

**Agata Bauer**

abauer@mitr.p.lodz.pl

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka

## Metformina – cudowny lek?

Metformina jest lekiem powszechnie stosowanym w leczeniu cukrzycy oraz, jak pokazują badania, może również chronić przed nowotworami, chorobami naczyniowo-sercowymi i schorzeniami typowymi dla podeszłego wieku [1]. W poszczególnych schorzeniach występują nieprawidłowości, których konsekwencją są różne objawy chorobowe. Metformina jest cząsteczką, która poprzez swój wpływ na wiele procesów zachodzących na poziomie molekularnym, przywraca prawidłowy przebieg wybranych szlaków metabolicznych. W niniejszym opracowaniu zostaną opisane główne postulowane mechanizmy działania w wybranych schorzeniach.

### Problem cukrzycy

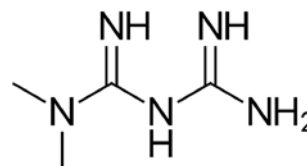
Prawie 300 mln ludzi na świecie choruje na cukrzycę i jeżeli nic się nie zmieni w zakresie działań prewencyjnych i świadomościowych dotyczących zmiany stylu życia, tylko w ciągu jednego pokolenia liczba ta wzrośnie do ok. 500 mln. Szacowana liczba chorych w samej Polsce wynosi 2 mln, co stanowi 5 % polskiego społeczeństwa. Należy także zaznaczyć, że cukrzyca znajduje się w grupie pierwszych 10 przyczyn niepełnosprawności ludzi na całym świecie [1].

Zgodnie z definicją przyjętą pod koniec XX wieku cukrzyca to zespół chorób metabolicznych, w których występuje hiperglikemia wynikająca z nieprawidłowości w wydzielaniu i/lub działaniu insuliny (hormonu wydzielanego przez trzustkę) [1]. Pod względem klinicznym wyróżnia się cukrzycę typu I i II. Cukrzyca typu I stanowi ok. 10 % wszystkich przypadków choroby cukrzycy. Jest ona wywoływana prawie całkowitym zniszczeniem komórek  $\beta$  trzustki w wyniku procesów autoimmunologicznych, w których uczestniczą przeciwciała skierowane przeciwko antygenom wysp Langerhansa znajdujących się w trzustce. Cukrzyca typu II, będąca najczęstszą postacią tej choroby, występuje wskutek nabytej insulinooporności (stan, w którym komórki organizmu stają się niewrażliwe na działanie insuliny) lub zaburzenia funkcji wydzielniczej komórek  $\beta$  wysp trzustkowych. Charakterystyczny jest pełen zakres tych zaburzeń: od dominującej insulinooporności ze względny niedoborem insuliny do dominującego upośledzenia wydzielania insuliny z towarzyszącą insulinoopornością. Z powodu występującej w obydwu typach cukrzycy hiperglikemii niezwykle groźne

dla zdrowia i życia chorego są tzw. powikłania cukrzycowe (retinopatia, nefropatia, neuropatia, zespół stopy cukrzycowej).

### Metformina w leczeniu cukrzycy

Leczenie cukrzycy kojarzy się głównie z codziennym przyjmowaniem zastrzyków insulinowych. Jest to podstawowy i jedyny sposób radzenia sobie z występującym od początku w cukrzycy typu I całkowitym brakiem insuliny. Natomiast w cukrzycy typu II podstawową formą leczenia, obok środków nefarmakologicznych tj. diety, redukcji masy ciała i regularnego wysiłku fizycznego, jest stosowanie dostępnych leków przeciwcukrzycowych [2]. Jednym z takich leków jest metformina (1,1 – dimetylobiguanid), której struktura przedstawiona jest na rysunku 1.



