrations of vitamin B12 and homocysteine were determined.

**Results:** The median of serum concentration of vitamin B12 in the control group was 286 pmol/l (interquartile range 239.5 to 369.3), and in the metformin group 252 pmol/l (interquartile range 187.5 to 341), without significant difference between the groups ( $P = 0.08$ ). In addition, serum concentrations of homocysteine did not differ significantly between the groups ( $P = 0.67$ ). A total of 20 (29 %) subjects had vitamin B12 deficiency, the percentage is significantly higher amongst patients on metformin therapy (14% vs. 39%,  $P = 0.03$ ). Sufficient dietary intake of vitamin B12 was present in 20 (41%) subjects with normal serum concentration of vitamin B12 and in 11 (55%) subjects with vitamin B12 deficiency. Risk factors for vitamin B12 deficiency were longer duration of metformin therapy and higher daily and cumulative doses of metformin.

**Conclusion:** Long-term metformin therapy has been associated with vitamin B12 deficiency in persons with type 2 diabetes. Persons on metformin therapy are advised to determine serum concentrations of vitamin B12 in order to begin prompt treatment in the event of a deficiency.

**Keywords:** metformin; vitamin B12; type 2 diabetes

## 9. LITERATURA

1. Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo, ur. Harrison's principles of internal medicine. 20. izd. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
2. Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M, ur. Patologija. 4. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2014.
3. International Diabetes Federation. IDF Diabetes atlas. 9. izd. Brussels; 2019. Dostupno na adresi:  
[https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133351\\_IDFATLAS9e-final-web.pdf](https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9e-final-web.pdf). Datum pristupa: 25. 4. 2020.
4. Hrvatski zavod za javno zdravstvo Nacionalni registar osoba sa šećernom bolešću - CroDiab. Izvješće za 2019. godinu. Zagreb; 2020.
5. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Šećerna bolest u Republici Hrvatskoj 2005.-2014. Zagreb; 2015. Dostupno na adresi: [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/DM-bilten-2005\\_2014.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/DM-bilten-2005_2014.pdf). Datum pristupa: 25. 04. 2020.
6. Gerich JE. Is insulin resistance the principal cause of type 2 diabetes? *Diabetes Obes Metab.* 1999;1(5):257-63.
7. Ivaničević Ž, Rumboldt Z, Bergovec M, Silobrčić V, Bruketa D, ur. Harrison: Principi interne medicine. 1. izd. Split: Placebo; 1997.
8. Jensen CC, Cnop M, Hull RL, Fujimoto WY, Kahn SE; American Diabetes Association GSG. Beta-cell function is a major contributor to oral glucose tolerance in high-risk relatives of four ethnic groups in the U.S. *Diabetes.* 2002;51(7):2170-8.
9. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003;52(1):102-10.
10. Jurgens CA, Toukatly MN, Fligner CL, Udayasankar J, Subramanian SL, Zraika S, i sur. beta-cell loss and beta-cell apoptosis in human type 2 diabetes are related to islet amyloid deposition. *Am J Pathol.* 2011;178(6):2632-40.
11. Brunton S. Pathophysiology of Type 2 Diabetes: The Evolution of Our Understanding. *J Fam Pract.* 2016;65(4 Suppl).
12. Kashyap S, Belfort R, Gastaldelli A, Pratipanawatr T, Berria R, Pratipanawatr W, i sur. A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic



- subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(10):2461-74.
13. Holst JJ, Vilsboll T, Deacon CF. The incretin system and its role in type 2 diabetes mellitus. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;297(1-2):127-36.
  14. Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab*. 2006;3(3):153-65.
  15. Rahelić D, Altabas V, Bakula M, Balić S, Balint I, Bergman Marković B, i sur. Hrvatske smjernice za farmakološko liječenje šećerne bolesti tipa 2. *Liječnički vjesnik*. 2016;138(1-2):1-21.
  16. Dunning BE, Gerich JE. The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2007;28(3):253-83.
  17. Hummel CS, Lu C, Loo DD, Hirayama BA, Voss AA, Wright EM. Glucose transport by human renal Na<sup>+</sup>/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;300(1):C14-21.
  18. Wilding JP. The role of the kidneys in glucose homeostasis in type 2 diabetes: clinical implications and therapeutic significance through sodium glucose co-transporter 2 inhibitors. *Metabolism*. 2014;63(10):1228-37.
  19. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev*. 2013;93(1):137-88.
  20. World Health Organisation. HEARTS D: diagnosis and management of type 2 diabetes. 2020.
  21. Congdon NG, Friedman DS, Lietman T. Important causes of visual impairment in the world today. *JAMA*. 2003;290(15):2057-60.
  22. Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, 3rd, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes care*. 2004;27(10):2540-53.
  23. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376(9735):124-36.
  24. Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2004;350(1):48-58.
  25. Tervaert TW, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, i sur. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(4):556-63.
  26. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD; The Collaborative Study Group. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med*. 1993;329(20):1456-62.

27. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, i sur. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med.* 2001;345(12):861-9.
28. Abbott CA, Malik RA, van Ross ER, Kulkarni J, Boulton AJ. Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the U.K. *Diabetes care.* 2011;34(10):2220-4.
29. Vinik AI, Nevoret ML, Casellini C, Parson H. Diabetic neuropathy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013;42(4):747-87.
30. Boulton AJ, Malik RA, Arezzo JC, Sosenko JM. Diabetic somatic neuropathies. *Diabetes care.* 2004;27(6):1458-86.
31. Hrvatsko društvo za liječenje boli Hrvatskog liječničkog zbora. Smjernice za farmakološko liječenje neuropatske boli. *Eur J Neurol.* 2006;13:1153-1169.
32. Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, Gobin R, Kaptoge S, i sur; Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet.* 2010;375(9733):2215-22.
33. Cederberg H, Saukkonen T, Laakso M, Jokelainen J, Harkonen P, Timonen M, i sur. Postchallenge glucose, A1C, and fasting glucose as predictors of type 2 diabetes and cardiovascular disease: a 10-year prospective cohort study. *Diabetes care.* 2010;33(9):2077-83.
34. Henning RJ. Type-2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Future Cardiol.* 2018;14(6):491-509.
35. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan D, Peterson CM, i sur. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes care.* 2004;27(7):1761-73.
36. International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes care.* 2009;32(7):1327-34.
37. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes care.* 2018;41(Suppl 1):S13-S27.
38. Kokić S. Dijagnostika i liječenje šećerne bolesti tipa 2. *Medix.* 2009;15(80/81):90-8.
39. Kokić S, Prašek M, Pavlić-Renar I, Rahelić D, Pavić E, Jandrić-Balen M, i sur. Hrvatske smjernice za liječenje šećerne bolesti tipa 2. *Medix.* 2011;17 Supll 2:8-34.
40. Anderson JW, Kendall CW, Jenkins DJ. Importance of weight management in type 2 diabetes: review with meta-analysis of clinical studies. *J Am Coll Nutr.* 2003;22(5):331-9.

