

Metformine : le point sur les mécanismes d'action

Metformin: new insights on the mechanisms of action

Benoit Viollet*, Marc Foretz*, Fabrizio Andreelli*#

*INSERM U1016, Institut Cochin, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris cité, Paris, France

#Département de Diabétologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France

Mots-clés : Metformine – Diabète de type 2 – AMPK – Métabolisme énergétique

Keywords : Metformin – Type 2 diabetes – AMPK – Energy metabolism

Points forts

- >> la metformine est un antidiabétique oral de référence dont le mode d'action est resté longtemps imprécis
- >> l'effet hypoglycémiant de la metformine résulte d'une réduction de la gluconéogenèse hépatique entraînant une baisse de la production hépatique de glucose, anormalement élevée au cours du diabète de type 2
- >> l'inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine est provoquée par l'inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale causant une réduction du statut énergétique cellulaire
- >> l'activation du senseur énergétique AMPK n'est pas nécessaire pour expliquer l'inhibition de la gluconéogenèse hépatique par la metformine

>> indépendamment de son action hypoglycémisante, la metformine retarde l'apparition de complications macrovasculaires en induisant une protection cardiovasculaire par activation de l'AMPK

Highlights

>> Metformin is currently the drug of first choice for the treatment of T2D but its exact mechanism of action has not been fully elucidated.

>> The hypoglycemic effect of metformin is exerted by a potent reduction of hepatic glucose production through inhibition of gluconeogenesis, which is upregulated in type 2 diabetes.

>> Inhibition of hepatic glucose production by metformin is mediated by inhibition of mitochondrial respiratory chain resulting in a decrease in cellular energy status.

>> Activation of the energy sensor AMPK is dispensable for the inhibitory effect of metformin on hepatic gluconeogenesis.

>> Beyond its hypoglycemic action, metformin was reported to lower macrovascular complications associated with type 2 diabetes by inducing cardioprotection through activation of AMPK.

Metformine – définition et historique

La metformine (1,1-diméthylbiguanide) est actuellement l'antidiabétique oral de première intention recommandé au niveau international lors de la prise en charge thérapeutique du diabète de type 2. La metformine est l'antidiabétique le plus prescrit dans le monde avec plus de 120 millions de patients traités. La metformine est une biguanide dérivée de la galégine (*figure 1*), une substance active extraite du lilas français (*Galega officinalis*), une plante utilisée au Moyen Age pour le traitement des symptômes attribués au diabète de type 2. Ce n'est qu'à la fin des années 1920 que les propriétés hypoglycémiantes des analogues des biguanides seront démontrées chez l'animal mais leur développement sera rapidement éclipsé par la découverte et l'utilisation de l'insuline. L'intérêt pour les biguanide sera ensuite ravivé à la fin des années 1950 par un médecin français, Jean Sterne, qui publia le premier essai clinique de la metformine dans le traitement du diabète. La metformine est ensuite introduite en France pour le traitement du diabète de type 2 puis la phenformine (phényléthyl biguanide) aux Etats-Unis et la buformine (monobutyl biguanide) en Allemagne quelques années plus tard. La buformine et la phenformine seront retirées du marché dans de nombreux pays vers la fin des années 1970 en raison d'une association avec plusieurs cas mortels d'acidose lactique. Néanmoins, après de nouvelles études multicentriques et une réévaluation du risque d'acidose lactique – qui se révélera moindre qu'avec la phenformine -, la Food and Drug Administration autorise en 1995 l'introduction de la metformine aux Etats-Unis pour le traitement du DT2 (1).

Prévention des diabètes

Le diabète de type 2 est une pathologie grave mais dont le développement est assez lent ce qui permet d'entrevoir des mesures thérapeutiques susceptibles de retarder l'évolution des sujets

prédisposés vers le diabète patent. L'étude DPP (Diabetes Prevention Program) est l'exemple de ce type de stratégie de prévention. Dans celle-ci, ont été comparés les effets de modifications du mode de vie, aux effets de la metformine sur l'homéostasie glucidique de 3234 patients intolérants au glucose (2). Dans cette étude, les modifications du mode de vie étaient la mesure la plus efficace pour réduire la progression des patients vers le diabète de type 2 durant la période d'observation de 3 ans. La metformine seule permettait également une prévention du développement du diabète de type 2 suggérant l'intérêt potentiel de son emploi avant le stade d'hyperglycémie.

