



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Metformina e Cancro: qual a relação?

Isabel Maria Dias Martins de Freitas

Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em

Medicina

(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Prof. Doutor Manuel Carlos Loureiro de Lemos

Covilhã, Maio de 2015

Dedicatória

Esta dissertação é dedicada aos meus pais e à minha irmã, pelo amor, pela dedicação, pelo apoio, pela educação e por desde cedo me ensinarem que a persistência é o caminho para o sucesso.

Agradecimentos

A execução desta dissertação ao longo destes meses contou sempre com contributos de incentivo por parte de várias pessoas, às quais quero deixar um sincero agradecimento.

Um especial agradecimento ao meu orientador, Professor Doutor Manuel Carlos Loureiro de Lemos, pelo incentivo, conselhos e disponibilidade demonstrados ao longo da elaboração deste trabalho.

À minha família, pelo apoio incondicional e por serem o pilar da minha vida pois sem eles nada disto teria sido possível.

Aos verdadeiros amigos por estarem sempre presentes, pela cumplicidade e pela amizade demonstrada ao longo dos anos.

Aos meus colegas da faculdade pelo companheirismo.

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para o meu sucesso ao longo do meu percurso académico.

Resumo

Introdução: Milhões de pessoas são diagnosticadas com cancro, uma das principais causas de morte em todo o mundo e com grande impacto na qualidade de vida. A investigação constante nesta área é inquestionavelmente necessária de forma a descobrir métodos de prevenir, detetar e tratar esta doença.

O papel da metformina, o antidiabético oral mais prescrito em todo o mundo no tratamento da Diabetes Mellitus tipo 2 tem vindo a ser estudado por vários cientistas na prevenção e/ou cura de vários tipos de cancro. O objetivo deste trabalho foi analisar estudos que demonstrem evidência para uma relação entre a metformina e a prevenção/cura dos cancros mais incidentes em Portugal.

Métodos: Foi realizada uma pesquisa, tendo como principal base de dados a “PubMed”, tendo sido excluídos todos os artigos em outros idiomas que não o Inglês ou Português e artigos sem relevância para o tema. A pesquisa foi completada por consulta de outras fontes.

Resultados: A maioria dos estudos demonstrou um papel benéfico da metformina na prevenção/cura de múltiplas patologias oncológicas. Um número reduzido dos estudos não apresentou qualquer correlação entre este antidiabético oral e o cancro.

Discussão/Conclusão: Após a análise dos vários estudos e embora nem todos sejam consensuais, concluiu-se que parece existir uma associação entre o uso de metformina e o cancro, fazendo deste, um potencial medicamento de futuro na área oncológica. Contudo algumas lacunas identificadas em estudos “*in vitro*” necessitam ser ultrapassadas de forma a clarificar o papel da metformina no cancro.

Palavras-chave:

metformina, cancro

Abstract

Introduction: Millions of people are diagnosed with cancer, a major cause of death worldwide and with an enormous impact in life's quality. A constant research in this field is unquestionably necessary to find new ways of prevention, detection and treatment for this disease. The role of metformin, the most prescribed oral antidiabetic drug among the world for the treatment of type 2 Diabetes Mellitus has been studied by many scientists for the prevention and/or cure of many cancers. The aim of this work was to analyze studies for evidence of a possible relation between metformin and prevention and/or cure for the most common cancers in Portugal.

Methods: A research having "Pubmed" as the major database was accomplished. Articles in other languages than Portuguese or English and without relevance were excluded. This research was completed using other sources.

Results: Most of the studies demonstrated a beneficial role of metformin in the prevention and/or cure in multiple cancers. A small number of studies showed no correlation between this oral antidiabetic drug and cancer.

Discussion/Conclusion: After the analysis of several studies and although not all showed the same result, it was concluded that there is an association between the use of metformin and cancer, making this a future potential drug in oncology. However some gaps identified in "*in vitro*" studies need to be overcome in order to clarify the role of metformin in cancer.

Keywords:

metformin, cancer

Índice

| | |
|--|------|
| Dedicatória..... | ii |
| Agradecimentos | iii |
| Resumo | iv |
| Abstract..... | v |
| Índice | vi |
| Lista de Tabelas..... | viii |
| Lista de Figuras..... | ix |
| Lista de Abreviaturas..... | x |
| 1. Introdução | 1 |
| 1.1. Enquadramento do tema..... | 1 |
| 1.2. Metformina | 1 |
| 1.2.1. Introdução | 1 |
| 1.2.2. Efeito anti-hiperglicemiante da Metformina..... | 3 |
| 1.3.Cancro | 4 |
| 1.3.1. Definição e fisiopatologia | 4 |
| 1.3.2. Etiologia do cancro | 4 |
| 1.3.3. Epidemiologia do cancro | 5 |
| 1.3.4. Tratamento do Cancro..... | 6 |
| 2. Métodos | 7 |
| 3. Resultados | 8 |
| 3.1.Cancro da Mama..... | 8 |
| 3.1.1. Metformina isolada..... | 8 |
| 3.1.2. Metformina e Quimioterapia (QT) | 12 |
| 3.1.3. Metformina e Radioterapia (RT) | 12 |
| 3.1.4. Metformina e Cirurgia | 13 |
| 3.2. Cancro da Próstata..... | 14 |
| 3.2.1. Metformina isolada..... | 14 |
| 3.2.2. Metformina e QT..... | 18 |
| 3.2.3. Metformina e RT | 18 |

| | |
|--|----|
| 3.2.4. Metformina e Cirurgia | 18 |
| 3.2.5. Metformina e terapia de privação de androgénios | 19 |
| 3.3. Cancro do Pulmão | 19 |
| 3.3.1. Metformina isolada | 19 |
| 3.3.2. Metformina e QT | 22 |
| 3.3.3. Metformina e RT | 22 |
| 3.4. Metformina e Cancro Colo-Retal | 22 |
| 3.4.1. Metformina isolada | 22 |
| 3.4.2. Metformina e QT | 25 |
| 3.5. Metformina e Cancro do Estômago..... | 25 |
| 3.5.1. Metformina isolada | 25 |
| 3.5.2. Metformina e Cirurgia | 27 |
| 3.6. Metformina e outros tipos de Cancro..... | 27 |
| 4. Discussão | 28 |
| 4.1. Mecanismo de ação da Metformina | 28 |
| 4.1.1. Activação do AMPK e os seus efeitos metabólicos | 28 |
| 4.1.1.1. Efeito Warburg..... | 28 |
| 4.1.1.2. AMPK e m-TOR | 30 |
| 4.1.1.3. Ativação do LKB1/AMPK pela Metformina | 32 |
| 4.1.2. Inibição dos processos inflamatórios pela Metformina..... | 34 |
| 4.1.3. Metformina e células estaminais cancerígenas..... | 35 |
| 4.1.4. Efeito anti-angiogénico da Metformina | 37 |
| 4.2. Limitações encontradas nos estudos..... | 37 |
| 5. Conclusão | 38 |
| Bibliografia..... | 39 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro da mama | 9 |
| Tabela 2- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro da próstata | 15 |
| Tabela 3- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro do pulmão | 20 |
| Tabela 4- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o CCR..... | 23 |
| Tabela 5- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro do estômago..... | 26 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Estrutura molecular da metformina | 2 |
| Figura 2: Incidência e mortes por cancro em Portugal..... | 6 |
| Figura 3: Comparação entre a fosforilação oxidativa e o efeito Warburg | 29 |
| Figura 4: Ação do stress oxidativo no balanço ATP:ADP | 30 |
| Figura 5: Ação da AMPK em diferentes órgãos que comprometem o efeito Warburg | 31 |
| Figura 6: Ação do stress oxidativo sobre o sistema m-TOR..... | 32 |
| Figura 7: Ação da Metformina na via AMPK | 33 |
| Figura 8: Ação da Metformina em pacientes com LKB1 ou sem LKB1 | 34 |
| Figura 9: Combinação da metformina com a Quimioterapia convencional (“dandelion hypothesis”) | 36 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------|--|
| ADK | Adenilato quinase |
| ADO | Antidiabético oral |
| ADP | Adenosina difosfato |
| AMP | Monofosfato de adenosina |
| AMPK | Proteína quinase ativada por AMP |
| ATP | Adenosina trifosfato |
| CCR | Cancro colo-retal |
| CM | Cancro da Mama |
| CO ₂ | Dióxido de Carbono |
| DM | Diabetes Mellitus |
| DNA | Ácido desoxirribonucléico |
| ER | Recetor de estrogénios |
| HER2 | Recetor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano |
| Ki67 | Antigénio Ki67 |
| LKB1 | Proteína tipo quinase codificada nos humanos pelo gene STK11 |
| mg/dL | Miligramas por decilitro |
| mL/min | Militros por minuto |
| mM/l | Milimoles por litro |
| m-TOR | Mamalian target of Rapamycin pathway |
| NAD ⁺ | Dinucleótido de adenosina |
| NFκB | Fator nuclear kappa B |
| NSCLC | Cancro do pulmão de células não pequenas |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| O ₂ | Oxigénio |
| PGR | Recetor de progesterona |
| PSA | Antigénio prostático específico |
| QT | Quimioterapia |
| ROS | Espécies reativas de oxigénio |
| RT | Radioterapia |
| TGF | Taxa de filtração glomerular |
| THR172 | Treonina 172 |
| TNM | Tumor primário, gânglios linfáticos e metástases |
| TPA | Terapia de Privação de Androgénios |
| TZD | Tiazolidinedionas |
| VEGF | Fator de crescimento endotelial vascular |
| Vs | Versus |