41. Pastors JG, Warshaw H, Daly A, Franz M, Kulkarni K. The evidence for the effectiveness of medical nutrition therapy in diabetes management. *Diabetes care*. 2002;25(3):608-13.
42. Forouhi NG, Misra A, Mohan V, Taylor R, Yancy W. Dietary and nutritional approaches for prevention and management of type 2 diabetes. *BMJ*. 2018;361:k2234.
43. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, i sur. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes care*. 2016;39(11):2065-79.
44. Cahn A, Miccoli R, Dardano A, Del Prato S. New forms of insulin and insulin therapies for the treatment of type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(8):638-52.
45. Sheldon B, Russell-Jones D, Wright J. Insulin analogues: an example of applied medical science. *Diabetes Obes Metab*. 2009;11(1):5-19.
46. Mannucci E, Monami M, Marchionni N. Short-acting insulin analogues vs. regular human insulin in type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Obes Metab*. 2009;11(1):53-9.
47. Katzung BG, ur. *Basic & Clinical Pharmacology*. 14 izd. New York: McGraw-Hill Education; 2017.
48. Rodbard HW, Rodbard D. Biosynthetic Human Insulin and Insulin Analogs. *Am J Ther*. 2020;27(1):e42-e51.
49. Shank ML, Del Prato S, DeFronzo RA. Bedtime insulin/daytime glipizide. Effective therapy for sulfonylurea failures in NIDDM. *Diabetes*. 1995;44(2):165-72.
50. Aschner P. Insulin Therapy in Type 2 Diabetes. *Am J Ther*. 2020;27(1):e79-e90.
51. Rossetti P, Porcellati F, Fanelli CG, Perriello G, Torlone E, Bolli GB. Superiority of insulin analogues versus human insulin in the treatment of diabetes mellitus. *Arch Physiol Biochem*. 2008;114(1):3-10.
52. McAulay V, Frier BM. Insulin analogues and other developments in insulin therapy for diabetes. *Expert Opin Pharmacother*. 2003;4(7):1141-56.
53. Bailey CJ. Biguanides and NIDDM. *Diabetes care*. 1992;15(6):755-72.
54. Bailey CJ. Metformin--an update. *Gen Pharmacol*. 1993;24(6):1299-309.
55. Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, i sur. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2000;49(12):2063-9.
56. Giannarelli R, Aragona M, Coppelli A, Del Prato S. Reducing insulin resistance with metformin: the evidence today. *Diabetes Metab*. 2003;29(4 Pt 2):6S28-35.

57. Wiernsperger NF, Bailey CJ. The antihyperglycaemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs*. 1999;58 Suppl 1:31-9;75-82.
58. Riccio A, Del Prato S, Vigili de Kreutzenberg S, Tiengo A. Glucose and lipid metabolism in non-insulin-dependent diabetes. Effect of metformin. *Diabete Metab*. 1991;17(1 Pt 2):180-4.
59. Perriello G, Misericordia P, Volpi E, Santucci A, Santucci C, Ferrannini E, i sur. Acute antihyperglycemic mechanisms of metformin in NIDDM. Evidence for suppression of lipid oxidation and hepatic glucose production. *Diabetes*. 1994;43(7):920-8.
60. Zavaroni I, Dall'Aglio E, Bruschi F, Alpi O, Coscelli C, Butturini U. Inhibition of carbohydrate-induced hypertriglyceridemia by metformin. *Horm Metab Res*. 1984;16(2):85-7.
61. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, i sur. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centred approach. Update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia*. 2015;58(3):429-42.
62. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;359(15):1577-89.
63. DeFronzo RA, Stonehouse AH, Han J, Wintle ME. Relationship of baseline HbA1c and efficacy of current glucose-lowering therapies: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabet Med*. 2010;27(3):309-17.
64. Sanchez-Rangel E, Inzucchi SE. Metformin: clinical use in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2017;60(9):1586-93.
65. McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*. 2016;59(3):426-35.
66. DeFronzo R, Fleming GA, Chen K, Bicsak TA. Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk. *Metabolism*. 2016;65(2):20-9.
67. Vidović L, Katičić D, Šefer S. Metforminom uzrokovana laktacidoza: jesmo li dorasli izazovu rastućeg problema? *Acta Med Croatica*. 2017;71:293-302.
68. Connelly PJ, Lonergan M, Soto-Pedre E, Donnelly L, Zhou K, Pearson ER. Acute kidney injury, plasma lactate concentrations and lactic acidosis in metformin users: A GoDarts study. *Diabetes Obes Metab*. 2017;19(11):1579-86.
69. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes care*. 2000;23(9):1227-31.