Pharmacogénétique de la metformine

Comme toutes les thérapeutiques, la metformine n'échappe pas à la pharmacogénétique. Cette discipline étudie les gènes impliqués dans le métabolisme (au sens large) des composés pharmacologiques. En effet, de nombreux gènes codent pour des protéines impliquées dans l'absorption, la diffusion tissulaire, le métabolisme, l'élimination des traitements. Par ailleurs, des polymorphismes de certains gènes expliquent la variabilité d'action interindividuelle d'un composé. Ainsi, la metformine est un composé hydrophile qui, dans le sang, pour un Ph habituel de 7,4, existe sous forme d'un cation. Sa diffusion au sein des tissus est donc relativement faible sauf si ceux-ci présentent des transporteurs comme OCT1 et OCT2, facilitant le transport de composés cationiques (comme la metformine). OCT1 est essentiel pour le transport de la metformine dans le foie et OCT1 et OCT2 le sont pour le transport de ce composé dans le rein. A l'inverse, le transporteur MATE1 facilite l'excrétion de la metformine dans le rein et la bile. Récemment, il a été montré que des polymorphismes dans le gène codant OCT1 (SLC22A1) entraînaient une réduction de l'effet hypoglycémiant de la metformine (augmentation de l'aire sous la courbe du glucose pendant une hyperglycémie provoquée par voie orale) par rapport à des sujets non porteurs de ces variants (3). De même,

il a été montré que des variants des gènes codants pour OCT1 et OCT2 (SLC22A2) modifient la clairance rénale de la metformine (4). L'implication de ces variants dans la réponse métabolique lors de l'administration de la metformine chez des patients diabétiques de type 2 reste à être déterminée dans des études à large échelle. Récemment, Zhou K et collaborateurs ont pu associer l'efficacité hypoglycémiante de la metformine dans une population de patients diabétiques de type 2 à un locus contenant le gène ATM (ataxia telangiectasia mutated gene), impliqué dans le contrôle du cycle cellulaire et de la réparation de l'ADN, suggérant que le facteur ATM est nécessaire aux effets de la metformine (5).

Mécanismes d'action dans le foie

L'effet hypoglycémiant de la metformine est complexe mais son mode d'action quantitativement le plus important est hépatique. En effet, le contrôle de la production hépatique de glucose est essentiel pour favoriser un meilleur contrôle glycémique tout au long du nyctémère. La metformine réduit la production hépatique de glucose en réduisant la gluconéogenèse hépatique (6). Ceci s'effectue soit en réduisant l'activité des enzymes de cette voie soit en réduisant la disponibilité hépatique des substrats de cette voie. Ceci se traduit également par une augmentation de la sensibilité hépatique à l'insuline au cours du clamp euglycémique hyperinsulinémique. Après de nombreuses années d'incertitude sur son mode d'action, Zhou G et collaborateurs ont proposé que l'AMPK (AMP-activated protein kinase) hépatique était impliquée dans le mode d'action de la metformine (7). L'AMPK est une sérine/thréonine kinase ubiquitaire hautement conservée au cours de l'évolution et dont la première fonction décrite était de protéger les cellules en carence énergétique. En effet, l'AMPK est activée chaque fois que la disponibilité en AMP intracellulaire augmente par rapport à l'ATP, témoignant d'un déficit énergétique de la cellule. Comme les quantités d'AMP sont extrêmement faibles par rapport à celles d'ATP, de faibles variations d'AMP

sont suffisantes pour refléter une carence énergétique cellulaire débutante bien avant un stade avancé pouvant être nuisible pour la survie cellulaire. L'AMPK est une protéine hétérotrimérique comportant une sous-unité catalytique α et deux sous-unités régulatrices β et γ . C'est sur cette dernière que l'AMP est en compétition avec l'ATP. La liaison de l'AMP sur l'AMPK change la conformation spatiale de l'enzyme ce qui permet la phosphorylation de la sous-unité α sur un résidu thréonine en position 172 par d'autres kinases (comme STK11/LKB1 ou la CaMKK β). Cette phosphorylation est reconnue comme primordiale pour l'activation du complexe AMPK. Des études récentes suggèrent qu'en plus de l'AMP, l'ADP pourrait également être un activateur physiologique de l'AMPK.

