

RESEARCH ARTICLE

## La carenza di vitamina B12 e la terapia con metformina a lungo termine. Studio osservazionale cross-sectional in soggetti con diabete tipo 2 o alterata regolazione glicemica

Long term treatment with metformin and risk of vitamin B12 deficiency. A cross-sectional study in outpatients with type 2 diabetes or impaired glycemic regulation

G.M. Pozzuoli<sup>1</sup>, M. Laudato<sup>1</sup>, M. Barone<sup>1</sup>, A. Del Buono<sup>2</sup>, B. Pozzuoli<sup>3</sup>, M.P. Laudato<sup>3</sup>, M. Del Buono<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ASL Caserta, Centro Diabetologico Distretto di Caserta e di Maddaloni, <sup>2</sup>ASL Caserta, Centro Diabetologico di Cellole (CE), <sup>3</sup>Collaborazioni esterne, Centro Diabetologico Distretto di Caserta e di Maddaloni

Corresponding author: [gpozzu@alice.it](mailto:gpozzu@alice.it)



OPEN  
ACCESS



PEER-  
REVIEWED

**Citation** G.M. Pozzuoli, M. Laudato, M. Barone, A. Del Buono, B. Pozzuoli, M.P. Laudato, M. Del Buono (2018) La carenza di vitamina B12 e la terapia con metformina a lungo termine. Studio osservazionale cross-sectional in soggetti con diabete tipo 2 o alterata regolazione glicemica. JAMD Vol. 21-4

**Editor** Luca Monge, Associazione Medici Diabetologi, Italy

**Received** November, 2018

**Accepted** December, 2018

**Published** February, 2019

**Copyright** © 2019 Pozzuoli et al. This is an open access article edited by [AMD](#), published by [Idelson Gnocchi](#), distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding** The Authors received no specific funding for this work.

**Competing interest** The Authors declare no competing interests.

### ABSTRACT

**Aims** To evaluate the plasma values of vitamin B12 in a population of patients with type 2 diabetes or impaired glycemic regulation, outpatients in a Diabetes Unit in Campania Region (Italy), in order to highlight any factors that could be correlated with vitamin deficiency, in particular metformin treatment.

**Methods** We divided our patients into two groups: those who were in long-term treatment with metformin and those who did not received such therapy, in each group we reported the plasma values of vitamin B12 along with other factors that are known as possible interferents with the vitamin, in particular the use of proton pump inhibitors or H<sub>2</sub>-antagonists, the age and the years of the diabetic disease, as well as creatininemia and glycated hemoglobin.

**Results** Patients chronically treated with metformin have significantly lower plasma values of vitamin B12 than patients who did not use these medications, and similarly have more often a true vitaminic deficiency (< = 200 pg/ml), further confirming these data, we found a negative, statistically significant correlation between B12 values and drug dosage and years of therapy. According to our data, age, years of diabetes and glycated hemoglobin were also statistically significant predictors of lower plasma values of vitamin, and the use of gastroprotectors is correlated with lower average values, albeit not statistically significant (P = 0.06).

**Conclusions** Chronic metformin therapy is the most important predictor of low plasma B12 values, in fact even at multivariate analysis, correcting the data for all the above mentioned variables, this relationship remained significant, while for the other factors taken into consider-

ation, statistical significance was lost. We conclude that vitamin B12 deficiency is very frequent in subjects with diabetes receiving metformin, especially if at higher dosages and for longer periods, in these patients the plasma dosage of the vitamin is strongly recommended. Among patients using metformin, the use of proton pump inhibitors and anti-H2, while reducing the average values of plasma B12 levels, does not seem to have a significant additive effect, whereas among who do not take metformin the effect of these drugs is more pronounced and significantly reduce the average level of vitamin when compared with patients who do not take gastroprotectors.

**Key words** metformin; vitamin B12 deficiency.

## RIASSUNTO

**Obiettivo** Valutare i valori plasmatici della vitamina B12 in una popolazione di soggetti affetti da diabete tipo 2 o da alterata regolazione glicemica, allo scopo di evidenziare eventuali fattori che possono essere correlati con deficit vitaminico, in particolare il trattamento con metformina.

**Metodi** Abbiamo diviso i pazienti in due gruppi: coloro che erano in trattamento cronico con metformina e quelli che non praticavano tale terapia, in ogni gruppo abbiamo riportato i valori plasmatici della vitamina B12 insieme ad altri fattori che in letteratura sono conosciuti come possibili interferenti con la vitamina stessa, in particolare l'utilizzo di farmaci inibitori di pompa protonica o antagonisti-H2, l'età e gli anni della malattia diabetica, nonché la creatinemia e l'emoglobina glicata.