70. Ahmed MA, Muntingh G, Rheeder P. Vitamin B12 deficiency in metformin-treated type-2 diabetes patients, prevalence and association with peripheral neuropathy. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2016;17(1):44.
71. Kim J, Ahn CW, Fang S, Lee HS, Park JS. Association between metformin dose and vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(46):e17918.
72. Beulens JW, Hart HE, Kuijs R, Kooijman-Buiting AM, Rutten GE. Influence of duration and dose of metformin on cobalamin deficiency in type 2 diabetes patients using metformin. *Acta diabetol.* 2015;52(1):47-53.
73. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. Vitamin B12: Fact Sheet for Health Professionals. Dostupno na adresi: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminB12-HealthProfessional/>. Datum pristupa: 25. 5. 2020.
74. Langan RC, Goodbred AJ. Vitamin B12 Deficiency: Recognition and Management. *Am Fam Physician.* 2017;96(6):384-9.
75. Gibney MJ, Lanham-New SA, Cassidy A, Vorster HH. *Introduction to Human Nutrition (The Nutrition Society Textbook)*. 2. izd. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009.
76. Combs GF, McClung JP. *The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. 5. izd. San Diego: Elsevier Academic Press, 2017.
77. Hunt A, Harrington D, Robinson S. Vitamin B12 deficiency. *BMJ.* 2014;349:g5226.
78. Marušić M. i sur. *Uvod u znanstveni rad u medicini*. 4. izd. Udžbenik. Zagreb: Medicinska naklada; 2008.
79. Chapman LE, Darling AL, Brown JE. Association between metformin and vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab.* 2016;42(5):316-27.
80. Aroda VR, Edelstein SL, Goldberg RB, Knowler WC, Marcovina SM, Orchard TJ, i sur. Long-term Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1754-61.
81. Shivaprasad C, Gautham K, Ramdas B, Gopaldatta KS, Nishchitha K. Metformin Usage Index and assessment of vitamin B12 deficiency among metformin and non-metformin users with type 2 diabetes mellitus. *Acta diabetol.* 2020.
82. Alvarez M, Sierra OR, Saavedra G, Moreno S. Vitamin B12 deficiency and diabetic neuropathy in patients taking metformin: a cross-sectional study. *Endocr Connect.* 2019;8(10):1324-9.

83. Ivanković D. i sur. Osnove statističke analize za medicinare. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1988.
84. Pongchaidecha M, Srikusalanukul V, Chattananon A, Tanjariyaporn S. Effect of metformin on plasma homocysteine, vitamin B12 and folic acid: a cross-sectional study in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai.* 2004;87(7):780-7.
85. Wile DJ, Toth C. Association of metformin, elevated homocysteine, and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes care.* 2010;33(1):156-61.
86. Sugawara K, Okada Y, Hirota Y, Sakaguchi K, Ogawa W. Relationship between metformin use and vitamin B12 status in patients with type 2 diabetes in Japan. *J Diabetes Investig.* 2019.
87. Roy RP, Ghosh K, Ghosh M, Acharyya A, Bhattacharya A, Pal M, i sur. Study of Vitamin B12 deficiency and peripheral neuropathy in metformin-treated early Type 2 diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab.* 2016;20(5):631-7.
88. de Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffele MG, van der Kolk J, Bets D, i sur. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ.* 2010;340:c2181.
89. Calvo Romero JM, Ramiro Lozano JM. Vitamin B(12) in type 2 diabetic patients treated with metformin. *Endocrinol Nutr.* 2012;59(8):487-90.
90. Hermann SL, Nilsson B, Wettre S. Vitamin B12 status of patients treated with metformin: a cross-sectional cohort study. *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2004; 4(6): 401–406.
91. Rodriguez-Gutierrez R, Montes-Villarreal J, Rodriguez-Velver KV, Gonzalez-Velazquez C, Salcido-Montenegro A, Elizondo-Plazas A, i sur. Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency: Untangling the Association. *American J Med Sci.* 2017;354(2):165-71.
92. Alharbi TJ, Tourkmani AM, Abdelhay O, Alkhashan HI, Al-Asmari AK, Bin Rsheed AM, i sur. The association of metformin use with vitamin B12 deficiency and peripheral neuropathy in Saudi individuals with type 2 diabetes mellitus. *PLoS one.* 2018;13(10):e0204420.
93. Russo GT, Giandalia A, Romeo EL, Scarcella C, Gambadoro N, Zingale R, i sur. Diabetic neuropathy is not associated with homocysteine, folate, vitamin B12 levels, and MTHFR C677T mutation in type 2 diabetic outpatients taking metformin. *J Endocrinol Invest.* 2016;39(3):305-14.