Une fois activée, le rôle de l'AMPK est de restaurer un ratio AMP(ADP)/ATP physiologique en inhibant les voies métaboliques consommatrices d'ATP (comme la lipogenèse) et en activant les voies métaboliques générant de l'ATP (comme l'oxydation des lipides, la glycolyse ou le transport de glucose). Pour cela, l'AMPK phosphoryle non seulement un grand nombre d'enzymes (ce qui revient à activer certaines d'entre elles et à en inhiber d'autres) mais également un certain nombre de facteurs de transcription ce qui permet de moduler l'expression de certains gènes (8).

Ainsi, il est logique de penser que l'activation de l'AMPK par la metformine comme proposé par Zhou G et collaborateurs puisse expliquer une grande partie des effets métaboliques de la metformine. Néanmoins, les données les plus récentes montrent que la metformine n'active pas directement l'AMPK. Cette activation est en fait secondaire aux effets mitochondriaux de la metformine. En effet, la metformine inhibe (de manière modeste par rapport à d'autres composés) le complexe 1 de la chaîne respiratoire ce qui suffit à réduire la disponibilité de l'ATP intracellulaire (9). Or, comme nous l'avons vu, toute réduction de la disponibilité en ATP active l'AMPK. Ainsi, l'activation de l'AMPK induite par la metformine est plutôt un phénomène attendu au vu des effets mitochondriaux de la metformine. De nombreux faits

expérimentaux vont dans ce sens dont la constatation que la metformine n'active plus l'AMPK dans un système cellulaire exprimant une AMPK recombinante dotée de complexes γ insensibles à l'AMP (10). Ceci témoigne bien que l'activation de l'AMPK par la metformine nécessite une altération de la balance AMP/ATP intracellulaire. Ainsi, la metformine augmente l'activité de l'AMPK hépatique de manière indirecte suite à la déplétion énergétique cellulaire modérée induite par inhibition de la chaîne respiratoire. Peut-on alors résumer la réduction de la gluconéogenèse hépatique par la metformine par l'activation de l'AMPK hépatique ? Non, si l'on considère que récemment il a été mis en évidence que la metformine était capable de réduire la gluconéogenèse dans des hépatocytes dépourvus d'AMPK (11). Ce résultat important s'explique par le fait que la gluconéogenèse est fortement consommatrice d'énergie (6 ATP par molécule de glucose synthétisé). Ainsi, toute réduction de la disponibilité en ATP est suffisante par elle-même pour réduire fortement la gluconéogenèse. M Foretz et collaborateurs ont ainsi montré que la réduction de la disponibilité en ATP cellulaire suite à l'inhibition du complexe 1 de la chaîne respiratoire dans les hépatocytes suffisait totalement à réduire la production hépatique de glucose sans qu'il soit besoin d'activer l'AMPK (11) (figure 2). De plus, l'augmentation concomitante en AMP cellulaire suite à la réduction de la disponibilité en ATP cellulaire réalise un contrôle précis du flux gluconéogénique par la régulation allostérique des enzymes clés de cette voie métabolique. En effet, l'AMP est un inhibiteur puissant de la fructose-1,6-biphosphatase qui catalyse une étape importante dans la synthèse de glucose hépatique (figure 2). Par ailleurs, la même équipe a également montré que l'inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine était indépendante de la modulation de l'expression des gènes codants pour les enzymes clés de la gluconéogenèse, glucose-6-phosphatase (G6Pase) et phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK). En effet, les effets de la metformine sur la production hépatique de glucose étaient préservés dans des hépatocytes montrant une