**Risultati** I soggetti in terapia con metformina risultavano avere valori plasmatici della vitamina B12 significativamente più bassi degli altri e manifestavano più frequentemente un vero deficit vitaminico ( $<= 200$  pg/ml), inoltre, ad ulteriore conferma di questa relazione, abbiamo trovato una correlazione negativa, statisticamente significativa, fra i valori della vitamina B12 e il dosaggio del farmaco e gli anni di terapia. Secondo i nostri dati, anche l'età, gli anni di diabete e l'emoglobina glicata sono risultati essere dei predittori statisticamente significativi di valori plasmatici più bassi della vitamina, ugualmente l'utilizzo di gastroprotettori è correlato con dei valori mediamente più bassi, ma al limite della significatività ( $p=0,06$ ).

**Conclusioni** La terapia cronica con metformina risulta essere il predittore più importante di bassi valori plasmatici della vitamina B12, infatti anche all'analisi multivariata, correggendo i dati per tut-

te le altre variabili suddette, rimane questa relazione significativa, mentre per gli altri fattori presi in considerazione si perde la significatività statistica. Concludiamo che la carenza di vitamina B12 è piuttosto frequente nei soggetti diabetici in terapia con metformina, soprattutto se a dosaggi maggiori e da più tempo: in costoro è da consigliare sistematicamente il dosaggio plasmatico della vitamina. Nei soggetti in terapia con metformina, l'uso di farmaci inibitori di pompa protonica e di anti-H2, pur riducendo i valori medi della vitamina B12 plasmatica, non sembra avere un significativo effetto additivo, mentre in coloro che non assumono metformina l'effetto di questi farmaci sembra essere più marcato e riduce significativamente i valori plasmatici della vitamina, se confrontati con coloro che non assumono gastroprotettori.

**Parole chiave** metformina; carenza di vitamina B12.

## INTRODUZIONE

La metformina, da sola o in associazione, è il farmaco più usato nella terapia del diabete mellito tipo 2. Secondo il Rapporto ARNO 2017 la metformina, in Italia, è prescritta da sola nel 62,2% di tutti i soggetti diabetici trattati, e in poco meno del 20% in associazione con varie altre molecole<sup>(1)</sup>.

Le Linee Guida di tutte le società scientifiche consigliano di utilizzare la metformina come primo farmaco nella terapia del diabete mellito tipo 2 e di confermarlo anche in associazione con tutti gli antidiabetici orali e con l'insulina, a meno che non sia tollerato dal paziente o che ci siano controindicazioni.

La metformina è generalmente un farmaco ben tollerato e privo di effetti collaterali importanti; tra questi è stata segnalata una riduzione dei livelli plasmatici di vitamina B12. Tale effetto è stato riportato da Tomkin già nel 1971<sup>(2)</sup>, e successivamente confermato da diversi altri studi<sup>(3-6)</sup>.

Sappiamo che la metformina ostacola l'assorbimento della vitamina B12, tuttavia i meccanismi attraverso i quali si esplica tale azione non sono ancora completamente chiariti. Alcuni Autori ipotizzano un'alterazione del microbiota intestinale<sup>(7)</sup>, altri un'alterazione della motilità intestinale<sup>(8)</sup>: secondo la teoria più accettata il farmaco potrebbe antagonizzare gli ioni  $Ca^{++}$  e interferire con il legame del complesso vitamina B12 e fattore estrinseco con il recettore cubilin delle cellule ileali, tappa iniziale del processo di assorbimento della vitamina<sup>(9-11)</sup>.

Le fonti naturali della vitamina B12 sono gli alimenti di origine animale, in particolare il fegato, i crosta-

cei, le uova, la carne rossa e i formaggi soprattutto se stagionati.

La vitamina ha un ruolo importante nella sintesi del DNA e in svariate reazioni biochimiche. Il deficit procede per stadi, inizialmente si verifica una riduzione dei valori plasmatici di B12 e olotranscobalamina, il complesso formato dalla vitamina e la proteina di trasporto ematico Transcobalamina II, successivamente compaiono alterazioni di alcuni parametri biochimici quali l'aumento dell'omocisteina e dell'acido metilmalonico che sono normalmente metabolizzati in assenza di deficit vitaminico, e soltanto nello stadio finale si manifestano i sintomi clinici, soprattutto neurologici ed ematologici<sup>(12)</sup>.

