

Metformina farmaco anti-aging? Tra promesse ed evidenze

Is metformin an anti-aging drug? Between promises and evidence

Vittoria Cataldo, Giuseppe Paolisso

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2202d>

ABSTRACT

Biological aging results from molecular and cellular damage over time. This process determines a progressive decrease in physical and functional capacity, an increased risk of disease and death. Therefore, the identification of the molecular mechanisms of aging has led to research for senotherapeutic strategies. Metformin is an oral hypoglycaemic drug. It is the first choice for the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM). However, clinical and preclinical evidence has shown the beneficial effects of metformin also in cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, and aging. This editorial explores the recent evidence on metformin as an anti-aging drug.

KEYWORDS

Metformin, anti-aging, senescence, inflammaging, senolytic, senomorphic.

L'INVECCHIAMENTO BIOLOGICO E LA SFIDA DELLA MEDICINA ANTI-AGING

L'invecchiamento biologico, secondo la definizione della World Health Organization, rappresenta il risultato del progressivo accumulo nel tempo, di danni molecolari e cellulari nell'organismo. Ciò determina una graduale riduzione delle capacità organiche e funzionali dell'individuo con crescente rischio di sviluppare morbidità e mortalità. L'età cronologica rappresenta infatti, il principale fattore predittivo per la maggior parte delle patologie età correlate, quali ad esempio malattie neurodegenerative,

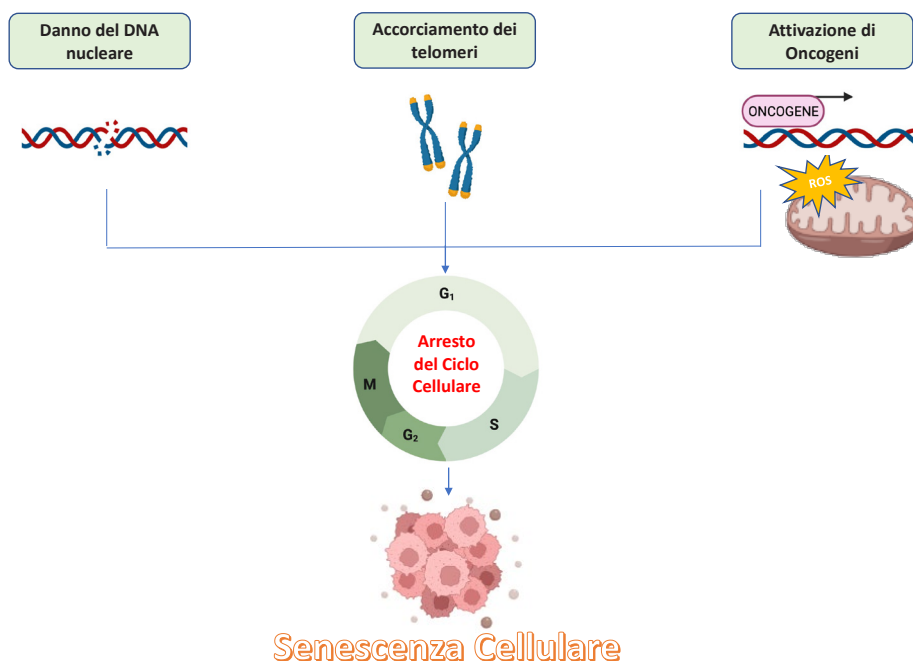
cardiovascolari e tumorali, che ad oggi assorbono l'80% della spesa sanitaria nazionale (1). Negli ultimi anni, infatti, l'invecchiamento e le patologie ad esso associate rappresentano un florido filone di ricerca con l'obiettivo di identificare i meccanismi molecolari alla base dell'invecchiamento cellulare e potenziali target terapeutici che possano realizzare le tre grandi sfide della medicina anti-aging: l'allungamento della durata della vita, dello stato di salute ed il ringiovanimento (2).

MECCANISMI MOLECOLARI DELL'INVECCHIAMENTO CELLULARE

L'invecchiamento cellulare è uno stato stazionario di arresto della crescita e proliferazione, nonostante la presenza di stimoli mitogeni e di condizioni di crescita ottimali. I meccanismi molecolari che determinano la scelta tra apoptosi e senescenza non sono del tutto noti, tuttavia, ad oggi, sono descritti in letteratura diversi fattori che possono indurre senescenza cellulare (Fig. 1), di seguito descritti:

1) *Il danno del DNA nucleare* è spesso il trigger più comune di senescenza cellulare. Tale danno attiva una cascata di segnali, definita come risposta al danno del DNA, DDR (dall'inglese *DNA Damage Response*), che determina l'attivazione di p53, che a sua volta provoca l'arresto del ciclo cellulare. L'attivazione prolungata del DDR innesca la senescenza cellulare.