1. Introdução

1.1. Enquadramento do tema

Atualmente o cancro é uma das patologias mais preocupantes em todo o mundo sendo a segunda principal causa de morte nos Estados Unidos da América, onde somente as doenças cardiovasculares ultrapassam essa taxa (1). Em 2012 estimou-se 14.1 milhões de novos casos em todo o mundo e 8.2 milhões de mortes resultantes do cancro (2).

A Associação Americana de Diabetes e a Sociedade Americana de Oncologia relatam evidências epidemiológicas que sugerem uma forte ligação entre a incidência de Cancro e Diabetes Mellitus (DM) (3). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) a incidência de ambas as patologias têm vindo a aumentar (4).

Mais preocupante que a taxa de mortalidade é o sofrimento emocional e físico provocados pelas neoplasias, sendo que a única esperança para o controlo do cancro está em conhecer mais sobre a sua patogenia, pois apenas desta forma novas terapias poderão ser desenvolvidas (1).

Sendo o cancro e a DM patologias muito frequentes, afetando milhões de pessoas em todo o mundo, achei pertinente realizar uma monografia sobre este tema.

O objetivo principal deste trabalho foi recolher e analisar dados de estudos epidemiológicos e experimentais que relacionem e determinem o papel da metformina na prevenção e/ou tratamento das neoplasias mais incidentes em Portugal, tanto em modelos animais como em humanos. A confirmação desta hipótese seria uma mais-valia para a prática clínica, abrindo caminhos para novas abordagens preventivas e terapêuticas.

1.2. Metformina

1.2.1. Introdução

A metformina (hidroclorato de 1,1-dimetilbiguanida) é composta por dois grupos de guanidinas que se ligam após a perda da amónia (figura 1) (5,6). Apesar da sua antiguidade é o antidiabético oral (ADO) de primeira linha mais prescrito em todo o mundo no tratamento da DM tipo 2 em associação com modificações do estilo de vida (dieta, exercício e controlo do peso), seguindo as guidelines propostas pela Associação Americana de Diabetes e a Associação Europeia de Estudo da Diabetes (7).

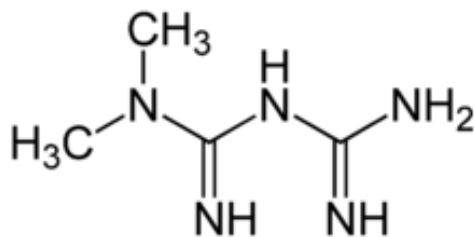


Figura 1: Estrutura molecular da metformina

Embora ainda permaneça obscuro qual o mecanismo de ação deste medicamento, sabe-se que para além dos seus efeitos anti-hiperglicemiantes, este ADO pode ter potenciais efeitos terapêuticos noutras patologias tais como, doenças cardiovasculares, doença do ovário poliquístico e cancro, como medicamento preventivo e/ou curativo (7).

O efeito anti-hiperglicemiante foi observado em quase todos os componentes contendo o grupo guanidina. Inicialmente, em 1918 a atenção estava focada para o grupo guanidina isoladamente contudo, devido aos efeitos tóxicos, o seu uso clínico tornou-se inviável (6). Em 1950 as atenções centraram-se nas biguanidas sintéticas: a metformina, a fenformina e a buformina (5). No entanto face ao risco de acidose láctica potencialmente fatal associado ao uso da fenformina e buformina, estas duas biguanidas foram descontinuadas em 1970 (6) tornando a metformina a única biguanida com perfil de segurança alargado e utilizada clinicamente para o tratamento da DM tipo 2 (5).

A metformina tem uma semivida de 1,5 a 3 horas, não se liga a proteínas plasmáticas e não é metabolizada em humanos, sendo excretada inalterada pelos rins. O uso da metformina está contra-indicada em algumas patologias nomeadamente na insuficiência renal (TGF<50 mL/min), uma vez que a falha da excreção deste fármaco pode produzir níveis sanguíneos e teciduais elevados de metformina que estimulariam a produção de ácido láctico, na insuficiência hepática ou em pacientes consumidores de etanol, pois sendo a metformina associada à produção de ácido láctico, os hepatócitos defeituosos não terão capacidade para remover o lactato, e por fim os pacientes com insuficiência cardiorrespiratória não devem receber este fármaco porque são doentes com propensão para hipóxia, agravando a produção de ácido láctico associada à terapêutica com metformina (8).

Os efeitos secundários mais comuns após o uso da metformina são a diarreia e o desconforto abdominal, efeitos que advêm do facto de que quando a metformina é administrada oralmente, as células da mucosa intestinal recebem concentrações deste fármaco cerca de 100 a 1000 vezes superiores à concentração encontrada no plasma (6).

1.2.2. Efeito anti-hiperglicemiante da Metformina

Por ser considerado um medicamento anti-hiperglicemiante e um sensibilizador de insulina, diminuindo os níveis de insulina plasmática em jejum e a resistência tecidual à insulina, a metformina é um dos medicamentos de escolha para o tratamento da DM tipo 2 (7).

Pensa-se que o principal mecanismo responsável pelo primeiro efeito mencionado é a redução da gliconeogénese hepática (5,7). Em 2000 foi descoberto que esta biguanida atua na cadeia transportadora de eletrões (cadeia respiratória), inibindo o complexo respiratório I e consequentemente inibindo a formação de ATP (adenosina trifosfato) necessária para a gliconeogénese hepática, um processo anabólico consumidor de ATP e aumentando os níveis de monofosfato de adenosina (AMP) plasmáticos (9). A magnitude da inibição da gliconeogénese correlaciona-se com a extensão da inibição da cadeia respiratória.

Este efeito traduz uma justificação plausível para a possibilidade de acidose láctica após a sua administração, uma vez que é previsível a acumulação de lactato (resultante da glicólise) após inibição da fosforilação oxidativa (5). No entanto a metformina comparativamente com as outras biguanidas é menos suscetível a essa complicação pois a sua ação é autolimitada atuando apenas nas mitocôndrias ativas.

Para melhor compreender qual o mecanismo de ação subjacente da metformina, Zhou et al. (9) em 2001 realizaram um estudo “in vivo” utilizando hepatócitos de ratos revelando que a metformina ativa uma enzima, a proteína quinase ativada por AMP (AMPK), sendo esta ativação responsável pela redução da gliconeogénese hepática.

A AMPK é uma enzima central no controlo do metabolismo da glicose e dos lípidos em todas as células eucarióticas em resposta a alterações nutricionais. Esta enzima tenta assegurar um balanço energético necessário para a homeostasia do organismo e tem um papel crucial no crescimento, metabolismo e polaridade das células funcionando como um “checkpoint” da divisão celular com capacidade de promover a paragem do ciclo celular na fase G2, quando há uma diminuição de ATP. A AMPK é composta por três subunidades: α , β e γ , cada uma delas com um papel determinante na estabilidade e atividade da proteína (11,12). Para a sua ativação é necessário haver uma modificação conformacional da subunidade γ para que o centro ativo, a Treonina 172 (Thr172) da subunidade α fique exposta. Essa modificação resulta da ligação do AMP à subunidade γ e por fim, o LKB1 (proteína tipo quinase codificada nos humanos pelo gene STK11), um gene supressor tumoral codifica uma quinase de Treonina capaz de fosforilar e ativar diretamente a AMPK (13).