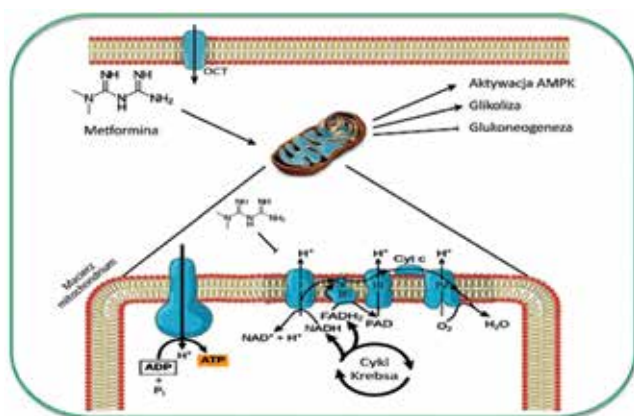
Rys. 1. Struktura metforminy

Metformina weszła w skład leków przeciwcukrzycowych w latach 50. XX wieku i do dzisiaj jest jedyną pochodną biguanidu stosowaną w medycynie. Zgodnie z wynikami badań United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) opublikowanymi w 1998 roku i w oparciu o aktualne wytyczne polskich i światowych towarzystw diabetologicznych metformina jako jedyna, wraz z odpowiednią dietą, powinna być lekiem pierwszego rzutu w cukrzycy typu II [3]. Szacuje się, że obecnie przepisywana jest przynajmniej 120 milionom ludzi na całym świecie [4].

### Mechanizm działania

Metformina jest lekiem o wielokierunkowym działaniu. Jej podstawową rolą w leczeniu cukrzycy jest m.in. zmniejszenie wątrobowej produkcji glukozy oraz zwiększenie wrażliwości tkanek na insulinę [2]. Badania przeprowadzone przez Hundala i współpracowników wykazały, że stężenie glukozy we krwi na czczo u pacjentów, którym podano metforminę zmniejszyło się o 25-30% [5], co niewątpliwie świadczy o jej korzystnym działaniu. Dokładny mechanizm

działania metforminy nie został jeszcze poznany. Ostatnio wykazano, że jednym z molekularnych celów działania metforminy jest kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK, ang. *AMP-activated protein kinase*) [6]. Schemat jednego z postulowanych mechanizmów przedstawiony jest na rysunku 2. Metformina transportowana jest do komórek poprzez tzw. organiczny transporter kationowy 1 (OCT 1, ang. *Organic Cation Transporter 1*), po czym kumulowana jest w mitochondriach. Przypuszcza się, że metformina hamuje poszczególne składniki łańcucha oddechowego, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania syntezy ATP. Jednym z tych składników jest kompleks I (dehydrogenaza NADH/koenzym Q), który w wyniku działania metforminy nie katalizuje reakcji utlenienia NADH do  $\text{NAD}^+$ , przez co nie następuje uwolnienie elektronów potrzebnych w dalszych etapach łańcucha oddechowego. Zahamowany zostaje dalej cykl Krebsa, w którym uczestniczy kompleks II oraz ostatecznie synteza ATP zachodząca w kompleksie V. Opisane procesy prowadzą do wystąpienia stresu energetycznego (oksydacyjnego) komórki i aktywacji enzymu AMPK. Enzym ten jest kluczowy w utrzymaniu równowagi energetycznej komórki oraz całego organizmu, a jego aktywacja powoduje wyłączenie części procesów anabolicznych i uruchomienie procesów katabolicznych [7,8]. Aktywność enzymu AMPK regulowana jest stosunkiem stężeń AMP/ATP i zmniejszenie ilości ATP w komórkach powoduje jego aktywację. AMPK inicjuje wychwyt glukozy przez mięśnie, utlenianie kwasów tłuszczowych oraz hamuje produkcję glukozy, lipogenezę, a także syntezę cholesterolu [9].



Rys. 2. Postulowany mechanizm działania metforminy na poziomie komórkowym [10, zmodyfikowany]