L'assorbimento della vitamina B12 è un processo complesso e delicato che richiede la corretta successione di più tappe e l'intervento di più fattori. La vitamina è normalmente legata alle proteine alimentari e occorre l'intervento dell'acidità gastrica e della pepsina per staccarla dalle proteine e legarla a una glicoproteina gastrica che la protegge dall'acido cloridrico. Nel duodeno gli enzimi proteolitici pancreatici scindono questo legame e permettono la formazione del complesso B12-fattore intrinseco che attraversa l'intestino tenue e viene riassorbito dalle cellule ileali<sup>(13,14)</sup>. Un processo così complicato può facilmente incepparsi per varie cause: patologie gastriche che riducono la produzione di acido gastrico, di pepsina o di fattore intrinseco, ma anche gli antiH2 e gli inibitori di pompa protonica possono sortire lo stesso effetto<sup>(15)</sup>, le malattie croniche intestinali, la dieta vegetariana e soprattutto quella vegana.

La prevalenza della deficienza di vitamina B12, secondo diversi studi<sup>(2,6,16-22)</sup>, varia dal 5,8 % al 30 % dei soggetti affetti da diabete in trattamento di lungo termine con metformina, ma questi lavori non sono stati condotti nella popolazione Italiana, che ha abitudini alimentari differenti dagli altri paesi

## SCOPO DELLO STUDIO

Il nostro lavoro si propone di valutare la prevalenza del deficit di vitamina B12 in Italia in pazienti che afferiscono a Centri Diabetologici della Regione Campania, quindi tutti seguiti da strutture diabetologiche specialistiche, in una realtà differente dagli altri studi. In particolare ci proponiamo di studiare l'effetto della terapia con metformina sui valori plasmatici della vitamina, escludendo i più noti fattori che possono interferire con tali valori

## MATERIALI E METODI

Abbiamo arruolato i pazienti che successivamente affluivano nei nostri ambulatori, indipendentemente dalla terapia praticata, esclusi coloro che per patologie o per particolari stili di vita potevano far registrare valori alterati di Vitamina B12 plasmatici.

Criteri d'esclusione:

- Soggetti in terapia con integratori di vitamina B12 o che avevano effettuato questa supplementazione nell'ultimo anno
- Gastroresecati o operati di by pass gastrico
- Vegani o vegetariani
- Donne in gravidanza
- Sindromi da malassorbimento quale il morbo di Crohn
- Grave insufficienza respiratoria, cardiaca o epatica
- Dializzati
- Pazienti affetti da neoplasie

Sono stati arruolati solo soggetti con diabete tipo 2, già seguiti dal nostro Centro o di recente insorgenza, o i pazienti affetti da condizioni di alterata regolazione glicemica, esclusi i soggetti con diabete tipo 1 e le gravide. Tutti sono stati divisi in tre gruppi: il primo gruppo era formato da coloro che erano in terapia con metformina, il secondo da coloro che non avevano mai praticato terapia con il farmaco (diabete di recente insorgenza, condizioni di alterata regolazione glicemica o soggetti nei quali non era indicata la terapia con la metformina) e il terzo da coloro che in passato avevano assunto il farmaco ma che poi l'avevano sospeso per varie ragioni. Quest'ultimo gruppo alla fine dello studio risultava costituito solamente da 37 pazienti, un numero troppo esiguo per poter ottenere dei dati statisticamente significativi; per questo motivo abbiamo deciso di escluderli dallo studio.

Per ogni paziente abbiamo compilato una scheda di arruolamento, che oltre a dati anagrafici e anamnestici comprendeva anche alcuni esami ematologici quali l'emoglobina glicata, la creatininemia e naturalmente il dosaggio della vitamina B12 plasmatico.

Abbiamo scelto il valore soglia di 200 pg/ml di vitamina B12 nel plasma; i soggetti con valori uguali o inferiori alla soglia venivano considerati in deficienza vitaminica.

Gli esami che il paziente eventualmente portava in visione sono stati acquisiti, purché non antecedenti a sei mesi, gli esami mancanti sono stati richiesti e registrati al successivo controllo ambulatoriale.

Abbiamo inoltre segnalato la presenza di eventuali patologie gastriche croniche o di morbo celiaco e l'eventuale uso di Inibitori di pompa protonica o antagonisti H2, di seguito indicati come gastroprotettori, condizioni che secondo la letteratura potrebbero interferire con l'assorbimento della vitamina B12.

### ANALISI STATISTICA

Nel nostro studio abbiamo raccolto sia dati qualitativi che quantitativi numerici: i primi sono stati riportati in valore assoluto e in percentuale, gli altri come media e numero di osservazioni. Successivamente abbiamo suddiviso la nostra popolazione in tre gruppi a seconda che fossero in terapia con metformina oppure non avessero mai praticato tale terapia o l'avessero sospesa.

Il confronto fra due medie è stato eseguito con il test U di Mann Whitney, quello fra percentuali con il test  $\chi$  quadro. La correlazione fra due variabili quantitative è stata verificata con il test di Spearman.

Il valore scelto come soglia di significatività è stato  $p < 0,05$ ; è stato sempre eseguito il test a due code.