A ativação da AMPK é responsável pela ativação de uma cascata de processos catabólicos que produzem ATP e pela inibição de processos anabólicos que consomem ATP incluindo a gliconeogénese hepática, resultando na diminuição dos níveis de glicose no plasma (7,13).

Atualmente vários estudos sugerem um papel importante da metformina na prevenção e cura de uma grande variedade de cancros pela ativação dessa mesma enzima.

1.3.Cancro

1.3.1. Definição e fisiopatologia

Neoplasia significa “crescimento de novo”. Uma neoplasia é uma massa anormal de tecido, cujo crescimento é descontrolado e ultrapassa o do tecido normal, persistindo da mesma maneira excessiva após ausência dos estímulos que provocam a sua alteração. Na terminologia médica comum, uma neoplasia é muitas vezes designado de tumor. Os tumores são classificados em malignos e benignos. Um tumor é benigno quando as suas características micro e macroscópicas são consideradas inofensivas, sugerindo que permanecerá localizado, não poderá disseminar-se para outros locais e será acessível à remoção cirúrgica. Nestas circunstâncias o paciente geralmente sobrevive. Os tumores malignos são coletivamente designados como cancros, estes tumores podem invadir e destruir estruturas adjacentes e disseminar-se para locais distantes através de um processo designado de metastização, havendo um risco maior de morte. Porém, alguns tumores benignos são capazes de se tornarem malignos (1).

1.3.2. Etiologia do cancro

O cancro é uma doença genética que resulta da acumulação de alterações anómalas nas células. Essas alterações são responsáveis pela sua proliferação e podem ser adquiridas pela ação de agentes ambientais como substâncias químicas, radiação ou vírus (mutações somáticas) ou herdadas na linha germinativa e presentes em todas as células ao nascimento (mutações hereditárias).

Essas células adquirem certas características que as tornam potencialmente malignas tais como: a proliferação independente dos fatores externos, tornam-se insensíveis aos inibidores da proliferação e aos “check points” do ciclo celular, adquirem resistência à apoptose, têm capacidade de recrutar novos vasos sanguíneos (angiogénese) e adquirem habilidade para invadir os tecidos adjacentes e metastizarem (14).

Estima-se cerca de nove principais fatores de risco passíveis de modificação responsáveis por mais de 33% dos cancros em todo o Mundo, incluindo: o tabagismo (associado a 15% dos cancros mundiais), o álcool, a obesidade (associado a cerca de 20% das mortes por cancro), o baixo consumo de vegetais e fruta, a inatividade física (associado a um maior risco de cancro nos adultos), as infeções (associados a 16% dos cancros), a poluição ambiental, o fumo em ambientes fechados produzido por combustíveis caseiros e as injeções contaminadas com vírus (14).

1.3.3. Epidemiologia do cancro

O cancro nos Estados Unidos da América afeta cerca de 10% da população, apresentando um risco de 44% nos homens enquanto que as mulheres têm um risco de 38% para o desenvolvimento do cancro durante toda a vida. O principal factor de risco é atribuído à idade avançada, uma vez que 66% de todos os casos de cancro observados ocorrem em pessoas com idades > 65 anos. Esta patologia é a segunda principal causa de morte, sendo o cancro do pulmão o maior causador dessas mortes em todo o mundo e o cancro da mama o segundo (1,15). Nos últimos anos têm-se verificado um progressivo aumento da incidência e mortalidade do cancro (16). Segundo Pimentel (17), em 25 estados membros da União Europeia, no ano 2000, foram confirmados 1.122.000 mortos por cancro, sendo esperado para 2015 um aumento de 283 mil novos diagnósticos e em 2020 aproximadamente 20 milhões de novos casos diagnosticados.

Portugal faz parte do grupo de países que nos últimos anos sofreu grandes alterações ao nível do estilo de vida, o que acabou por fazer emergir a adoção de alguns hábitos mais favoráveis ao desenvolvimento de cancro (18), tendo sido registado anualmente entre 40 a 45 mil novos diagnósticos, com uma pequena prevalência no sexo masculino (17).

A incidência dos tipos de cancro em Portugal varia de acordo com o sexo, sendo os mais comuns no homem, o do colo-rectal, o da próstata e o do estômago, enquanto, na mulher são o do colo rectal, o da mama, o do pulmão e do estômago, por ordem de maior incidência para a menor. Também o número de mortes associadas ao cancro é variável de acordo com o sexo, nos homens os cancros associados a um maior número de mortes por ordem decrescente são, o do colo-rectal, o do pulmão, o do estômago e o da próstata enquanto na mulher são, o do colo rectal, o do pulmão, o do estômago e o da mama (figura 2) (16).

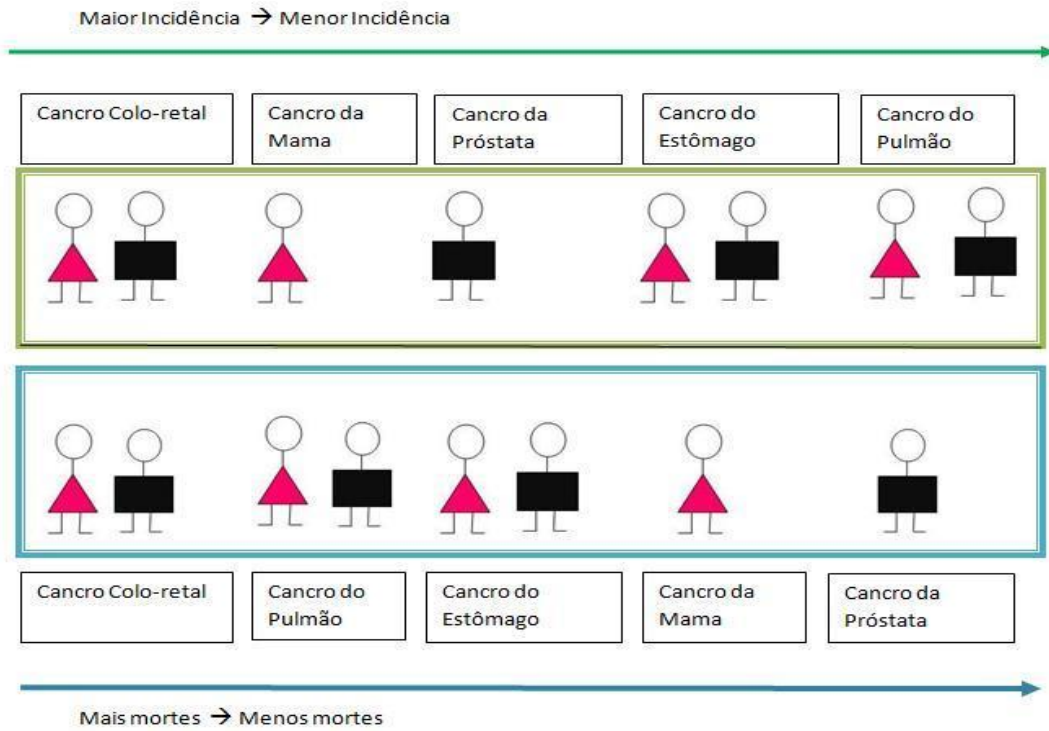


Figura 2: Incidência e mortes por cancro em Portugal

1.3.4. Tratamento do Cancro

O plano de tratamento depende essencialmente do estadió da doença e do tipo de cancro, sendo o principal objetivo erradicar essa patologia e caso essa meta primordial não seja possível o objetivo passa a ser paliativo, de forma a assegurar a melhoria dos sintomas e a preservação da qualidade de vida do paciente.

Atualmente existem quatro tipos de tratamento, a cirurgia, a radioterapia, a quimioterapia e a terapia biológica. Estas modalidades terapêuticas podem ser aplicadas isoladamente ou em conjunto de forma a obter o máximo benefício para o doente (15).

2. Métodos

Para a elaboração desta monografia, foi realizada uma pesquisa bibliográfica através de vários motores de busca, entre os quais destaco a Pubmed: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), utilizando como temas de pesquisa “cancer” e “metformin” tendo sido excluídos todos os artigos em outros idiomas que não o Inglês ou Português e artigos sem relevância para o tema.

A pesquisa foi completada por consulta de outras fontes tais como “American Cancer Society”, “Cancer Research UK” e livros referentes às áreas de interesse.