Figura 1 ♦ I principali meccanismi in grado di determinare senescenza cellulare sono: 1) Il danno del DNA nucleare 2) L'accorciamento dei telomeri 3) L'attivazione di Oncogeni. Tali fattori convergono nell'arresto del ciclo cellulare che innesca la senescenza cellulare



2) *L'accorciamento dei telomeri* rappresenta un ulteriore meccanismo di senescenza cellulare. Ogni volta che le cellule si dividono, il DNA si duplica e i telomeri, le porzioni terminali del DNA si accorciano, con conseguente perdita, ad ogni divisione cellulare, di un numero variabile di nucleotidi. Quando i telomeri sono troppo corti per proteggere il DNA, le cellule smettono di dividersi, andando incontro a senescenza replicativa.

3) *L'attivazione oncogenica* rappresenta un potente induttore della senescenza cellulare. Essa innesca una fase iperproliferativa iniziale che è intrinsecamente associata al danno del DNA da replicazione, in parte attraverso la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS).

Le cellule senescenti, pertanto, oltre alla risposta prolungata al danno del DNA (DDR), subiscono variazioni dell'organizzazione della cromatina e dell'espressione genica, con secrezione di citochine proinfiammatorie, chemochine, fattori di crescita e proteasi, che determinano il cosiddetto fenotipo secretorio senescente (SASP). Il SASP contribuisce all'instaurarsi di uno stato di infiammazione cronica, il cosiddetto "inflammaging", alla disfunzione delle cellule staminali e progenitrici

e alla diffusione della senescenza alle cellule non senescenti (2-5).

I FARMACI ANTI-AGING

Le strategie "senoterapeutiche" possono essere ampiamente classificate in due categorie: agenti farmacologici detti "senolitici", che eliminano direttamente le cellule senescenti, e agenti "senomorfici" che prevengono gli effetti dannosi estrinseci delle cellule senescenti (3). Dalla combinazione di modelli di senescenza in vitro e su animali in vivo, sono state sviluppate diverse strategie di senolisi. Le cellule senescenti hanno una maggiore resistenza all'apoptosi a causa di un *up-regulation* dei pathways di sopravvivenza cellulare, come la famiglia delle proteine anti-apoptotiche BCL-2 (6). Di recente, è stato scoperto che il glicoside cardiaco ouabaina, è dotato, almeno in parte di attività senolitica, attraverso l'induzione una proteina proapoptotica appartenente alla famiglia BCL-2 (Tab. 1). I farmaci senomorfi, invece, non eliminano direttamente le cellule senescenti ma sono in grado di modificare il fenotipo secretorio associato alla senescenza e pertanto la loro capacità mantenere un arresto stabile del

Tabella 1 ◆ **Agenti senolitici**

Principali agenti con attività senolitica, il loro utilizzo nella pratica clinica ed il meccanismo molecolare determinante l'azione senolitica. BCL protein, B-cell lymphoma-2 family proteins; PI3K, Phosphatidylinositol 3-Kinase; AKT, Protein kinase B or Akt; mTOR, mammalian target of rapamycin; HDAC, histone deacetylase.

AGENTE FARMACOLOGICO	USO CLINICO APPROVATO	POSSIBILE MECCANISMO D'AZIONE COME AGENTE SENOLITICO
Desatinib	Terapia antitumorale	Inibizione recettori tirosin-chinasi
Oubaina e Digossina	Glicosidi cardioattivi	Inibizione proteine pro-apoptotiche (BCL proteins)
Quercetina	Integratore ad azione antiossidante	Inibizione PI3K
Fisetina	Integratore ad azione antiossidante	Inibizione PI3K/AKT/mTOR
Azitromicina	Terapia antibiotica	Induce cambiamenti del metabolismo e dei meccanismi di autofagia
Roxitromicina	Terapia antibiotica	Induce cambiamenti del metabolismo e dei meccanismi di autofagia
Panobinostat	Terapia antitumorale	Inibisce HDAC

ciclo cellulare (Tab. 2). A questa categoria appartengono farmaci di comune utilizzo nella pratica clinica quali ad esempio la rapamicina che esplica l'effetto senomorfo inibendo mTOR, l'etanercept inibendo il TNF α o la metformina inibendo il fattore NF- κ B (7). Nel complesso, tali farmaci, indipendentemente dal loro target molecolare, agiscono riducendo l'attività proinfiammatoria cellulare, responsabile dell'inflammaging (4).