Avendo individuato le caratteristiche correlate in maniera significativa con i valori plasmatici di vitamina B12, si è proceduto a un'ulteriore analisi utilizzando la regressione multivariata in modelli che comprendevano tutte le variabili risultate statisticamente significative all'analisi bivariata, per correggere i dati e individuare le proprietà correlate in maniera indipendente con tali valori.

Per i calcoli statistici è stato utilizzato il software GRETL ver. 2016b.

### RISULTATI

Sono stati arruolati 551 pazienti i cui dati sono riassunti nella tabella 1, la maggioranza di essi (il 73%) era in terapia con metformina, il 27% non aveva mai praticato terapia con il farmaco. 95 soggetti (17,2 %) hanno fatto registrare valori plasmatici di vitamina B12 uguali o inferiori alla soglia minima di 200 pg/ml.

In tabella 1, le variabili quantitative sono riportate come media e deviazione standard, le variabili qualitative come numero di osservazioni e percentuale sul totale. Alcuni dati di laboratorio non erano disponibili per tutti i soggetti della nostra casistica; in questo caso abbiamo indicato anche il numero totale di osservazioni registrate

In tabella 2 sono indicati i dati relativi ai due gruppi, in terapia con metformina e non; non sono emerse

**Tabella 1** | Caratteristiche generali dell'intera popolazione.

	TOTALE O MEDIA	% O DS
N. PAZIENTI	551	
ETÀ (MEDIA)	65,8	12
SESSO M	282	51,1 %
TIPO2 / ALTERATA REGOLAZIONE GLICEMICA	510/41	
ANNI DIABETE (MEDIA)	9,5	8,6
EMOGLOBINA GLICATA % (MEDIA)	7,13	1,3
N.PAZIENTI CON DATO REGISTRATO	513	
CREATININEMIA MG% (MEDIA)	0,91	0,24
N.PAZIENTI CON DATO REGISTRATO	507	
IN TERAPIA CON GASTROPROTETTORI	214	40 %
N. PAZIENTI CON DATO REGISTRATO	539	
VIT.B12 PG/ML (MEDIA)	346	185
VIT.B12 <=200 PG/ML	95	17,2 %

differenze significative per quanto riguarda il sesso, l'uso di gastroprotettori e i valori di emoglobina glicata, anche se questi ultimi risultano leggermente più alti nel gruppo non metformina. Nel gruppo metformina risultano significativamente più bassi i valori di Vitamina B12 e creatininemia, maggiori l'età media, e gli anni di diabete. Queste differenze si spiegano perché nel gruppo non in terapia con metformina ci sono molti soggetti con diabete di recente insorgenza o in condizioni di alterata regolazione glicemica, quindi più giovani e con minore durata della malattia. Se consideriamo i soggetti con deficienza di vitamina B12 ( $\leq 200$  pg/ml), la maggioranza sono nel gruppo in terapia con metformina 20,8 %, mentre nel gruppo mai trattato con metformina sono solo 7,4%, la differenza è statisticamente significativa ( $p = 0,001$ ). In tabella 3 riportiamo i risultati di un'altra indagine che abbiamo eseguito sui nostri dati, allo scopo di evidenziare con quali variabili quantitative fossero correlati i valori plasmatici di vitamina B12, a questo scopo abbiamo utilizzato il test di correlazione per ranghi di Spearman.

Considerando l'intera popolazione dei soggetti (Tabella 3) risulta che i valori di vitamina B12 non sono correlati con la creatininemia, si riducono con l'avanzare dell'età

**Tabella 2 |** Confronto soggetti in trattamento con metformina e non metformina. Il p value è stato calcolato con il test  $\chi$  per i dati qualitativi e il test U di Mann Whitney per quelli quantitativi.

	METFORMINA SÌ	% O DS	METFORMINA NO	% O DS	P MET.SÌ VS NO
N. PAZIENTI	404	73 %	147	27 %	
ETÀ (MEDIA)	67,1	8,9	62	13,6	0,0002
SESSO M	203	50,2 %	79	53,7 %	0,47
ANNI DIABETE (MEDIA)	11,8	7,9	3,2	7,1	<0,0001
ANNI TERAPIA MET. (MEDIA)	10,2	25,3			
DOSAGGIO (MG/DIE MEDIA)	1564	577			
ANNI SOSPENSIONE (MEDIA)					
EMOGLOBINA GLICATA (% MEDIA)	7,06	1,18	7,2	1,4	0,81
CREATININEMIA (MG% MEDIA)	0,89	0,21	0,98	0,3	0,007
SÌ GASTROPROTETTORI	155	39,6 %	59	40,9 %	0,78
NO GASTROPROTETTORI	236		85		
VIT.B12 (PG/ML MEDIA)	317	165	425	214	<0,0001
VIT.B12 <= 200 PG/ML	84	20,8 %	11	7,4 %	0,0001

(p=0,003) e con gli anni di diabete (p=0,0006); sono correlati positivamente con l'emoglobina glicata (p=0,034), cioè i valori plasmatici della vitamina aumentano parallelamente al grado di scompenso metabolico.