3. Resultados

Vários estudos indicam que o uso da metformina tendo em conta a duração do tratamento e a dose cumulativa está associada não só à redução da incidência do cancro em pacientes com DM, mas proporciona também um melhor prognóstico nos pacientes oncológicos com ou sem DM (11,19,20).

Apesar de inúmeros estudos já terem sido realizados nesta área, existem mais de 100 a decorrer e outros em iniciação, sendo que a grande maioria tenta compreender o papel da metformina no tratamento do cancro, enquanto outros avaliam a eficácia desta biguanida na prevenção do cancro (21).

3.1. Cancro da Mama

No decurso da minha pesquisa bibliográfica foram encontrados vários artigos relativos ao papel da metformina no cancro da mama como terapia preventiva e/ou curativa, tratamento isolado ou adjuvante/neoadjuvante. De todos os artigos pesquisados destaco 11 que considero pertinentes e cujo resumo se apresenta na tabela 1.

3.1.1. Metformina isolada

Grande parte dos estudos defende o papel importante da metformina na diminuição do risco de desenvolvimento do cancro da mama, na taxa de sobrevivência, taxa de mortalidade e nos estadios tumorais.

Dois estudos recentes compararam pacientes com DM tipo 2 e neoplasia da mama tratados com diferentes ADOs (20,24). Aksoy *et al.* (20) analisaram 784 mulheres com uma idade média de 57 anos em que 148 tomavam metformina e as restantes 636 eram tratadas com outros ADOs, enquanto Tseng *et al.* (24), avaliaram 476.282 mulheres Taiwanesas, entre as quais 191195 tomavam metformina e 285087 eram medicadas com outros ADOs. Os resultados foram evidentes demonstrando que as primeiras de cada estudo apresentaram um risco menor para desenvolver cancro da mama. Aksoy *et al.* (20), também concluíram que a média de remissão tumoral estimada nessas pacientes é superior às que são tratadas com outros ADOs (118 meses vs 69 meses), respetivamente (20).

Peeters *et al.* (22), ao avaliarem 1058 mulheres com DM tipo 2 e neoplasia da mama constataram que a metformina esteve associada a uma taxa de mortalidade diminuída quando administrada durante um longo período de tempo. No entanto, o seu uso temporário não demonstrou diminuição significativa na taxa de mortalidade associada ao cancro.

Tabela 1- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro da mama

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|---------------------------------------|----------------------|-------------------|--|---|--------------------|--|
| Aksoy <i>et al.</i> 2013 (20) | Coorte Retrospectivo | 784 mulheres | Analisar as características patológicas e clínicas de pacientes com metformina quando foram diagnosticadas com Cancro da mama (CM) e comparar com as restantes que não fizeram metformina entre 2000-2012. | Idade média : 57 anos TNM : semelhante entre os dois grupos Todos com DM tipo 2 | Metformina isolada | Pacientes com metformina apresentaram diminuição da incidência de tumores em grau avançado (T3). O período de remissão da doença estimada nos pacientes com metformina foi de 118 meses vs 69 meses nos que não tomaram metformina. |
| Peeters <i>et al.</i> 2013 (22) | Coorte Retrospectivo | 1058 mulheres | Avaliar a influência da metformina na taxa de mortalidade de mulheres diabéticas e com neoplasia da mama. | DM tipo 2 | Metformina isolada | O uso prolongado de metformina associou-se à diminuição da taxa de mortalidade, enquanto que o uso temporário não demonstrou redução significativa. |
| Besic <i>et al.</i> 2014 (23) | Coorte Retrospectivo | 253 mulheres | Avaliar se os pacientes com cancro e DM tipo 2 tratados com metformina exibem estadios menos avançados de cancro da mama. | CM invasivo + DM 128- Com metformina 125- Sem metformina | Metformina isolada | A administração de metformina relacionou-se com uma menor incidência de tumores em grau avançado (T3 e T4) comparativamente com os que tomaram outros ADO's (16% vs 26% respetivamente). |
| Tseng <i>et al.</i> 2014 (24) | Coorte Retrospectivo | 476.282 mulheres | Avaliar a incidência de CM em pacientes diagnosticados com DM entre 1998 e 2009 comparando os que tomavam metformina com os que não tomavam. | População taiwanesa 191195- Com metformina | Metformina isolada | Durante o follow-up cerca de 1,26% dos diabéticos que tomaram metformina desenvolveram CM comparativamente com uma incidência de 2,10% nos que não tomaram metformina |

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|--|--|-------------------|--|------------------------------|--|---|
| Hirsh <i>et al.</i> 2009 (25) | Pré-clínico “in vivo” (em ratos) | _____ | Avaliar a eficácia anti tumoral da combinação entre a metformina e a Doxorubicina. | _____ | Metformina + Doxorrubicina | Após 15 dias de tratamento observou-se uma redução do volume tumoral usando apenas a Doxorubicina e efeitos mínimos com o tratamento isolado com metformina. A combinação de ambos evidência uma resposta sinérgica que resultou na eliminação dos tumores e aumento o período de remissão tumoral comparativamente com a Doxorubicina isolada (60dias vs 20dias, respetivamente) |
| Lliopoulos <i>et al.</i> 2011 (26) | Pré-clínico “in vivo” (em ratos) | _____ | a) Observar a eficácia da metformina administrada oralmente juntamente com outros medicamentos quimioterápicos para além da Doxorubicina. b) Observar se o uso da metformina interfere na concentração desses medicamentos. | _____ | Metformina + Paclitaxel ou Carboplatina | a) Esta combinação evidenciou um prolongamento da remissão tumoral semelhante á metformina + Doxorubicina (55-60 vs 50 dias respetivamente) b) Qualquer das duas combinações mencionadas diminuiu significativamente as doses necessárias dos quimioterápicos. |
| Sadighi <i>et al.</i> 2014 (27) | Pré-clínico “in vitro” | _____ | Avaliar a citotoxicidade da metformina isolada ou em combinação com Paclitaxel | _____ | Metformina + Paclitaxel | A combinação da metformina com Paclitaxel não demonstrou qualquer aumento da atividade antineoplásica deste quimioterápico. |

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|---------------------------------------|---------------------------|-------------------|---|---|-----------------------------|--|
| Sanli <i>et al.</i> 2010 (28) | Pré-clínico “in vitro” | — | Avaliar o papel da metformina na sensibilização das células tumorais mamárias para a radiação. | — | Metformina + RT | Verificou-se que a metformina pela ativação do AMPK aumentou a resposta das células neoplásicas à radiação. |
| Song <i>et al.</i> 2012 (29) | Pré-clínico “in vitro” | — | Avaliar a capacidade da metformina na sensibilização das células tumorais mamárias para a radiação. | — | Metformina + RT | Observou-se uma radiosensibilização significativa estimulada pela metformina. |
| Niraula <i>et al.</i> 2012 (30) | Coorte Prospetivo | 39 mulheres | Avaliar o papel anti tumoral da metformina em mulheres sem DM com cancro da mama operável. | 51%- T1 38%- Nódulos + 85%- ER e PGR + 13%- HER+ | Metformina + Cirurgia | A metformina foi bem tolerada antes da cirurgia e os resultados clínicos e celulares demonstraram benefícios tais como: diminuição do ki67 (antígeno Ki67) e aumento do TUNEL staining (método para detetar apoptose). |
| Hadad <i>et al.</i> 2015 (31) | Coorte Prospetivo | 47 mulheres | Avaliar o papel da metformina em mulheres sem DM com cancro da mama ressecável antes da cirurgia. | Sem DM Com Cancro da mama ressecável. | Metformina + Cirurgia | Nas mulheres a tomar metformina evidenciou-se uma diminuição significativa do ki-67 contrastando com o grupo que não recebeu metformina. |

Aksoy et al. (20) e Besic *et al.* (23), em dois estudos retrospectivos distintos concluíram que as pacientes com DM tipo 2 e cancro da mama de vários subtipos tratados com metformina apresentavam um menor número de tumores em estadio avançado (T3 e T4) comparativamente com pacientes diabéticas com neoplasia da mama sem metformina, 16% vs 26% respetivamente (23). Besic *et al.* (23) no mesmo estudo analisando uma população de 253 mulheres com cancro da mama invasivo, também concluíram que embora o uso prolongado de metformina interferisse com os estadios de cancro, ela em nada interferiu com a distribuição de diferentes subtipos de cancro e metástases regionais/distais.