LA METFORMINA COME FARMACO ANTI-AGING

La metformina è un farmaco ipoglicemizzante orale, insulino-sensibilizzante, appartenente alla classe dei biguanidi. È ormai il farmaco di prima scelta nel trattamento del Diabete Mellito di Tipo 2 (DMT₂), oltre che per l'efficacia anche per il profilo di sicurezza e per il basso costo. Negli ultimi anni, evidenze cliniche e precliniche, hanno dimostrato gli effetti benefici della metformina non solo sul controllo glicemico ma anche nell'ambito delle malattie cardiovascolari, delle malattie neurodegenerative, delle malattie autoimmuni e, più recentemente, dell'invecchiamento (4). I meccanismi molecolari con cui la metformina regola i pathway coinvolti nell'invecchiamento non sono del tutto noti; tuttavia, un modello proposto, è il seguente (Fig. 2). La metformina, a livello cellulare esplica effetti metabolici, anti-ossidativi ed antinfiammatori. Essa agisce a livello extracellulare, determinando una ridotta attivazione del recettore in-

ulinico, del recettore del fattore di crescita IGF-1 e dei recettori citochinici. Il suo ingresso nelle cellule è mediato da un trasportatore cationico OCT₁. All'interno della cellula uno dei principali effetti della metformina è l'inibizione della catena mitocondriale con conseguente ridotta produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) ed un aumento del rapporto AMP/ATP che causa attivazione diretta dell'AMPK, sensore energetico della cellula. L'attivazione di AMPK determina riduzione dei prodotti avanzati di glicazione, degli stimoli pro-apoptotici ed inibizione di mTOR₁.

mTOR₁ è una serin-treonin chinasi in grado di regolare metabolismo e crescita cellulare oltre ad essere fortemente implicata nel processo di invecchiamento. La sua inibizione attiva i segnali di autofagia evitando l'accumulo di proteine danneggiate. Gli effetti antinfiammatori invece sono indipendenti dall'attivazione di AMPK e sono determinati dalla downregulation delle citochine proinfiammatorie come NF- κ B (4).

METFORMINA ANTI-AGING: STUDI IN VITRO ED IN VIVO

Con l'avvento della medicina anti-aging sono stati condotti i primi studi volti a valutare il potenziale effetto della metformina sull'invecchiamento. Studi condotti su *C. Elegans* hanno dimostrato che la metformina determina un allungamento della vita media in maniera dose-dipendente dal 18 al 36%. Successivamente, studi

Tabella 2 ◆ **Agenti senomorfici**

Principali agenti con attività senomorfica, il loro utilizzo nella pratica clinica ed il meccanismo molecolare determinante l'azione senomorfica. NF- κ B nuclear factor- κ B kinase; mTOR, mammalian target of rapamycin; HSP90, heat shock protein 90; IL-1R, interleukin-1 receptor; TNF, tumour necrosis factor.

AGENTE FARMACOLOGICO	USO CLINICO APPROVATO	POSSIBILE MECCANISMO D'AZIONE COME AGENTE SENOMORFICO
Metformina	Diabete Mellito di Tipo 2	Inibizione NF- κ B
Rapamicina	Farmaco immunosoppressore	Inibizione mTOR
Loperamide	Trattamento della diarrea	Blocco HSP90
Simvastatina	Trattamento dell'ipercolesterolemia	Inibizione IL-1 e IL-6
Anakinra	Trattamento dell'artrite reumatoide	Blocco IL-R
Etanercept	Trattamento delle malattie autoimmuni	Inibizione TNF
Infliximab	Trattamento delle malattie autoimmuni	Inibizione TNF

condotti su modelli animali hanno dimostrato che topi trattati per 9 mesi con metformina hanno presentato un allungamento della durata della vita del 14% circa. Pertanto, partendo da queste evidenze sono stati condotti diversi trial volti a valutare l'effetto anti-aging della metformina nell'uomo (2).

Lo studio MILES (*Metformin in Longevity Study*) è uno studio crossover, condotto in doppio cieco, su 14 soggetti di età maggiore ai 70 anni con una ridotta tolleranza agli idrati di carbonio, che valuta i cambiamenti trascrittomici (nel muscolo e nel tessuto adiposo) indotti dall'utilizzo di metformina per 6 settimane. L'analisi genomica condotta ha evidenziato che la metformina non solo esercita effetti metabolici a livello di tali tessuti, ma è in grado di influenzare anche l'espressione genica di geni rispettivamente coinvolti, nella riparazione del DNA nel muscolo e geni mitocondriali del tessuto adiposo, i quali influenzano il processo di invecchiamento. Inoltre, è interessante notare che i mediatori dell'infiammazione rappresentano comuni regolatori a monte dei geni differenzialmente espressi nei due tessuti (4, 8).