In tabella 3, inoltre, sono riportati i risultati di un'ulteriore analisi condotta solo nei soggetti in terapia con metformina, tra questi i valori di vitamina B12 risultano correlati negativamente con gli anni di uti-

lizzo del farmaco (p=0,018) e con il dosaggio della metformina (p<0,001).

I soggetti che utilizzano i gastroprotettori fanno registrare mediamente valori più bassi di vitamina B12; per valutare meglio questa relazione è stata condotta un'analisi aggiuntiva con il test U di Mann Whitney, mettendo a confronto le due medie di valori plasmatici della vitamina, fra coloro che erano in terapia con gastroprotettori e coloro che non assumevano questi farmaci; in questa analisi sono stati aggiunti anche i dati relativi ai pazienti che avevano sospeso la metformina (i risultati sono riportati in tabella 4). I valori di Cobalamina sono mediamente più bassi nei soggetti in terapia con gastroprotettori, anche se per poco non si raggiunge la significatività statistica (p=0,06).

**Tabella 3 |** Correlazione fra i valori della B12 e le variabili quantitative indicate in tabella, l'analisi è stata condotta solo nei pazienti con il dato registrato, p value calcolato con coefficiente di Spearman.

	P VALUE	TIPO CORRELAZIONE
ETÀ	0,003	Relaz. Negativa
ANNI DIABETE	0,0006	Relaz. negativa
ANNI TERAPIA METFORMINA	0,017	Relaz. negativa
DOSAGGIO METFORMINA	<0,0001	Relaz. negativa
EMOGLOBINA GLICATA %	0,034	Relaz. Positiva
CREATININEMIA MG%	0,43	Relaz. Negativa

**Tabella 4 |** Confronto fra i valori della vitamina B12 plasmatica nei soggetti in terapia con gastroprotettori e non gastroprotettori. L'analisi statistica è stata condotta con il test U di Mann Whitney.

Test per la differenza tra i valori della Vitamina B12 plasmatica: soggetti in terapia con gastroprotettori (numero pazienti = 231) vs no gastroprotettori (numero pazienti = 338)  
p-value = 0,060

Al fine di valutare l'effetto significativo ed indipendente dell'utilizzo di metformina sui valori di vitamina B12, abbiamo condotto un'ulteriore analisi multivariata con la metodica della regressione multipla; abbiamo inserito tutte le variabili che all'analisi bivariata erano correlate con la variabile dipendente in esame, in particolare l'età, gli anni di diabete, l'emoglobina glicata, l'utilizzo o meno di gastroprotettori e abbiamo escluso i soggetti che avevano il dato mancante in una delle variabili inserite nel modello. I risultati hanno mostrato un'associazione significativa ed indipendente solo con la terapia con metformina, mentre l'età, gli anni di diabete e l'emoglobina glicata perdevano la significatività della relazione; l'utilizzo di gastroprotettori risulta correlato negativamente con i valori della vitamina, al limite della significatività ( $p=0,07$ ) (Tabella 5).

La figura 1 rappresenta un diagramma boxplot nel quale sono evidenziati in maniera più visibile e immediata gli effetti della terapia con metformina e con gastroprotettori sui valori plasmatici della vitamina B12. Sono messi a confronto i valori della cobalamina plasmatica in quattro gruppi di pazienti a seconda del trattamento con metformina e gastroprotettori. Le medie più basse sono quelle dei pazienti in terapia con metformina, l'aggiunta del gastroprotettore abbassa le medie sia nei pazienti in trattamento con metformina che non, tuttavia, stando ai nostri dati, questo effetto si fa sentire maggiormente in coloro che non assumono metformina ( $p=0,038$ ), mentre l'effetto è minore e non significativo nei soggetti in trattamento con metformina ( $p=0,31$ ).

## DISCUSSIONE E LIMITI

### DELLO STUDIO

Il nostro è uno dei pochi studi osservazionali condotti su una casistica italiana di soggetti afferenti ai centri di diabetologia, nei quali vengono valutati i valori

plasmatici della vitamina B12 allo scopo di evidenziare la prevalenza di stati carenziali e correlarli con alcune caratteristiche, in particolare l'utilizzo della metformina.

I nostri dati confermano che la terapia con metformina è associata a valori significativamente più bassi di vitamina B12, un ulteriore dato di coerenza del nostro lavoro è che i valori plasmatici della vitamina sono più bassi nei pazienti che assumono dosaggi più elevati di metformina o la assumono da più tempo.