Para além da metformina se mostrar benéfica no tratamento e prevenção do cancro (20,22-24) existem estudos que afirmam que a metformina foi o único ADO capaz de reduzir o risco para o cancro, enquanto o uso das sulfonilureas e insulina estiveram associadas a um maior risco de vários tipos de cancro e menor sobrevivência em pacientes com DM tipo 2 (32).

3.1.2. Metformina e Quimioterapia (QT)

Existem evidências científicas que demonstram benefícios na combinação da metformina com agentes quimioterápicos no cancro da mama (25,26), contudo esta hipótese ainda é controversa (27).

Hirsch *et al.* (25) estudaram o papel da metformina em associação com Doxorrubicina em ratos injetados com células de diferentes tipos de cancro da mama, demonstrando que esta combinação acelerou a regressão tumoral e aumentou o tempo de remissão. Estes efeitos estão relacionados com o facto de a metformina destruir seletivamente as células estaminais malignas (25,26), apoiando a “dandelion hypothesis” (11) (ver discussão).

No entanto a Doxorubicina parece não ser o único citotóxico eficaz. Outro estudo que combinou a metformina com Paclitaxel ou Carboplatina apresentou uma eficácia semelhante à combinação anteriormente mencionada (26).

Contudo, nem todos os estudos parecem consensuais, Sadighi *et al.* (27), demonstraram que a combinação da metformina com Paclitaxel em nada aumentou a sua capacidade antineoplásica.

3.1.3. Metformina e Radioterapia (RT)

As células estaminais malignas e as células estaminais não malignas do cancro da mama são altamente resistentes à radioterapia (RT). No entanto, alguns estudos “*in vivo*” e “*in vitro*” demonstraram que a metformina em doses clinicamente significativas é capaz de sensibilizar essas células para a radiação (28,29).

Song *et al.* (29) num estudo “*in vitro*” em 2012 utilizaram dois tipos de células malignas da mama (MCF-7- células neoplásicas humanas e Fsall- fibrossarcomas mamários de ratos) e

observaram que a metformina conseguiu não só destruir ambos os tipos de células como também conseguiu sensibilizá-las para a radiação a uma dose de 36 Gy (Gray). Este efeito foi alcançado pelo facto deste ADO destruir seletivamente as células estaminais malignas.

Também Sanli *et al.* (28) demonstraram o efeito radiosensibilizador da metformina nas células mamárias malignas incubadas com metformina ou inibidores da AMPK. No entanto, esse efeito foi alcançado utilizando doses de radiação mais baixas, 2 a 8 Gy.

Contudo, um estudo realizado em 2013 com o intuito de avaliar a toxicidade locoregional nas pacientes com cancro da mama a receber metformina e radioterapia observou 51 pacientes nessas circunstâncias e comparo-as aos grupos de controlo. Elas foram avaliadas semanalmente durante 3 a 4 semanas após o tratamento e avaliadas novamente passados 3 a 6 meses durante o intervalo do tratamento. As mulheres submetidas a esta combinação de metformina com RT apresentaram um aumento de efeitos citotóxicos locoregionais, como dermatite, levando a um aumento do número de intervalos entre as sessões de RT comparativamente com os grupos de controlo. Estes efeitos secundários da RT atingiram com maior frequência mulheres com cancro da mama e DM do que mulheres com cancro da mama sem DM (33).

3.1.4. Metformina e Cirurgia

Hadade *et al.* (31) compararam mulheres sem DM e com cancro da mama operável a receber 500mg de metformina neoadjuvante diariamente durante 1 semana, e 1 g duas vezes ao dia na semana seguinte, com o grupo de controlo (mulheres sem DM e sem receber metformina). As biópsias realizadas antes da administração da metformina foram comparadas com as biópsias no momento da cirurgia e evidenciou-se uma diminuição bastante significativa do Ki-67 (marcador tumoral) no primeiro grupo de doentes.

Um estudo semelhante foi realizado por Niraula *et al.* (30) em 39 mulheres também não diabéticas com uma idade média de 51 anos, tendo sido administradas 500 mg de metformina diariamente até cirurgia definitiva. As biópsias realizadas antes da administração da metformina também foram comparadas com as biópsias na altura da cirurgia e constatou-se uma diminuição do Ki-67 e um aumento da marcação por TUNNEL, um método comum para detetar fragmentos de DNA resultantes da apoptose (34).

3.2- Cancro da Próstata

Após a minha pesquisa bibliográfica destaco 10 estudos que se encontram resumidos na tabela 2. Nem todos são consensuais, obtendo resultados díspares após utilização da metformina neste tipo de cancro.

3.2.1. Metformina isolada

Três dos estudos presentes na tabela 2 avaliaram se o uso da metformina em pacientes com DM tipo 2 está associado a uma menor incidência de cancro da próstata, (35,39,40) obtendo resultados diferentes.

Tseng *et al.* (39) em 2014 avaliaram uma população de Taiwanesees, 395.481 homens diabéticos e compararam aqueles que tomavam metformina (186212) com os que tomavam outros ADOs (209269), constatando que os que eram tratados com metformina apresentaram uma menor taxa de incidência do cancro da próstata (2776 vs 9642). Contudo Azoulay *et al.* (35) e Randazoo *et al.* (38) avaliaram populações mais pequenas, 739 e 4314 homens diabéticos respetivamente e fazendo a mesma comparação que Tseng *et. al* (39) não observaram diferenças significativas na taxa de incidência.

Dois outros estudos tentaram avaliar o efeito da metformina em pacientes com neoplasia da próstata, obtendo resultados semelhantes (36,37).

He *et al.* (36) num estudo epidemiológico com 233 homens diabéticos com cancro da próstata resistente à TPA, compararam o impacto dos diferentes ADOs entre 1999 e 2008 e concluíram que as Tiazolidinedionas (TZD) e a metformina estiveram associadas a uma melhor taxa de sobrevivência comparativamente com os outros ADOs.

Também Spratt *et al.* (37), numa amostra de 2901 homens com cancro da próstata resistente à TPA, compararam 3 grupos de doentes: o grupo 1 constituído por 157 homens diabéticos a receber metformina, o grupo 2 com 162 homens diabéticos a receber outros ADOs e o grupo 3 constituído por 2582 homens não diabéticos e sem metformina. Os resultados demonstraram que o uso da metformina esteve associado a uma melhoria na taxa de sobrevivência, mortalidade, metástases à distância e na taxa de remissão da doença.

Tabela 2- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro da próstata

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|--|----------------------|-------------------|---|--|-------------|--|
| Azoulay <i>et al.</i> 2010 (35) | Coorte Retrospectivo | 739 Homens | Determinar se a metformina diminui o risco de cancro da próstata em pacientes com DM tipo 2. | Idade >40 anos 203 - Com metformina 536 - Sem metformina | Metformina | Os pacientes que tomavam metformina não demonstraram uma diminuição da incidência do cancro da próstata comparativamente com os que tomam outros ADOs. |
| He <i>et al.</i> 2011 (36) | Coorte Retrospectivo | 233 Homens | Avaliar o impacto dos ADOs nos pacientes com cancro da próstata. | DM tipo 2 Cancro da próstata | Vários ADOs | O uso de tiazolidinedionas e metformina foi associado a uma melhor taxa de sobrevivência, contrariamente aos outros ADOs. |
| Spratt <i>et al.</i> 2011 (37) | Coorte Retrospectivo | 2901 Homens | Averiguar se o uso da metformina pode estar associado a uma melhoria clínica no cancro da próstata resistente à terapia de privação de androgénios (TPA). | 157- DM 2 com metformina 162- DM2 sem metformina | Metformina | Os resultados demonstraram que o uso da metformina melhorou a taxa de sobrevivência, a mortalidade, a taxa de remissão da doença e ainda diminuiu as metástases à distância. |
| Randazzo <i>et al.</i> 2012 (38) | Coorte Prospetivo | 4314 Homens | Avaliar o efeito da Metformina nos níveis de PSA (antígeno prostático específico), no rácio PSA livre/ PSA total e na incidência do cancro da próstata | Idade: 55-70 anos 150- Com metformina 4164- Sem metformina | Metformina | Os resultados não demonstraram diferenças significativas nos níveis de PSA e na incidência do cancro da próstata entre os dois grupos. |