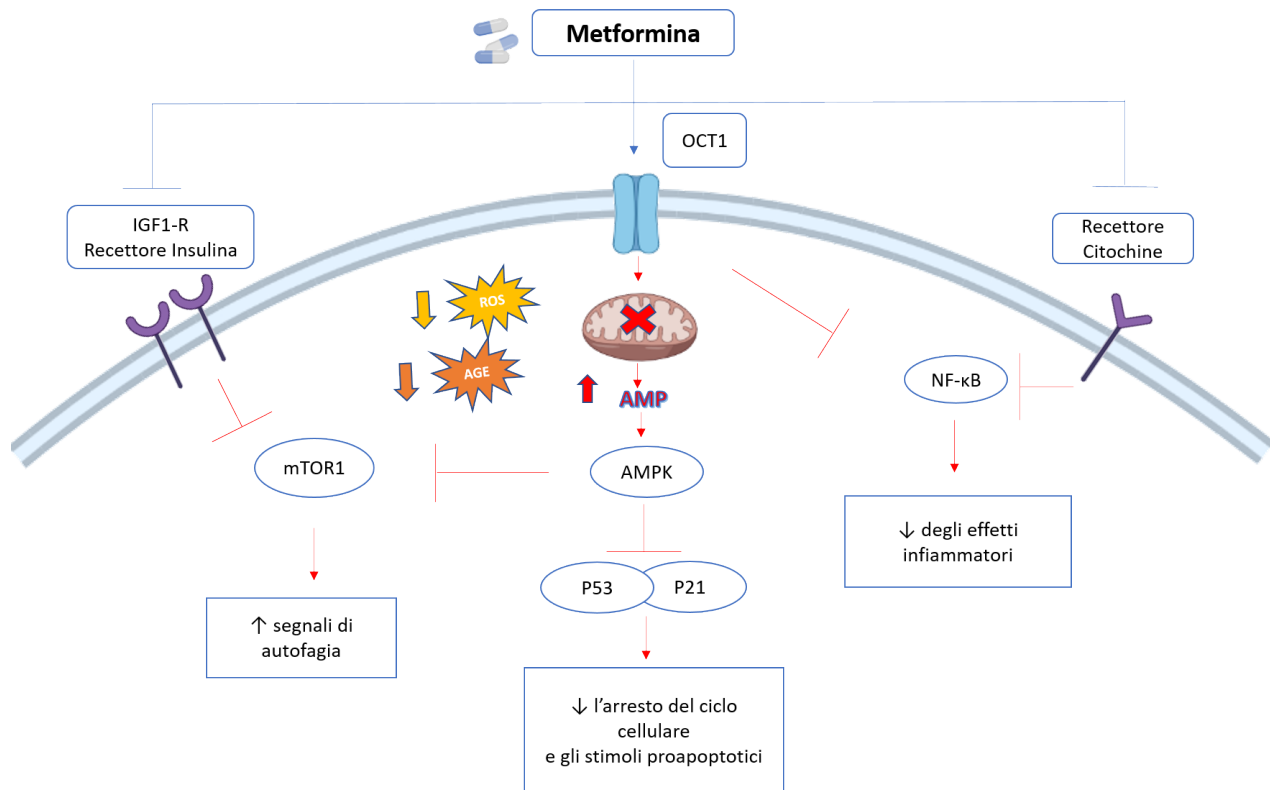
Sono stati inoltre valutati gli effetti della metformina sulle patologie età-correlate mediante trial prospettici quali: GLINT e TAME. Lo studio GLINT (*Glucose Lowering In Non-diabetic hyperglycaemia Trial*) è uno studio randomizzato, multicentrico, in doppio cieco, che ha valutato gli