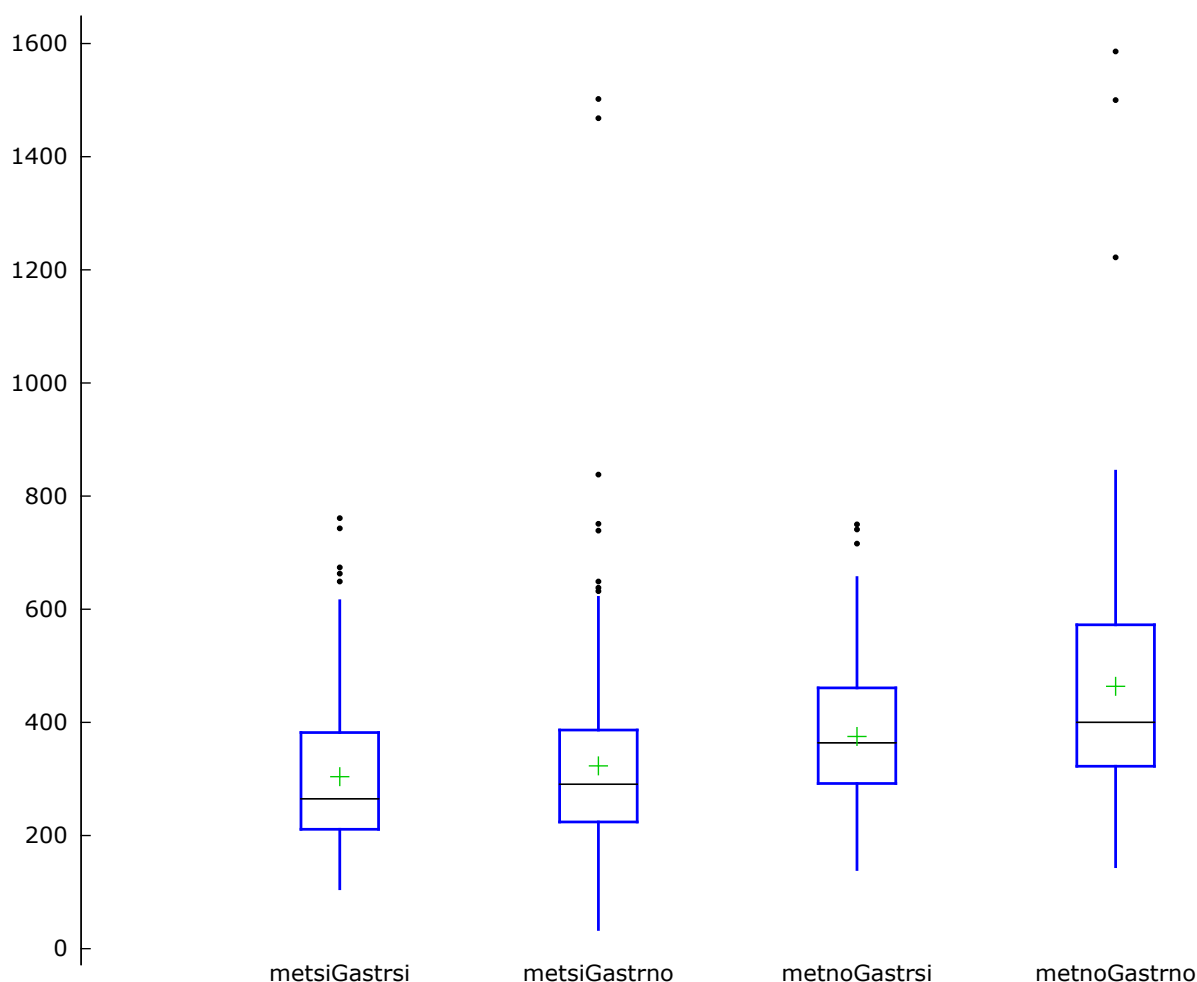
I valori plasmatici di Cobalamina risultano essere anche correlati con altre variabili, in accordo con quanto si legge in letteratura: in particolare si riducono con l'avanzare dell'età e degli anni di diabete e con l'utilizzo di farmaci gastroprotettori; inoltre aumentano con l'aumentare dei valori dell'emoglobina glicata.