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|---------------------------------------|----------------------|-------------------|--|--|-----------------------------|---|
| Tseng <i>et al.</i> 2014 (39) | Coorte Retrospectivo | 395481 Homens | Averiguar se a metformina tem algum efeito na incidência do cancro da próstata em pacientes com DM tipo 2. | DM tipo 2 entre 1998-2002 ;Idade Média : 40 anos 209269- Sem metformina 186212- Com metformina | Metformina | O estudo concluiu que o uso da metformina em pacientes com DM tipo 2 esteve associado a uma menor incidência de cancro da próstata (2776 com metformina vs 9642 sem metformina) |
| Patel <i>et al.</i> 2010 (40) | Coorte Prospetivo | 616 Homens | Investigar a relação entre a DM e o uso da metformina e relacionar os resultados depois de uma prostatectomia radical para cancro "in situ". | 98 - Com metformina 112- Sem metformina 406 - Sem DM | Metformina + Cirurgia | A presença de DM esteve associada a um aumento significativo de cancro e o uso da metformina não demonstrou benefícios de relevo. |
| Kaushik <i>et al.</i> 2013 (41) | Coorte Prospetivo | 12052 Homens | Avaliar os efeitos da metformina na sobrevivência e nos resultados patológicos em pacientes com cancro "in situ". | 885(7,3%)-com DM tipo 2 323- Com metformina 562- Sem metformina 11167- Sem DM tipo 2 | Metformina + Cirurgia | O uso da metformina não demonstrou nenhuma diminuição do risco de recorrência tumoral, progressão sistémica e taxa de mortalidade. |
| Joshua <i>et al.</i> 2014 (42) | Coorte Prospetivo | 22 Homens | a) Avaliar a segurança do tratamento neoadjuvante com metformina e os seus efeitos anti tumorais entre as biópsias pré e pós-operação). | 22 Homens com metformina | Metformina + Cirurgia | O tratamento neoadjuvante com metformina antes da prostatectomia foi bem tolerado e demonstrou uma diminuição do Ki-67 e do PSA entre as biópsias.. |

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|--|---|-------------------|---|--|----------------------------------|---|
| Lliopoulos <i>et al.</i> 2011 (26) | Pré-clínico “in vivo” (em ratos) | _____ | Avaliar a combinação da metformina com QT convencional em vários tipos de cancro. | _____ | Metformina + Doxorrubicina | Esta combinação pareceu ser eficaz na supressão do crescimento tumoral do cancro da próstata. |
| Zhang <i>et al.</i> 2014 (43) | Pré-clínico “in vivo” e “in vitro” | _____ | Avaliar o efeito radiosensibilizador da metformina no cancro da próstata. | _____ | Metformina + RT | Os resultados indicam que a metformina sensibilizou as células tumorais da próstata para a radiação. |
| Nobes <i>et al.</i> 2009 (44) | Coorte Prospectivo | 40 Homens | Investigar o efeito da metformina em pacientes que desenvolveram Síndrome Metabólico associado a TPA. | 20 - TPA isoladamente 20- TPA + metformina Duração : 6 meses | Metformina + TPA | Concluiu-se que a metformina aliada a um estilo de vida saudável pode abolir o síndrome metabólico associado á TPA. |

3.2.2. Metformina e QT

Lliopoulos et al. (26) num estudo “in vivo” utilizando ratos injetados com células malignas prostáticas altamente metastáticas estudaram a combinação da metformina com Doxorubicina, concluindo que esta combinação para além de ter sido eficaz na supressão do crescimento tumoral permitiu concomitantemente reduzir as doses de Doxorubicina, reduzindo assim os seus efeitos colaterais.

3.2.3. Metformina e RT

Zhang *et al.* (43) em 2014 num estudo “in vivo” utilizando ratos injetados com células malignas da próstata em estadio 2, 3 e 4, concluíram que a metformina como terapia neoadjuvante estimula a radiosensibilidade das células tumorais. Os ratos que receberam radiação após toma de metformina, demonstraram um atraso no crescimento tumoral associado á RT comparativamente com os que não receberam (17.3 dias vs 29.5 dias respetivamente).

3.2.4. Metformina e Cirurgia

Múltiplos estudos foram realizados neste âmbito, destacando-se 3 com resultados controversos (40-42).

Patel *et al.* (40) tendo uma amostra de 616 homens diabéticos submetidos a uma prostatectomia radical concluíram que a presença de DM independentemente do uso de metformina esteve associada a um aumento significativo da recorrência tumoral. No entanto não demonstrou benefícios de relevo nessa taxa associada à utilização da metformina quando comparada a outros ADOs. Kaushik *et al.* (41), também avaliaram 12.052 pacientes diabéticos e não diabéticos submetidos a prostatectomia entre 1997 e 2000 e concluíram que a metformina não se associa a uma diminuição da progressão tumoral e taxa de mortalidade.

Contrastando com os resultados obtidos nos dois estudos anteriormente referidos (40,41), Joshua *et al.* (42), observaram uma amostra pequena de 22 pacientes sem tratamento prévio para a DM tipo 2 e administraram 500 mg/dia de metformina até à cirurgia definitiva. Face aos resultados obtidos concluiu-se que a metformina como terapia neoadjuvante foi bem tolerada e quando comparadas as biópsias da pré-utilização da metformina com as biópsias na altura da cirurgia detetou-se uma diminuição do Ki-67 e dos níveis de PSA.

3.2.5. Metformina e terapia de privação de androgénios

A TPA é uma das opções terapêuticas frequentemente empregues para o cancro da próstata em estadios mais avançados, contudo uma grande parte dos pacientes a receber esta terapia durante muito tempo desenvolvem síndrome metabólico, contribuindo para a morbilidade e mortalidade destes pacientes, uma vez que este síndrome é um fator de risco para doenças cardiovasculares, a principal causa de morte não relacionada com cancro nestes pacientes (45).

Nobes *et al.* (44) realizaram um estudo em “St. Lukes Cancer Center, United Kingdom ” e concluíram que a metformina aliada a um estilo de vida saudável pode abolir o Síndrome Metabólico induzido pela TPA.

3.3. Cancro do Pulmão

Após a minha pesquisa destaco 9 estudos que considero de relevo para a discussão. Esses estudos encontram-se resumidos na tabela 3 e nem todos são consensuais.

3.3.1. Metformina isolada

Quatro dos estudos evidenciados na tabela 3 tentaram relacionar o uso da metformina com a incidência do cancro do pulmão. (46-49)

Mazzone *et al.* (46) tendo uma amostra de 93.939 pacientes diabéticos concluíram que a metformina esteve associada a uma menor incidência deste cancro quando comparados com diabéticos a tomar outros ADOs.

Lai *et al.* (47) numa amostra de 98.120 diabéticos e não-diabéticos Taiwaneses concluíram que a presença da DM é um fator de risco para o desenvolvimento deste cancro. Este mesmo estudo demonstrou que o uso da metformina ou TZD e inibidores da α -glucosidases diminuíram o risco de cancro nesta população de 45% para 39%.

Tsai *et al.* (49) após avaliarem uma população de 47.356 pacientes diabéticos entre 1997 e 2007 revelaram que a metformina está associada a uma diminuição do cancro do pulmão.

Contrariamente a estes estudos, Smiechowski *et al.* (48), avaliaram uma população de 115.923 pacientes com DM tipo 2 e concluíram que o uso de metformina não se relaciona com a taxa de incidência deste cancro.

Lin *et al.* (50) ao analisarem 750 pacientes diabéticos e com carcinoma do pulmão estadio IV obtiveram resultados que permitiram associar o uso da metformina a um aumento da sobrevivência.