### Metformina jako czynnik chroniący przed chorobami nowotworowymi i naczyniowo-sercowymi

Diabetycy są objęci wysokim ryzykiem zachorowania na większość nowotworów złośliwych, szczególnie raka jelita

grubego, płuc, prostaty czy piersi [11]. Warto zaznaczyć także, że cukrzyca typu II sama w sobie stanowi negatywny czynnik u pacjentów, u których zdiagnozowano chorobę nowotworową. Przeprowadzono szereg badań potwierdzających, że osoby przyjmujące metforminę chorują na raka rzadziej niż ci leczeni innymi lekami przeciwiglikemicznymi. Evans i współpracownicy po przeprowadzeniu obliczeń statystycznych dotyczących 11 876 pacjentów chorych na cukrzycę (lata 1993-2001), wykazali, że prawdopodobieństwo zachorowania na nowotwór u diabetyków zażywających metforminę było niższe (iloraz szans (OR)<sup>1</sup> równy ok. 0,79) niż w przypadku osób nie przyjmujących tego leku (OR równy 0,86) [11]. Oprócz metforminy w leczeniu cukrzycy stosuje się również sulfonilomocznik. Bowker i współpracownicy porównali tzw. współczynnik ryzyka (HR)<sup>2</sup> wystąpienia choroby nowotworowej u diabetyków leczonych metforminą i sulfonilomocznikiem. Dokonali oni oceny wpływu rodzaju leku na ryzyko zachorowania na nowotwory w oparciu o umieralność pacjentów chorych na raka (lata 1991-1996). Wyniki badań również ewidentnie wykazały, że pacjenci z grupy przyjmującej metforminę rzadziej chorowali na nowotwory, wyznaczony współczynnik HR wyniósł 0,8. Dla porównania współczynnik HR zachorowania na nowotwory wśród osób nie leczonych metforminą był równy 2,22 [12].

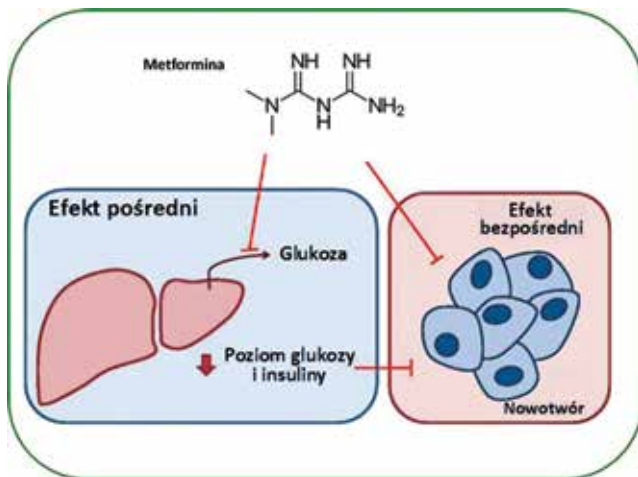
Nadal podlega dyskusji, czy wpływ metforminy w leczeniu nowotworów jest wynikiem ogólnej zmiany metabolizmu organizmu (efekt pośredni) czy też działa ona w sposób bezpośredni na komórki nowotworowe (rys. 3). Prawdopodobnie efekt bezpośredni opiera się na regulowaniu układu AMPK/mTOR [10]. mTOR (ang. *Target of Rapamycin*) jest kinazą serynowo-treoninową, która reguluje metabolizm, wzrost i starzenie organizmów. Odgrywa szczególnie ważną rolę w narządach istotnych z punktu widzenia metabolizmu i regulacji homeostazy, czyli w wątrobie, mięśniach i adipocytach [15]. Rozregulowanie szlaków biochemicznych, w których kluczowym enzymem jest mTOR może prowadzić do wystąpienia tzw. zespołu metabolicznego (jest to stan kliniczny charakteryzujący się współistnieniem powiązanych czynników zwiększających ryzyko rozwoju chorób sercowo-naczyniowych i cukrzycy typu II, jak również nowotworów) [10]. Nadmierna aktywność tego

<sup>1</sup> Iloraz szans (ang. Odds Ratio) – określa stosunek szans wystąpienia danego zdarzenia w danej grupie do wystąpienia tego samego zdarzenia w innej porównywanej grupie [13],

<sup>2</sup> Współczynnik ryzyka (ang. Hazard Ratio) – określa względne prawdopodobieństwo zajścia jakiegoś zdarzenia w badanych grupach w określonym czasie przy założeniu, że zdarzenie to do tej pory nie wystąpiło [14].