Quest'ultimo dato si potrebbe spiegare tenendo presente che, nella nostra casistica, i soggetti non in terapia con metformina, sono spesso soggetti con diabete di nuova diagnosi, più giovani e in scompenso metabolico, mostrano valori di emoglobina glicata lievemente più alti di coloro che usano metformina, anche se in maniera non significativa. I soggetti in trattamento con metformina sono in trattamento da più anni e sono meglio compensati, pertanto la differenza sarebbe in realtà dovuta all'età e all'utilizzo o meno della metformina. Altra spiegazione potrebbe essere che i soggetti meglio compensati seguono una dieta più rigorosa e pertanto è più probabile che possano incorrere in un deficit vitaminico. I dati che abbiamo trovato in letteratura sono pochi e in contrasto tra loro<sup>(23,24)</sup>; occorrono ulteriori studi per poter chiarire la reale sussistenza di questa correlazione fra emoglobina glicata e valori plasmatici della vitamina B12.

Dall'analisi multivariata, mettendo in campo diverse variabili, risulta che l'utilizzo della metformina è il fattore che condiziona maggiormente i valori pla-

**Tabella 5 |** Regressione multivariata: variabile dipendente rappresentata dai valori plasmatici della vitamina B12 e variabili indipendenti indicate in tabella. Analisi statistica condotta con il metodo dei minimi quadrati (OLS), usando 492 osservazioni, esclusi i dati con valore mancante in uno qualsiasi dei predittori.

VARIABILE DIPENDENTE: VITAMINA B12				
	COEFFICIENTE	ERRORE STD.	RAPPORTO T	P VALUE
CONST	153,791	87,4182	1,759	0,0792
METFORMINA Si=1-NO=2	110,407	20,5433	5,374	<0,0001
ETÀ	-0,782362	0,856869	-0,913	0,3617
ANNI DIABETE	0,551251	1,0346	0,5328	0,5944
EMOGLOBINA GLICATA	7,18539	6,16989	1,165	0,2448
GASTROPROTETTORI Si=1-NO=2	29,5118	16,4514	1,794	0,0735



Prima colonna: soggetti in terapia sia con metformina che con gastroprotettori (mediana:265)

Seconda colonna: soggetti in terapia con metformina e non gastroprotettori (mediana:290)

Terza colonna: soggetti non metformina ma in terapia con gastroprotettori (mediana:364)

Quarta colonna: soggetti non in terapia con metformina né gastroprotettori (mediana:400)

Test U Mann Whitney

Prima vs seconda colonna:  $p=0,31$

Terza vs quarta colonna:  $p=0,038$

**Figura 1 |** Confronto valori di cobalamina plasmatica (pg/ml), soggetti divisi in quattro gruppi a seconda del trattamento con metformina e gastroprotettori.

smatici della vitamina B12, infatti risulta essere più importante dell'età, degli anni di malattia, del grado di compenso metabolico e anche dell'utilizzo o meno dei gastroprotettori, tutti fattori che in questa analisi non raggiungono la significatività statistica come predittori dei valori plasmatici della vitamina.

Il nostro studio sul rischio di deficit di vitamina B12 nelle persone con diabete trattate cronicamente con metformina presenta risultati rilevanti e potenziali risvolti clinici non trascurabili, pro-

prio per questi motivi i dati in esso contenuti meriterebbero di essere confermati su più vasta scala e su più centri. Inoltre, il dosaggio della vitamina B12, al momento, non è compreso nelle prestazioni essenziali rimborsate per le persone con diabete; se il dato venisse confermato, si potrebbe proporre l'inserimento dell'esame nelle persone trattate con metformina.

Di seguito provvediamo a segnalare alcuni limiti dello studio.

Non è stato possibile eseguire il dosaggio della vitamina B12 plasmatica in un unico laboratorio centralizzato, anche se è stato condotto con lo stesso metodo della chemiluminescenza, per tale motivo i dosaggi eseguiti in laboratori diversi potrebbero essere non completamente omogenei tra loro.

I due gruppi di pazienti, in trattamento con metformina e non, risultano omogenei per sesso, creatinemia e utilizzo di gastroprotettori ma sono diversi fra loro per alcune caratteristiche, in particolare la numerosità del campione, l'età e gli anni di malattia che sono maggiori nel primo gruppo, mentre l'emoglobina glicata è lievemente maggiore nel secondo gruppo; questa non omogeneità potrebbe essere responsabile di un bias nei risultati ottenuti.

I valori della creatinina plasmatica sono mediamente più alti nei soggetti che non assumono metformina, anche se questi ultimi risultano essere più giovani e con meno anni di diabete, si tratta di un dato per il quale non riusciamo a trovare una spiegazione, probabilmente dovuto a qualche fattore che non è stato analizzato.

Non è stata fatta una valutazione degli eventuali sintomi da carenza della vitamina, quali l'anemia macrocitica e i disturbi neurologici, che si possono accompagnare ai valori plasmatici bassi della vitamina, pertanto non conosciamo la prevalenza delle alterazioni cliniche e la correlazione con i valori plasmatici della vitamina.