Tabela 3- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro do pulmão

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|---|----------------------|------------------|--|--|-------------------------|---|
| Mazzone <i>et al.</i> 2012 (46) | Coorte Retrospectivo | 93939 pacientes | Determinar o efeito protetor da metformina ou (TZD) no desenvolvimento do cancro do pulmão. | _____ | Metformina ou TZD | O uso da metformina e/ou TZD esteve associado a uma menor probabilidade para o desenvolvimento de cancro do pulmão em pacientes diabéticos. |
| Lai <i>et al.</i> 2012 (47) | Coorte Retrospectivo | 98120 pacientes | a) Compreender a associação entre a DM e o risco de cancro do pulmão. b) Avaliar o impacto dos ADOs no risco de cancro do pulmão. | 9624- com DM 2 78496- sem DM 2 | Metformina | a) Pacientes com DM tipo 2 não tiveram risco aumentado para o desenvolvimento de cancro do pulmão. b) O uso de ADOs como a metformina e TZD diminuiu o risco nesta população em cerca de 45% - 39%. |
| Smiechowski <i>et al.</i> 2013 (48) | Coorte Retrospectivo | 115923 pacientes | Observar se o uso da metformina está associado à diminuição do risco de cancro do pulmão em pacientes com DM tipo 2. | 1061- com cancro do pulmão | Metformina | O uso de metformina não foi associado a qualquer diminuição do risco de cancro do pulmão em pacientes com DM tipo 2. |
| Tsai <i>et al.</i> 2014 (49) | Coorte Retrospectivo | 47356 pacientes | Avaliar a associação entre a dose de metformina e a incidência de cancro do pulmão. | Pacientes com DM tipo 2 diagnosticados entre 1997- 2007 | Metformina | O uso da metformina diminuiu o risco de cancro do pulmão em pacientes com DM tipo 2. |
| Lin <i>et al.</i> 2015 (50) | Coorte Retrospectivo | 750 pacientes | Comparar o tempo de sobrevivência dos pacientes com cancro do pulmão estadio IV que tomam metformina vs os que não tomam. | 61% - Com metformina 39% - Sem metformina DM tipo 2 e cancro do pulmão | Metformina | A metformina foi associada a um aumento significativo do tempo de sobrevivência nos pacientes diabéticos com cancro do pulmão em estadio IV. |

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|---|--|-------------------|--|------------------------------|--|---|
| Teixeira <i>et al.</i> 2013 (51) | Pré-clínico “in vitro” | _____ | Avaliar a eficácia da combinação da metformina com QT convencional no cancro do pulmão das células não pequenas (NSCLC). | _____ | Metformina + Cisplatina ou Etoposide | A combinação da metformina com qualquer um deles produziu um efeito sinérgico, aumentando a taxa de morte das células neoplásicas. |
| Morgillo <i>et al.</i> 2013 (52) | Pré-clínico “in vitro” | _____ | Avaliar a eficácia da combinação da metformina com Gefinítibe no NSCLC. | _____ | Metformina + Gefinítibe | A combinação induziu um efeito anti proliferativo e pró-apoptótico mais evidente do que qualquer um deles isoladamente. |
| Lin <i>et al.</i> 2013 (53) | Pré-clínico “in vitro” | _____ | Avaliar a combinação da metformina com a Cisplatina no NSCLC. | _____ | Metformina + Cisplatina | Este estudo demonstrou que metformina estimula a toxicidade da Cisplatina no cancro do pulmão. |
| Storozhuk <i>et al.</i> 2013 (54) | Pré-clínico “in vivo” (em ratos) | _____ | Examinar se a metformina sensibiliza as células do NSCLC à radiação. | _____ | Metformina + RT | Doses de metformina clinicamente aceitáveis inibiram o crescimento tumoral das células do NSCLC e sensibilizou-as para a radiação através da activação do AMPK. |

3.3.2. Metformina e QT

Os três estudos destacados nesta área obtiveram resultados que demonstram o benefício da combinação da QT com metformina no cancro do pulmão. (51-53)

Teixeira *et al.* (51) avaliaram a combinação da metformina com Cisplatina ou Etoposide no cancro do pulmão de células não pequenas e concluíram que a metformina teve efeitos anti-proliferativos atuando sinergicamente com estes agentes quimioterápicos e aumentaram a taxa de morte das células neoplásicas.

Lin *et al.* (53) também estudaram o efeito da combinação da metformina com Cisplatina (o agente quimioterápico mais usado no tratamento do cancro do pulmão de células não pequenas) e obtiveram resultados que lhes permitiram concluir que este ADO teve efeitos anti-proliferativos e sensibilizou estas células malignas à toxicidade da Cisplatina.

Morgilloo *et al.* (52) concluíram que a combinação da metformina com Gefinitibe induziu um efeito antiproliferativo e pró-apoptótico mais evidente do que qualquer um destes isoladamente.

3.3.3. Metformina e RT

Storozhuk *et al.* (54) concluíram que doses normo-farmacológicas de metformina inibiram o crescimento tumoral do cancro do pulmão de células não pequenas e sensibilizou-as para a RT.

3.4. Metformina e Cancro Colo-Retal

Após uma pesquisa alargada no âmbito de evidências que sustentem a hipótese do benefício da metformina na prevenção e/ou cura do cancro colo-retal (CCR), destaco 7 estudos que se encontram resumidos na tabela 4. Contudo não foi encontrado nenhum estudo que avaliasse a metformina como terapia neoadjuvante associada à cirurgia ou RT.

3.4.1. Metformina isolada

Dos 5 estudos que avaliaram o papel da metformina na incidência do CCR ou lesões pré-malignas (adenomas), 3 deles obtiveram resultados que apoiam uma diminuição da incidência associada ao uso deste ADO.

Hosono *et al.* (55) compararam 9 pacientes com DM tipo 2 medicados com metformina com 14 pacientes diabéticos a tomar outros ADOs e concluíram que os primeiros apresentaram uma diminuição significativa das criptas aberrantes (marcadores de CCR) à endoscopia.

Tabela 4- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o CCR

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|---|-------------------------|--|--|---|------------|--|
| Hosono <i>et al.</i> 2010 (55) | Coorte Prospectivo | 23 pacientes sem DM tipo 2 com criptas aberrantes focais | Avaliar o efeito preventivo da metformina nas criptas aberrantes visualizadas na endoscopia (uma vez que são marcadores tumorais). | 9- Com metformina 14- Sem metformina | Metformina | Concluiu-se que a metformina suprimiu a proliferação das criptas aberrantes e diminuiu o seu número significativamente, sugerindo um papel promissor nesta área. |
| Lee <i>et al.</i> 2011 (56) | Coorte Prospectivo | 480984 | Avaliar o efeito da metformina em vários câncros gastrointestinais. | Idade ≥ 20 DM tipo 2 | Metformina | A metformina pareceu reduzir a incidência de vários câncros gastrointestinais incluindo o CCR. |
| Smiechowski <i>et al.</i> 2013 (57) | Estudo Retrospectivo | 115578 com DM tipo 2 | Observar o efeito da metformina na incidência do CCR em pacientes com DM tipo 2. | 760 com CCR: 67,4%- Metformina 29,7%- Sulfonilureas 2,9%- Combinação de ADOs | Metformina | Este estudo não demonstrou qualquer associação entre o uso de metformina e a incidência do CCR em pacientes com DM tipo 2. |
| Cho <i>et al.</i> 2014 (58) | Coorte Prospectivo | 3105 com DM tipo 2 | Averiguar se a metformina afeta o risco de incidência dos pólipos colónicos nomeadamente os adenomas em pacientes com DM tipo 2. | 912- Com metformina 2193- Sem metformina | Metformina | Em pacientes com DM tipo 2 a metformina reduziu a incidência dos adenomas (lesões pré cancerígenas para o CCR). |

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|--------------------------------------|---|-------------------|---|--|-----------------------|---|
| Sehdev <i>et al.</i> 2014 (59) | Caso-control | Desconhecido | Determinar o efeito da metformina na incidência do CCR. | Idade Média: 55-57 anos 60%- sexo feminino 40%- sexo masculino | Metformina | A metformina pareceu não influenciar o risco do desenvolvimento do CCR. |
| Sui <i>et al.</i> 2014 (60) | Pré-clínico “in vitro” e “in vivo” (em ratos) | _____ | Avaliar o efeito da metformina na taxa de sobrevivência no CCR | _____ | Metformina | Os resultados sugerem que a metformina isoladamente não apresentou efeito antineoplásico no CCR. |
| Nangia <i>et al.</i> 2014 (61) | Pré-clínico “in vivo” (em ratos) | _____ | Avaliar a eficácia da metformina em conjunto com 5- fluoracil e oxaliplatina (FuOx) no CCR refratário à QT convencional | _____ | Metformina + QT | O estudo demonstrou que a metformina em conjunto com a QT convencional pode ser eficaz no tratamento do CCR refratário. |

Lee *et al.* (56) avaliando pacientes com DM tipo 2 com diferentes ADOs concluíram que o uso da metformina poderá estar associado a uma diminuição da incidência do CCR.

Cho *et al.* (58) avaliando 3105 diabéticos a tomar diferentes ADOs, concluíram que os que tomavam metformina tiveram uma incidência reduzida de adenomas intestinais comparativamente com os que tomavam outros ADOs.

Smiechowski *et al.* (57) concluíram que o uso da metformina em pacientes com DM tipo 2 não esteve associado com uma menor incidência do CCR.