94. Biemans E, Hart HE, Rutten GE, Cuellar Renteria VG, Kooijman-Buiting AM, Beulens JW. Cobalamin status and its relation with depression, cognition and neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus using metformin. *Acta diabetol.* 2015;52(2):383-93.
95. de Groot-Kamphuis DM, van Dijk PR, Groenier KH, Houweling ST, Bilo HJ, Kleefstra N. Vitamin B12 deficiency and the lack of its consequences in type 2 diabetes patients using metformin. *Neth J Med.* 2013;71(7):386-90.
96. American Diabetes Association. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes care.* 2020;43(Suppl 1):S98-S110.

## 10. ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODACI:

Ime i prezime: Ema Schönberger

Datum rođenja: 7. srpnja 1995.

Adresa: Učka 8, 31000 Osijek, Hrvatska

Broj mobitela: 098853056

E-mail: ema.schonberger7@gmail.com

### OBRAZOVANJE:

2014. – : Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

2010. – 2014.: III. Gimnazija Osijek

2002. – 2010.: Osnovna škola Ivana Filipovića, Osijek

### IZVANNASTAVNE AKTIVNOSTI:

2015. – sudjelovanje na radionici kirurškog šivanja

2015. – 2017. – član Studentskog zbora i Fakultetskog vijeća

14. – 20. ožujka 2016. – 15. Tjedan mozga, sudjelovanje s radionicom *Naučimo učiti* i nagrada za najbolju radionicu

2015./2016., 2016./2017. – demonstrator na Katedri za anatomiju

2017./2018., 2018./2019., 2019./2020. – demonstrator na Katedri za farmakologiju

10. – 13. travnja 2018. – 14th Croatian Student Summit, CROSS14, poster prezentacija *Kidney failure in multiple myeloma patients*

26. – 29. travnja 2018. – 7th Croatian Congress of Obesity, oralna prezentacija *Prehrambene navike i tjelesna aktivnost kod studenata medicine (Food Habits and Physical Activity among Medical Students)*



2019. – 2020. – član Studentskog zbora

7. – 8. veljače 2019. – Internacionalni kongres translacijske medicine na Medicinskom fakultetu Osijek – OSCON, pasivni sudionik, član organizacijskog odbora

1. – 30. kolovoza 2019. – Međunarodna razmjena studenata CroMSIC – Lisabon, Portugal, Odjel za gastroenterologiju, Hospital de Santo António dos Capuchos

19. prosinca 2019. – Dekanova nagrada za izvannastavnu aktivnost (organizacija Kongresa studenata medicine u Osijeku – OSCON2019)

13. – 14. veljače 2020. – Internacionalni kongres translacijske medicine na Medicinskom fakultetu Osijek – OSCON, *Saglikler syndrome – case report*, aktivni sudionik, član organizacijskog obora

#### OBJAVLJENI RADOVI:

Smajić P, Schönberger E, Periša V, Sinčić Petričević J, Zibar L, Kralik K. Survival in Dialysis or Plasma Exchange Treated Patients for Multiple Myeloma – A Single Centre 25 Year Experience. *Southeastern European Medical Journal* [Internet]. 2020; 4(1):25-31. <https://doi.org/10.26332/seemedj.v4i1.126>

## **11. PRILOZI**

1. UPITNIK ZA PROCJENU OSNOVNIH KLINIČKIH KARAKTERISTIKA KOJE SE ODNOSU NA ŠEĆERNU BOLEST
2. UPITNIK ZA PROCJENU DNEVNOG UNOSA VITAMINA B12 HRANOM

# 1. UPITNIK ZA PROCJENU OSNOVNIH KLINIČKIH KARAKTERISTIKA KOJE SE ODNOSU NA ŠEĆERNU BOLEST

Poštovani,

Molim Vas da u svojstvu ispitanika sudjelujete u znanstvenom istraživanju Nedostatak vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 tijekom terapije metforminom. Istraživanje se provodi u svrhu izrade diplomskog rada Eme Schönberger, studentice šeste godine Medicinskog fakulteta u Osijeku. Ovo istraživanje provodi se kako bi se ustanovilo postoji li povezanost terapije metforminom i nedostatka vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 te otkrilo moguće faktore rizika.

Unaprijed Vam zahvaljujem na sudjelovanju!