puissante capacité gluconéogénique de type constitutive par surexpression du co-activateur PGC-1 α permettant d'augmenter significativement et durablement l'expression des gènes de la gluconéogenèse. Or, dans ce système, la metformine a réduit la production de glucose par le biais d'une réduction de la disponibilité en ATP cellulaire (11). En conclusion, de nombreux arguments expérimentaux suggèrent que la réduction de la production hépatique de glucose par la metformine est surtout dépendante de l'inhibition modérée de l'activité du complexe 1 de la chaîne respiratoire et des conséquences de cette inhibition sur la charge énergétique cellulaire (définie par le rapport AMP/ATP) (figure 2). En complément de cet effet principal, d'autres mécanismes ont été proposés pour expliquer la réduction de la production hépatique de glucose par la metformine. En effet, il a été montré que la metformine pouvait réduire la stéatose hépatique non alcoolique chez la souris obèse *Ob/Ob*, chez la souris soumise au régime gras et chez l'homme (12). Par rapport à la réduction de la gluconéogenèse par la metformine, cet effet sur la stéatose serait dépendant de l'activation de l'AMPK (secondaire à l'inhibition du complexe 1 de la chaîne respiratoire et à la carence énergétique engendrée). En effet, l'activation de l'AMPK hépatique réduit la lipogenèse (en inhibant l'activité de l'acétyl-CoA carboxylase) et active l'oxydation des acides gras (en réduisant la synthèse de malonyl-CoA, ce qui inhibe l'entrée des acides gras dans les mitochondries) (8). Comme la stéatose hépatique est une pathologie associée à l'insulinorésistance hépatique, la réduction de la stéatose par la metformine améliore la sensibilité hépatique à l'insuline et permet ainsi de rétablir le contrôle de la gluconéogenèse par l'insuline (figure 2).

Metformine et métabolisme cardiaque

La population diabétique de type 2 a un risque accru de survenue d'un évènement cardiovasculaire et de mort subite. Dans l'étude UKPDS, il a été constaté dans le bras traité

par metformine, une réduction significative de la mortalité toutes causes confondues et de la mortalité liée au diabète (13). Cet effet assez inattendu de la metformine (et encore mal expliqué) a été observé dans d'autres études et pose la question des effets cardiovasculaires potentiels « hors glycémie » de ce composé. Ainsi, il a été montré chez le rat Sprague-Dawley préalablement traité par metformine, que celle-ci réduisait la taille du myocarde nécrosé lors de l'induction d'un infarctus du myocarde (14). La réduction de la taille de myocarde lésé améliorait la fonction ventriculaire gauche résiduelle et limitait la survenue d'une insuffisance cardiaque (14). Pour expliquer ce phénomène, il a été postulé que la metformine provoquerait l'apparition d'un phénomène de pré-conditionnement myocardique. Ce dernier est basé sur le fait qu'une ischémie myocardique minime et réversible permet de réduire la perte de viabilité du myocarde lors d'une ischémie plus prononcée survenant dans les heures ou les jours suivants la première stimulation (15). Les bases moléculaires du pré-conditionnement sont encore mal connues mais on voit bien l'intérêt important d'obtenir un tel phénomène par voie pharmacologique afin de réduire les séquelles fonctionnelles lors d'un infarctus du myocarde (dont le développement d'une insuffisance cardiaque). La metformine pourrait être un composé qui provoquerait un état plus ou moins permanent de pré-conditionnement myocardique. La metformine est également capable de réduire la synthèse de facteurs pro-apoptotiques des cardiomyocytes augmentant ainsi leur survie lors des situations d'hypoxie (16). Un autre effet fondamental de la metformine serait que ce composé permettrait l'adaptation métabolique du myocarde lors des situations énergétiques critiques comme l'ischémie. En effet, le myocarde est un important consommateur d'ATP. On considère qu'un myocarde utilise chaque jour autant d'ATP que le poids corporel. Or l'énergie du myocarde sain provient en majorité de l'oxydation des acides gras. Comme l'utilisation des acides gras consomme plus d'oxygène que celle du glucose, une utilisation progressivement croissante du glucose à la place des acides gras serait bénéfique en cas d'insuffisance cardiaque. Ce

changement dans le type de substrat utilisé traduit une capacité d'adaptation métabolique du myocarde (dénommé également « shift » métabolique). Ceci permet au myocarde altéré (et dont la consommation en oxygène décline) d'assurer ses besoins énergétiques. Dans un modèle de développement d'une insuffisance cardiaque chez le rongeur, la metformine favorise l'adaptation métabolique du myocarde altéré et modifie le ratio glucides/lipides. Une partie de cet effet de la metformine est dépendant de l'activation de l'AMPK myocardique qui participerait au maintien d'une balance AMP/ATP myocardique favorable (17). Ces éléments suggèrent fortement que la contre-indication de l'emploi de la metformine en cas d'insuffisance cardiaque pourrait être réévaluée et ce d'autant que le registre REACH (Reduction of Atherothrombosis for Continued Health) a montré que la metformine seule ou en association réduisait la mortalité de patients diabétiques de type 2 insuffisants cardiaques (18). Des études complémentaires sont néanmoins nécessaires pour en évaluer les applications cliniques.