## CONCLUSIONI

Il nostro studio, in accordo con altri Autori, conferma che la prevalenza di deficit di vitamina B12 nei soggetti in trattamento con metformina è piuttosto alta, il 20,8 %, pertanto è opportuno dosare i valori plasmatici della vitamina in tutti i diabetici in trattamento cronico con il farmaco, soprattutto se a dosaggi più elevati e da maggior tempo. Secondo i nostri dati, l'eventuale uso di gastroprotettori nei soggetti in terapia con metformina non sembra avere un importante effetto additivo nel ridurre i valori plasmatici della vitamina, tuttavia nel gruppo di soggetti non in trattamento con metformina, questo effetto è statisticamente significativo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Osservatorio ARNO Diabete 'Il Profilo assistenziale della popolazione con diabete' Rapporto 2017 - vol. XXX - Collana 'Rapporti ARNO'
2. Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Montgomery DA. Vitamin-B12 status of patients on long-term metformin therapy. *Br Med J* 19:685-687, 1971.

3. de Jager J, Kooy A, Leher P, Wulfele MG, van der Kolk J, Bets D, et al. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 20:c2181, 2010.
4. 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* 52:47-53, 2014.
5. Calvo Romero JM, Ramiro Lozano JM. Vitamin B(12) in type 2 diabetic patients treated with metformin. *Endocrinol Nutr* 59:487-490. 2012.
6. 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* 71:386-390, 2013.
7. Caspary WF, Creutzfeldt W. Analysis of the inhibitory effect of biguanides on glucose absorption: inhibition of active sugar transport. *Diabetologia* 7:379-385, 1971.
8. Buvat DR. Use of metformin is a cause of vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 15:264, 2004.
9. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 23:1227-1231, 2000.
10. Schafer G. Some new aspects on the interaction of hypoglycemia-producing biguanides with biological membranes. *Biochem Pharmacol* 15:2015-2024, 1976.
11. Carmel R, Rosenberg AH, Lau KS, Streiff RR, Herbert V. Vitamin B12 uptake by human small bowel homogenate and its enhancement by intrinsic factor. *Gastroenterology* 56:548-555, 1969.
12. Ahmed MA. Metformin and Vitamin B12 Deficiency: Where Do We Stand ? *J Pharm Pharm Sci* 19:382-398, 2016.
13. Kozyraki R, Cases O. Vitamin B12 absorption: mammalian physiology and acquired and inherited disorders. *Biochimie* 95:1002-1007, 2013.
14. Kristiansen M, Kozyraki R, Jacobsen C, Nexø E, Verroust PJ, Moestrup SK. Molecular dissection of the intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin, discloses regions important for membrane association and ligand binding. *J Biol Chem* 274:20540-20544, 1999.
15. Valuck RJ, Ruscini JM. A case-control study on adverse effects: H2 blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults. *J Clin Epidemiol* 57:422-428, 2004.
16. Pflipsen MC, Oh RC, Saguil A, et al. The prevalence of vitamin B(12) deficiency in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *J Am Board Fam Med* 22:528-34, 2009.
17. Reinstatler L, Qi YP, Williamson RS, Garn JV, Oakley GP Jr. Association of biochemical B12 deficiency with metformin therapy and vitamin B12 supplements: the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care* 35:327-33, 2012.
18. Hermann LS, Nilsson B, Wettre S. Vitamin B12 status of patients treated with metformin: a cross-sectional cohort study. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease* 4:401-6, 2004.
19. Leung S, Mattman A, Snyder F, et al. Metformin induces reductions in plasma cobalamin and haptocorrin bound cobalamin levels in elderly diabetic patients. *Clin Biochem* 43:759-60, 2010.



20. Nervo M, Lubini A, Raimundo FV, et al. Vitamin B12 in metformin-treated diabetic patients: a cross-sectional study in Brazil. *Rev Assoc Med Bras* 57:46-9, 2011.
21. Ko SH, Ko SH, Ahn YB et al. Association of vitamin B12 deficiency and metformin use in patients with type 2 diabetes. *J Korean Med Sci* 29:965-72, 2014.
22. Damião CP, Rodrigues AO, Pinheiro MF, et Al. Prevalence of vitamin B12 deficiency in type 2 diabetic patients using metformin: a cross-sectional study. *Sao Paulo Med J* 134:473-479, 2016.
23. Akabwai GP, Kibirige D, Mugenyi L, et al. Vitamin B12 deficiency among adult diabetic patients in Uganda: relation to glycaemic control and haemoglobin concentration. *J Diabetes Metab Disord* 15:26, 2016.
24. Lee YJ, Wang MY, Lin MC, Lin PT. Associations between Vitamin B-12 Status and Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Vegetarians and Omnivores. *Nutrients* 8:118, 2016.