1) Godina rođenja: \_\_\_\_\_

2) Spol:  Ž  M

3) Visina: \_\_\_\_\_

4) Težina: \_\_\_\_\_

5) Godina kada Vam je dijagnosticirana šećerna bolest tipa 2: \_\_\_\_\_

6) Imate li u terapiji metformin:  DA  NE

7) Ako ste na prethodno pitanje odgovorili s DA, koje godine ste započeli terapiju metforminom: \_\_\_\_\_

8) Koji preparat metformina uzimate, u kojoj dozi i koliko puta dnevno?

\_\_\_\_\_

9) Imate li uz metformin popratnu terapiju:  DA  NE

10) Ako ste na prethodno pitanje odgovorili s DA, koje lijekove uzimate, u kojoj dozi i unazad koliko godina?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

11) Uzimate li neke druge lijekove:  DA (koje?): \_\_\_\_\_  
 NE

12) Vrijednost HbA1c u posljednjem laboratorijskom nalazu krvi i datum nalaza:

\_\_\_\_\_

13) Vrijednost GUK-a u posljednjem laboratorijskom nalazu krvi i datum nalaza:

\_\_\_\_\_

14) Vrijednost TSH u posljednjem laboratorijskom nalazu krvi i datum nalaza:

---

15) Imate li razvijenu neku od kroničnih komplikacija šećerne bolesti (ako da, u kvadratić upišite znak X):

- nefropatija
- retinopatija
- neuropatija

16) Ako imate neku od kroničnih komplikacija, kada vam je postavljena dijagnoza: \_\_\_\_\_

17) Bolujete li ili ste preboljeli neku od navedenih bolesti (ako da, u kvadratić upišite znak X):

- kronična vaskularna bolest
- infarkt miokarda
- moždani udar
- periferna vaskularna bolest

18) Bolujete li od nekih drugih kroničnih bolesti ili ste bili na kirurškom zahvatu?

---

19) Koliko učestalo imate stolicu, kakve su karakteristike stolice (količina, oblik, boja) i ima li nekih primjesa (sluz, krv...):

---

20) Konzumirate li alkohol, i ako da koliko često:

- ne konzumiram alkohol
- 2 ili više puta dnevno
- jednom dnevno
- 3-4 puta tjedno
- 1-2 puta tjedno
- 1-2 puta mjesečno
- vrlo rijetko, samo u posebnim prigodama

21) Koje alkoholno piće obično konzumirate? \_\_\_\_\_

22) Pušite li:  DA  NE

23) Ako ste na prethodno pitanje odgovorili DA, koliko godina pušite i koliko cigareta dnevno?

---

24) Uzimate li dodatke prehrani:  DA (koji pripravak): \_\_\_\_\_  NE

## 2. UPITNIK ZA PROCJENU DNEVNOG UNOSA VITAMINA B12 HRANOM

Poštovani,

Molim Vas da u svojstvu ispitanika sudjelujete u znanstvenom istraživanju Nedostatak vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 tijekom terapije metforminom. Istraživanje se provodi u svrhu izrade diplomskog rada Eme Schönberger, studentice šeste godine Medicinskog fakulteta u Osijeku. Ovo istraživanje provodi se kako bi se ustanovilo postoji li povezanost terapije metforminom i nedostatka vitamina B12 u osoba oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 te otkrilo moguće faktore rizika.

Unaprijed Vam zahvaljujem na sudjelovanju!

Imate li određeni oblik prehrane (vegetarijanska, veganska, bezglutenska):  DA (koji): \_\_\_\_\_  
 NE

Križićem označite koliko često jedete navede proizvode:

	2 i više puta na dan	1x dan	do 5x tjedno	1-2x tjedno	rijetko/ nikada
Piletina					
Govedina					
Iznutrice (pileća i goveđa jetrica)					
Jaja					
Mlijeko					
Sirevi (svježi, posni, zrnati)					
Grčki jogurt					
Jogurt					
Školjke (kamenice, Jakobove kapice)					
Rakovi					
Kozice					
Srdela					
Pastrva					
Losos					
Tuna					
Bakalar					
Morska trava, alge					
Kvasac					
Tempeh					
Miso					
Tofu					
Žitarice obogaćene B12					