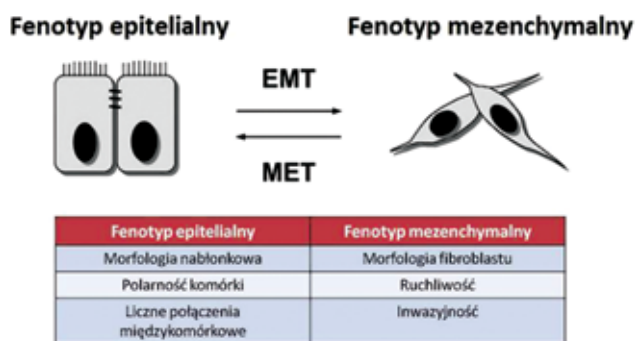
enzymu obserwowana jest w przypadku nowotworów złośliwych, charakteryzujących się opornością na leczenie. Co więcej, dowiedziono, że metformina zapobiega tworzeniu się przerzutów, powoduje zmniejszenie unaczynienia guza oraz poprawia skuteczność leków przeciwnowotworowych.



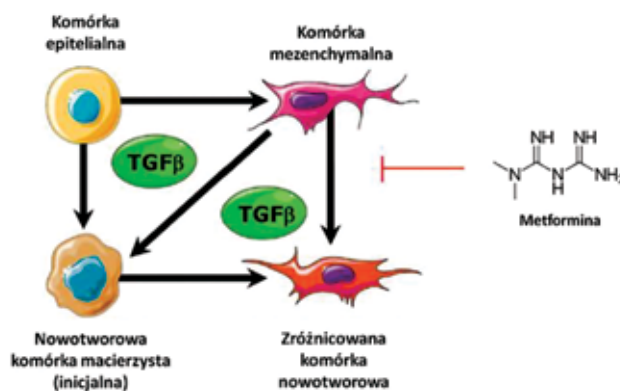
Rys. 3. Pośredni i bezpośredni wpływ działania metforminy na komórki nowotworowe [10, zmodyfikowany]

Warto także wspomnieć o roli metforminy w hamowaniu przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT, ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition*), w którym uczestniczy transformujący czynnik wzrostu  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ , ang. *Transforming Growth Factor  $\beta 1$* ) i którego nieprawidłowy przebieg może prowadzić do wielu schorzeń [16]. EMT jest procesem, który polega na przekształceniu nieruchomych i spolaryzowanych komórek o fenotypie nabłonkowym w komórki o fenotypie mezenchymalnym (rys. 4). Charakterystyczne dla tego procesu są, m.in., utrata polarności, adhezji komórkowej oraz zwiększona zdolność do ruchu. EMT jest procesem fizjologicznym niezbędnym do rozwoju embrionalnego, natomiast jego aktywacja występuje także w niektórych stanach patologicznych. Konsekwencją zaburzenia tego procesu są nieprawidłowości morfologiczno-funkcjonalne komórek, m.in. włóknienie tkanek i organów, co może prowadzić do dysfunkcji narządów oraz wystąpienia chorób naczyniowo-sercowych, immunologicznych i nowotworowych [17]. W obydwu przypadkach mechanizmy na poziomie molekularnym są do siebie zbliżone, prowadzą jednak do różnych efektów. TGF- $\beta 1$  jest cytokiną, która kontroluje proliferację i różnicowanie wielu typów komórek i która jest jednym z głównych regulatorów przejścia EMT. Dowiedziono, że transformacja nowotworowa modyfikuje funkcję TGF- $\beta 1$ , przekształcając go w onkogeną cytokinę, która pełni rolę promotora progresji kancerogenezy i powstawania odległych ognisk przerzutowych. Dokładny mechanizm nie został jeszcze poznany. Xiao i współpracownicy dowiedli,

że metformina bezpośrednio oddziałuje z czynnikiem TGF- $\beta 1$ , co hamuje jego działanie w procesie EMT (rys. 5) [17].