effetti della metformina a lento rilascio rispetto al placebo nei pazienti anziani obesi con iperglicemia non diabetica e con alto rischio cardiovascolare su un endpoint composito di infarto del miocardio, ictus e morte per malattie cardiovascolari, in circa 5 anni di follow-up. Gli endpoint secondari, invece, si proponevano di andare a valutare l'impatto della metformina sullo stato funzionale dei soggetti arruolati, sull'incidenza del diabete, patologie oncologiche (non melanoma), morte per tumore, morte per qualsiasi causa e su una valutazione costo-efficacia del trattamento. Sono stati quindi arruolati 249 pazienti con età ≥ 40 anni, livelli di HbA_{1c} ≥ 36.6 mmol/mol ma < 47.5 mmol/mol ($\geq 5.5\%$ ma $< 6.5\%$) e rischio cardiovascolare a 10 anni stimato ≥ 20 mediante Framingham Risk Score o QRISK₂ scores. La metformina è stata associata ad un lieve miglioramento dei valori di HbA_{1c}, della velocità di filtrato glomerulare e dei valori medi di colesterolo LDL. Nessun risultato statisticamente significativo è stato riscontrato per gli endpoints prefissati. Tuttavia, sono emerse una serie di raccomandazioni per studi futuri volte a:

- modificare i criteri di inclusione per poter arruolare persone con e senza malattie cardiovascolari preesistenti al fine di aumentare il numero di soggetti reclutabili ed il tasso degli eventi;

Figura 2 ♦ Effetti anti-aging della metformina

Effetti metabolici, anti-ossidativi ed antinfiammatori a livello cellulare. mTOR1, mammalian target of rapamycin 1; AMPK, AMP-activated protein Kinase; NF-κB fnuclear factor-κB kinase.



- utilizzare grandi banche dati per migliorare l'identificazione dei partecipanti;
- eseguire il follow-up da remoto per ridurre i costi e migliorare l'efficienza.

Inoltre, sulla base dei dati emersi da questo studio, è possibile ottenere una riduzione degli eventi cardiovascolari del 2%, arruolando almeno 20.000 soggetti (9). Infine, il trial *Targeting Aging with Metformin* (TAME), ancora in corso, ha coinvolto 14 centri ed arruolato 3000 pazienti con una età compresa tra i 65-79 anni ed ha come obiettivo quello di valutare se la metformina determini un ritardo nello sviluppo o nella progressione di malattie croniche legate all'età e se abbia un impatto sulle capacità funzionali dell'individuo. Inoltre, questo trial migliorerà anche la conoscenza dei biomarcatori dell'invecchiamento attraverso uno studio simultaneo: TAME BIO (10).

CONCLUSIONI

Sebbene un gran numero di studi, condotti su linee cellulari o su modelli animali, abbia evidenziato l'efficacia

della metformina riguardo l'invecchiamento e le patologie età correlate, gli studi condotti sull'uomo non hanno riportato risultati statisticamente significativi. Pertanto, trial futuri potranno meglio chiarire i target intracellulari della metformina e il suo potenziale ruolo come farmaco anti-aging.

BIBLIOGRAFIA

1. Ageing and Health Unit [website]. Geneva: World Health Organization; 2021 (<https://www.who.int/teams/maternal-newborn-child-adolescent-health-and-ageing/ageing-and-health/integrated-care-for-older-people-icope>, ultima consultazione 10 agosto 2021).
2. Hartmut H. Glossmann, Oliver M.D. Lutz. Metformin and Aging: A Review. *Gerontology* 65: 581-590, 2019.
3. Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, et al. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22(2): 75-95, 2021.
4. Kulkarni AS, Gubbi S, Barzilai N. Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell Metab* 2020 Jul 7; 32(1): 15-30. Epub 2020 Apr 24.

5. Osorio FG, Bárcena C, Soria-Valles C, et al. Nuclear lamina defects cause ATM-dependent NF- κ B activation and link accelerated aging to a systemic inflammatory response. *Genes Dev* 26(20): 2311-24, 2012.
6. Yosef R, Pilpel N, Tokarsky-Amiel R et al. Directed elimination of senescent cells by inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat Commun* 6; 7: 11190, 2016.
7. Moiseeva O, Deschênes-Simard X, St-Germain E, et al. Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with IKK/NF- κ B activation. *Aging Cell* 12(3): 489-98, 2013.
8. Kulkarni AS, Brutsaert EF, Anghel V, Zhang K et al. Metformin regulates metabolic and nonmetabolic pathways in skeletal muscle and subcutaneous adipose tissues of older adults. *Aging Cell* 2018.
9. Griffin SJ, Bethel MA, Holman RR, et al. Metformin in non-diabetic hyperglycaemia: the GLINT feasibility RCT. *Health Technol Assess* 22(18): 1-64, 2018.
10. Barzilai N, Crandall JP, Kritchevsky SB, et al. Metformin as a Tool to Target Aging. *Cell Metab* 14; 23(6): 1060-65, 2016.