Metformine et traitement du cancer

Plusieurs études épidémiologiques récentes ont rapporté que les patients diabétiques sous metformine présentent un risque moins élevé de cancer et de mortalité liée au cancer (19). Ces résultats renforcent l'idée d'interfaces communes dans le traitement du diabète et du cancer. Les 2 principaux modes d'action proposés impliquent une réduction de l'insulinorésistance et, indirectement, des taux circulants d'insuline et un effet direct contre la prolifération tumorale par l'inhibition pléiotropique de nombreuses voies de signalisation impliquées dans la survie cellulaire (19). De plus, la metformine contribue à la prévention du développement tumoral par le contrôle de l'ontogenèse des cellules souches cancéreuses en ciblant la transition épithélio-mésenchymateuse et la différenciation de ces cellules (20).

Conclusion

La metformine est actuellement l'antidiabétique le plus couramment utilisé dans le traitement du diabète de type 2. Il est généralement admis que sa cible principale reste le foie où elle diminue la production hépatique de glucose par une inhibition modérée du complexe 1 de la chaîne respiratoire. Ceci provoque une diminution de la charge énergétique du foie, ce qui a pour conséquence une réduction de la production hépatique de glucose. Dans ces conditions de stress énergétique, l'activation du senseur énergétique AMPK ne semble pas être nécessaire pour expliquer l'inhibition de la gluconéogenèse par la metformine. Néanmoins, des modifications du métabolisme lipidique hépatique par activation de l'AMPK pourrait jouer un rôle dans l'amélioration de la stéatose hépatique et de la sensibilité à l'insuline hépatique. Outre son action hypoglycémiante, la metformine est efficace pour retarder l'apparition des complications du diabète en induisant un préconditionnement myocardique, mécanisme connu pour induire une protection cardiovasculaire, et l'adaptation métabolique du myocarde au cours de l'ischémie. De plus, la metformine a montré un avantage significatif dans la diminution du risque de développement tumoral chez les patients diabétiques par un contrôle de la différenciation et la prolifération cellulaires. Ces nouvelles indications cliniques pour la metformine donnent une nouvelle jeunesse à cette molécule utilisée depuis plus de 50 ans dans le traitement du diabète de type 2 et dont les mécanismes d'action commencent seulement à être élucidés.

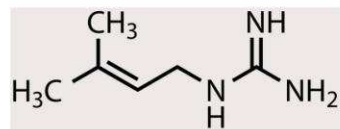
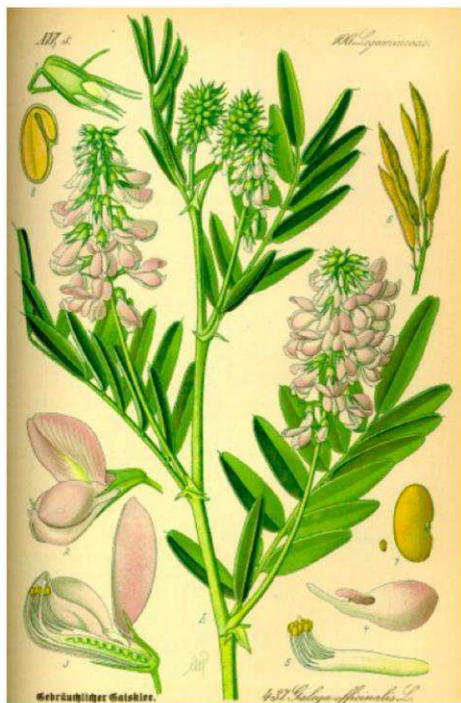
Références