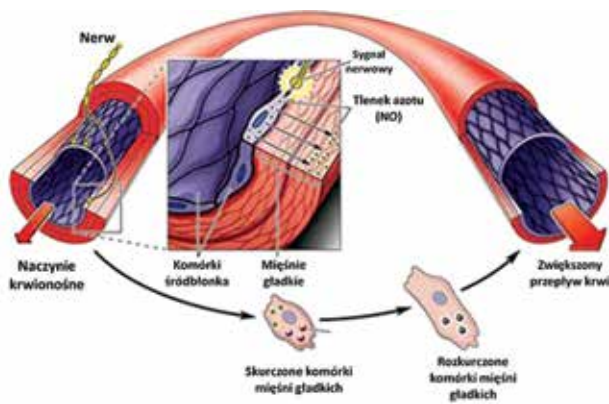


Rys. 4. Schemat przejścia EMT i typowe cechy komórek epitelialnych i mezenchymalnych [16, zmodyfikowany]



Rys. 5. Wpływ metforminy na hamowanie nieprawidłowo zachodzącego procesu EMT [16, zmodyfikowany]

Dodatkowo stwierdzono, że pacjenci przyjmujący metforminę rzadziej cierpią z powodu powikłań związanych z układem krwionośnym [18]. Nieprawidłowa praca śródbłonna naczyniowego u pacjentów chorych na cukrzycę wynika przede wszystkim z hiperglikemii, wzmożonego wytwarzania wolnych kwasów tłuszczowych, chemicznej modyfikacji lipoprotein, nadciśnienia tętniczego, insulinooporności lub zmniejszonej biodostępności tlenu azotu (NO) pochodzącego ze śródbłonna [19]. Zaobserwowano, że insulinooporność stanowi metaboliczną podstawę rozwoju zmian miażdżycowych. Ze względu na zdolność metforminy do aktywacji kinazy AMPK, wpływa ona na utlenianie kwasów tłuszczowych zgromadzonych w tkance śródbłonna i zmniejszenie stresu oksydacyjnego. Metformina bierze również udział w aktywacji płytek krwi, ograniczeniu adhezji leukocytów i migracji do ściany naczynia [20]. Z komórek śródbłonna naczyń wydzielane są liczne substancje, które wpływają m.in. na regulację ciśnienia tętniczego i ukrwienia tkanek, krzepnięcie i fibrylizację oraz przepuszczalność naczyń.



Rys. 6. Schemat działania NO w tętnicy [21, zmodyfikowany]

Jedną z substancji wydzielanych przez śródbłonek jest tlenek azotu (NO), który spełnia zadanie wazodylatacyjne (odpowiada za rozkurcz mięśni gładkich w ścianach naczyń krwionośnych) (rys. 6) [22]. Tlenek azotu jest uwalniany z komórek śródbłonna w wyniku wystąpienia sił ścinających działających na ściany naczyń i powstających pod wpływem przepływu krwi [23]. Poza działaniem wazodylatacyjnym pośredniczy on w innych procesach, w których hamuje ekspresję prozapalnych cytokin, chemokin oraz substancji adhezyjnych leukocytów. Tlenek azotu zmniejsza również proliferację komórek mięśni gładkich ściany naczyniowej oraz adhezję i agregację płytek krwi [24]. Marfella i współpracownicy udowodnili, że metformina zwiększa biodostępność NO. Przeprowadzono badanie, w którym wykazali, że stosowanie metforminy u pacjentów z wcześniej rozpoznaną cukrzycą typu II zwiększa przepływ krwi w tętnicach przedramienia indukowany L-argininą (prekursorem tlenku azotu) oraz hamuje aktywność płytek krwi [25].

### Metformina w walce przeciw wolnym rodnikom

Nie ulega wątpliwości, że metformina wywiera korzystny wpływ na poziom stresu oksydacyjnego m.in. za sprawą hamowania działania kompleksu I w łańcuchu oddechowym

[26]. Mitochondria, w których ma miejsce oddychanie tlenowe, są ważnym źródłem reaktywnych form tlenu (RFT) [27]. Związki te w prawidłowo funkcjonujących komórkach pełnią ważne biologiczne funkcje, m.in. oddziałują na komórki sygnalizujące lub cząsteczki przekaźnikowe, uczestniczą w wielu procesach, takich jak kurczenie się mięśni, wydzielanie hormonów itp. Natomiast o ich bezpośrednim destrukcyjnym działaniu na organizm mówi się wówczas, gdy są wytworzone w nadmiarze, co w konsekwencji prowadzi do dalszych schorzeń i powikłań oraz starzenia się organizmu [28]. Metformina wpływa nie tylko na hamowanie oddychania tlenowego w mitochondriach, ale również powoduje zwiększenie stężenia zredukowanego glutationu (GSH). Zostało to udowodnione przez Ewisa i współpracowników, którzy wykonali badania na myszach, u których śledzili stężenie GSH po podaniu metforminy. Okazało się, że podanie metforminy zwiększyło stężenie GSH [29]. Podobne badania przeprowadzono dla enzymów antyoksydacyjnych, dysmutazy ponadtlenkowej oraz katalazy [30].