1. DeFronzo, RA, and Goodman, AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl J Med* 1995;333: 541-549

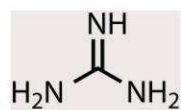
2. Knowler, WC, Barrett-Connor, E, Fowler, SE et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002;346: 393-403
3. Shu, Y, Sheardown, SA, Brown, C et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J Clin Invest* 2007;117: 1422-1431
4. Wang, ZJ, Yin, OQ, Tomlinson, B, and Chow, MS. OCT2 polymorphisms and in-vivo renal functional consequence: studies with metformin and cimetidine. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18: 637-645
5. Zhou, K, Bellenguez, C, Spencer, CC et al. Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. *Nat Genet* 2011;43: 117-120
6. Natali, A, and Ferrannini, E. Effects of metformin and thiazolidinediones on suppression of hepatic glucose production and stimulation of glucose uptake in type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetologia* 2006;49: 434-441
7. Zhou, G, Myers, R, Li, Y et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001;108: 1167-1174
8. Foretz, M, and Viollet, B. Regulation of hepatic metabolism by AMPK. *J Hepatol* 2011;54: 827-829
9. Stephenne, X, Foretz, M, Taleux, N et al. Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status. *Diabetologia* 2011;54: 3101-3110
10. Hawley, SA, Ross, FA, Chevtzoff, C et al. Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation. *Cell Metab* 2010;11: 554-565
11. Foretz, M, Hebrard, S, Leclerc, J et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest* 2010;120: 2355-2369
12. Viollet, B, Guigas, B, Sanz Garcia, N et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)* 2012;122: 253-270
13. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet* 1998;352: 854-865
14. Yin, M, van der Horst, IC, van Melle, JP et al. Metformin improves cardiac function in a non-diabetic rat model of post-MI heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011:
15. Kravchuk, E, Grineva, E, Bairamov, A, Galagudza, M, and Vlasov, T. The Effect of Metformin on the Myocardial Tolerance to Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat Model of Diabetes Mellitus Type II. *Exp Diabetes Res* 2011;2011: 907496
16. Yeh, CH, Chen, TP, Wang, YC, Lin, YM, and Fang, SW. AMP-activated protein kinase activation during cardioplegia-induced hypoxia/reoxygenation injury attenuates cardiomyocytic apoptosis via reduction of endoplasmic reticulum stress. *Mediators Inflamm* 2010;2010: 130636
17. Gundewar, S, Calvert, JW, Jha, S et al. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin improves left ventricular function and survival in heart failure. *Circ Res* 2009;104: 403-411
18. Roussel, R, Travert, F, Pasquet, B et al. Metformin use and mortality among patients with diabetes and atherothrombosis. *Arch Intern Med* 2010;170: 1892-1899
19. Viollet, B, and Foretz, M. Metformine et cancer. Du diabète au cancer : de nouvelles perspectives thérapeutiques pour la metformine. *Médecine des maladies Métaboliques* 2011;5: 29-37

20. Barco, SD, Vazquez-Martin, A, Cufi, S et al. Metformin: Multi-faceted protection against cancer. *Oncotarget* 2011;2: 896-917

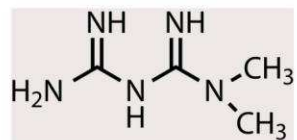
Figure 1 : Origine et structure de la metformine. La metformine est une biguanide dérivée de la galéguine, extraite du lilas français (*Galega officinalis*).



Galéguine



Guanidine



Metformine
(1,1-diméthylbiguanide)

Figure 2 : Inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine. La metformine est un inhibiteur modéré du complexe 1 de la chaîne respiratoire qui altère la balance énergétique cellulaire. La réduction de la disponibilité en ATP et l'élévation de l'AMP cellulaire induisent une inhibition de la production de glucose par carence énergétique et inhibition allostérique de la fructose-1,6-biphosphatase. L'activation de l'AMPK par l'augmentation du rapport AMP/ATP conduit à une réduction de la lipotoxicité et à une amélioration de la sensibilité à l'insuline (via la diminution de la lipogenèse et l'activation de la β -oxydation) permettant ainsi de rétablir le contrôle de la gluconéogenèse par l'insuline.

AMPK : AMP-activated protein kinase ; Glut2 : Glucose transporter 2.; LKB1 : Liver kinase B1 ; OCT1 : organic cation transporter 1 .