### Podsumowanie

W celu pokazania korzystnego działania metforminy zamieszczono tabelę przedstawiającą wyniki badań UKPDS. Badacze wykazali, że przyjmowanie metforminy przez pacjentów chorych na cukrzycę zmniejsza m.in. ryzyko powikłań ze strony układu sercowo-naczyniowego oraz śmiertelność ogólną, w porównaniu z innymi lekami jak insulina czy sulfonilomocznik (tabela 1) [18].

Przedstawione w tabeli właściwości terapeutyczne metforminy uzasadniają fakt, że jest ona uważana za cenną i wszechstronną substancję leczniczą. Metformina jest lekiem tanim, bezpiecznym i skutecznym w leczeniu wielu schorzeń. Warto zaznaczyć, że metformina bierze udział również w innych procesach biochemicznych, których mechanizmy nadal nie są poznane, dlatego warto prowadzić dalsze badania na jej temat.

Tabela 1. Zmniejszenie niekorzystnych zdarzeń klinicznych w następstwie kontroli glikemii w grupie leczonej metforminą w porównaniu z grupą leczoną sulfonilomocznikiem lub insuliną [18].

Zdarzenie kliniczne	Zmiana ryzyka [%]	
	Terapia metforminą	Terapia insuliną/sulfonilomocznikiem
Zgon związany z cukrzycą	-42	-20
Śmiertelność ogólna	-36	-8
Zawał serca	-39	-21
Udar mózgu	-41	+14



## Literatura

- [1] Korzeniowska K., Jabłeczka A., 2008, *Cukrzyca (Część I)*, Farmacja Współczesna, 2, 231-235.
- [2] Grzybowska M., Bober J., Olszewska M., 2011, *Metformina – mechanizmy działania i zastosowanie w terapii cukrzycy typu 2*, Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej, 65, 277-285.
- [3] Hanisch U.K., Kettenmann H., 2007, *Microglia: active sensor and versatile effectors cells in the normal and pathologic brain*, Nature Neuroscience, 10, 1387-1394.
- [4] Pryor R., Cabreiro F., 2015, *Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets*, Biochemical Journal, 471, 307-322.
- [5] Hundal R.S., Krssak M., Dufour S., Laurent D., Lebon V., Chandramouli V., Inzucchi S.E., Schumann W.C., Petersen K.F., Landau B.R., Shulman G.I., 2000, *Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes*, Diabetes, 49(12), 2063-2069.
- [6] Viollet B., Guigas B., Garcia N.S., Leclerc J., Foretz M., Andreelli F., 2012, *Cellular and molecular mechanism of metformin: an overview*, Clinical Science, 122, 253-270.
- [7] Hardie D.G., Carling D., Carlson M., 1998, *The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell* ? Annual Review of Biochemistry, 67, 821-855.
- [8] Kemp B.E., Mitchell K.I., Stapleton D., Michell B.J., Chen Z.P., 1999, *Dealing with energy demand: the AMP-activated protein kinase*, Trends in Biochemical Science, 24, 22-25.
- [9] Musi N., Hirshman M., Nygren J., Svanfeldt M., Bavenholm P., Rooyackers O., Zhou G., Williamson J.M., Ljunqvist O., Efendic S., Moller D.E., Thorell A., Goodyear L.J., 2002, *Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle subjects with type 2 diabetes*, Diabetes, 51(7), 2074-2081.
- [10] Luengo A., Sullivan L.B., Heiden M.G., 2014, *Understanding the complex-ty of metformin action limiting mitochondria respiration to improve cancer therapy*, BMC Biology, 12:82.
- [11] Evans J.M., Donnelly L.A., Emslie-Smith A., Alessi D.R., Morris A.D., 2005, *Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients*, British Medical Journal, 330, 1304-1305.
- [12] Bowker S.L., Majumdar S.R., Veugelers P., Johnson J.A., 2006, *Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin*, Diabetes Care, 29, 2, 254-258.
- [13] [http://www.naukowiec.org/wiedza/statystyka/iloraz-szans-odds-ratio--szansa\\_456.html](http://www.naukowiec.org/wiedza/statystyka/iloraz-szans-odds-ratio--szansa_456.html) (data dostępu 27.02.2017).
- [14] <http://ebm.org.pl/show.php?aid=15739> (data dostępu 27.02.2017).
- [15] Laplante M., Sabatini D.M., 2012, *mTOR signaling in growth control and disease*, Cell, 149, 274-293.
- [16] Cufi S., Vazquez-Martin A., Oliveras-Ferraro C., Martin-Castillo B., Menendez J.J., Menendez A., 2010, *Metformin against TGFβ-induced epithelial-to-mesenchymal transition (EMT): from cancer stem cells to aging-associated fibrosis*, Cell Cycle, 9,22, 4461-4468.
- [17] Xiao H., Zhang J., Xu Z., Feng Y., Zhang M., Liu J., Chen R., Shen J., Lu Z., Fang X., Li J., Zhang Y., 2016, *Metformin in a novel suppressor for transforming growth factor (TGF)-β1*, Scientific Reports, 6, 1-9.
- [18] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group, 1998, *Effects of intensive blood glucose control with metformin on complication in overweight patients with type 2 diabetes* (UKPDS 34), Lancet, 352, 854-865.
- [19] Roffi M., Brandle M., Robbins M.A., Mukherjee D., 2007, *Current perspectives on coronary revascularization in the diabetic patient*, Indian Heart Journal, 59, 124-136.
- [20] Beckman J.A., Creager M.A., Libby P., 2002, *Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management*, Journal of the American Medical Association, 287, 2570-2581.
- [21] <https://www.studyblue.com/notes/note/n/medical-term-ch-10/deck/6056740> (data dostępu 25.02.2017).
- [22] Radomski M.W., Salas E., 1995, *Nitric oxide – biological mediator, modular and factor of injury: its role in pathogenesis of atherosclerosis*, Atherosclerosis, 118, S69-S80.
- [23] Nadar S., Blann A.D., Lip G.Y.H., 2004, *Endothelial dysfunction: methods of assessment and application to hypertension*, Current Pharmaceutical Design, 10, 3591-3605.
- [24] Obońska K., Grąbczewska Z., Fisz J., 2011, *Ocena czynności śródbłonna naczyniowego – gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy?* Folia Cardiologica Excerpta, 6, 667-671.
- [25] Marfella F., Acampora R., Verrazzo G., Ziccardi P., de Rosa N., Giunta R., Giugliano D., 1996, *Metformin improves hemodynamic and rheological responses to L-arginine in NIDDM patients*, Diabetes Care, 19(9), 934-939.
- [26] Algire C., Moiseeva O., Deschenes-Simard X., Amrein L., Petrucci L., Birman E., Viollet B., Ferbeyre G., Pollak M.N., 2012, *Metformin reduces endogenous reactive oxygen species and associated DNA damage*, Cancer Prevention Research, 5(4), 536-543.
- [27] Murphy M.P., 2009, *How mitochondria produce reactive oxygen species*, Biochemical Journal, 417, 1-13.
- [28] Czajka A., 2006, *Wolne rodniki tlenowe i mechanizmy obrony organizmu*, Nowiny Lekarskie, 75, 6, 582-586.
- [29] Ewis S.A., Abdel-Rahman M.S., 1995, *Effect of metformin on glutathione and magnesium in normal and streptozotocin-induced diabetic rats*, Journal of Applied Toxicology, 15(5), 387-390.
- [30] Dai J., Liu M., Lin L., Deng K., Jing Y., Jia M., Wan J., Zhang L., 2014, *Involvement of catalase in the protective benefits of metformin in mice with oxidative liver injury*, Chemico-Biological Interactions, 216, 34-42.