Sehdev *et al.* (59) mostraram que a metformina não teve efeitos na taxa de incidência do CCR.

Sui *et al.* (60) demonstraram que a metformina não teve efeitos antineoplásicos no CCR e por isso não interferiu na taxa de sobrevivência.

3.4.2. Metformina e QT

Nangia *et al.* (61) num estudo “*in vivo*” demonstraram que a combinação da metformina com o 5-Fluoracilo e Oxaplatina (FuOx) foi eficaz no tratamento CCR refratário á QT convencional.

3.5. Metformina e Cancro do Estômago

Durante a pesquisa bibliográfica constatei que existem apenas escassos estudos a avaliar o papel da metformina no cancro do estômago, destacando apenas 3 que obtiveram resultados consensuais (62-64) (tabela 5).

3.5.1. Metformina isolada

Kato *et al.* (62) realizaram um estudo “*in vivo*” e “*in vitro*” concluindo que o uso da metformina pode estar associado à inibição da proliferação das células tumorais do cancro do estômago.

Kim *et al.* (63) avaliaram uma população de 100.000 pacientes com cancro do estômago e DM tipo 2 e concluíram que o uso de metformina reduziu significativamente a incidência deste cancro.

Tabela 5- Estudos que analisaram a relação entre a Metformina e o cancro do estômago

| Referências | Tipo de Estudo | Tamanho do estudo | Objetivo do estudo | Características da população | Tratamento | Resultados |
|------------------------------------|--|--|--|--|---------------------------------|--|
| Kato <i>et al.</i> 2012 (62) | Pré-clínico “in vitro” “in vivo” (em ratos) | — | Avaliar o efeito da metformina “in vivo” e “in vitro” “no cancro do estômago. | — | Metformina | Revelou que a metformina inibiu a proliferação das células tumorais do estômago e por isso sugeriu que este ADO possa ser eficaz no tratamento dos pacientes com cancro de estômago. |
| Kim <i>et al.</i> 2014 (63) | Coorte Retrospectivo | 100000 | Avaliar a associação entre a metformina e a incidência de cancro do estômago. | 39989 - cancro do estômago e com DM tipo 2 ; 26690- Com metformina 13299- Sem metformina | Metformina | O uso da metformina por mais de 3 anos em pacientes com DM tipo 2 esteve associado a uma redução significativa do risco de cancro do estômago. |
| Lee <i>et al.</i> 2015 (64) | Coorte Prospectivo | 1974 pacientes com cancro do estômago que foram submetidos a uma gastrectomia | Avaliar a associação entre a metformina e a sobrevivência do cancro do estômago. | 132- DM2 com metformina 194- DM2 sem metformina 1648- sem DM 2 | Metformina + Gastrectomia | O uso da metformina pareceu estar associado a uma diminuição da recorrência tumoral e mortalidade. |

3.5.2. Metformina e Cirurgia

Lee *et al.* (64) avaliaram 1974 pacientes que foram submetidos a gastrectomia e constataram que aqueles com DM tipo 2 a tomar metformina apresentaram uma reocorrência tumoral e uma taxa de mortalidade mais baixa comparativamente com os diabéticos medicados com outros ADOs e não diabéticos.

3.6. Metformina e outros tipos de Cancro

Outros estudos também evidenciaram um papel benéfico da metformina no tratamento e prevenção de outros tipos de cancro, nomeadamente, no cancro do endométrio (65), cancro do ovário (66), carcinoma hepatocelular (67), cancro do pulmão (68), carcinoma das células renais (69) e em alguns cancros cerebrais tais como neuroblastoma (70) e glioma (71).

4. Discussão

Após análise de todos os estudos acima referidos verifiquei que apesar de ainda não ser consensual, a grande maioria aponta a metformina como um medicamento potencial na prevenção e cura dos cancros com maior incidência e mortalidade em Portugal. Embora ainda não sejam claros quais os mecanismos de ação responsáveis pelos efeitos anticancerígenos da metformina, pensa-se que os seguintes processos possam estar envolvidos: 1) a ativação da AMPK e os seus efeitos metabólicos 2) a inibição das várias vias inflamatórias, 3) a inibição do crescimento das células estaminais malignas e 4) o efeito anti-angiogénico.

4.1. Mecanismo de ação da Metformina

4.1.1. Ativação do AMPK e os seus efeitos metabólicos

4.1.1.1. Efeito Warburg

Para compreendermos a importância da ativação da AMPK é crucial compreendermos o “efeito de Warburg” proposto por Otto Warburg (13,72). As células normais na presença de oxigénio (O₂) metabolizam a glicose para dióxido de carbono (CO₂) através de processos bioquímicos consecutivos: a glicólise aeróbia, o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa (cadeia respiratória) - a última etapa para a obtenção de ATP. O balanço total de moléculas de ATP formadas por cada molécula de glicose no final da cadeia respiratória são 36, e só em condições de hipóxia (ausência de O₂) estas células utilizam a glicólise anaeróbia para obter ATP (2 moléculas) (13).

No entanto, em contraste com as células normais, as células malignas evidenciam uma alteração metabólica, utilizando preferencialmente a glicólise aeróbia ao invés da respiração para obter ATP independentemente da presença ou ausência de O₂ (figura 3). Esta é uma característica metabólica destas células e é designada por efeito de Warburg (13,72,73).

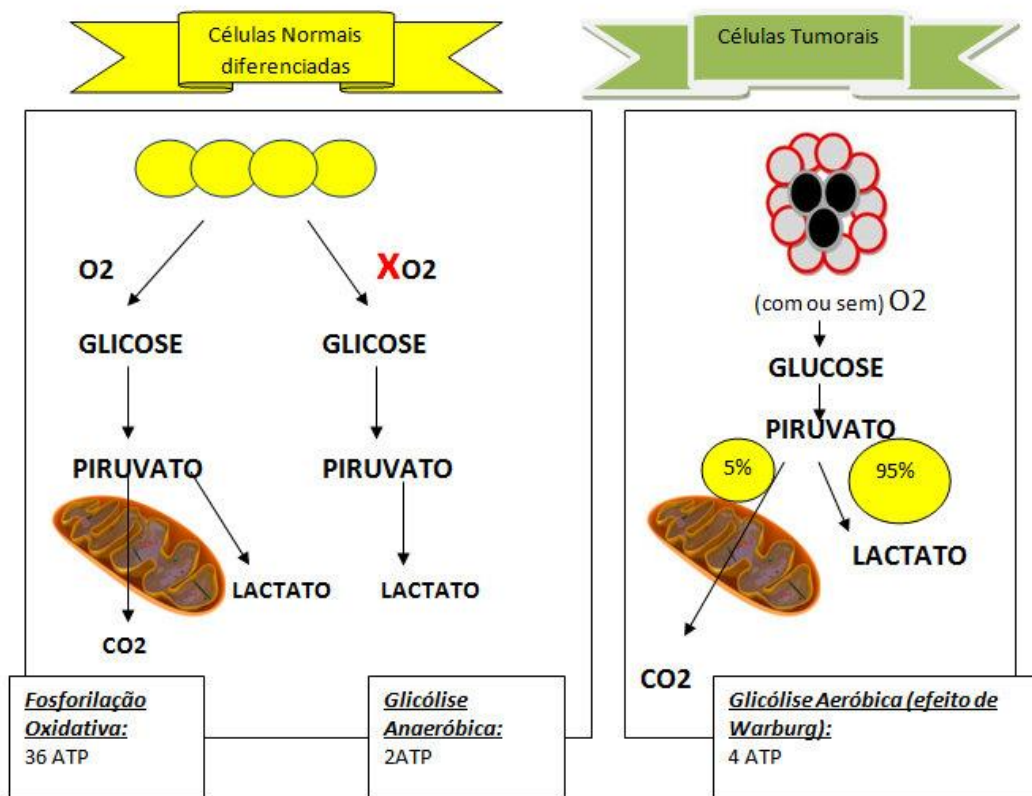


Figura 3: Comparação entre a fosforilação oxidativa e o efeito Warburg

Uma vez que o efeito de Warburg é responsável pela formação de apenas 4 moléculas de ATP por cada molécula de glicose, contrastando com as 36 que são formadas no final da fosforilação oxidativa, a questão que mais intrigou os cientistas foi o porquê destas células altamente proliferativas preferirem um metabolismo aparentemente menos eficiente no que diz respeito à produção de energia celular. Após vários estudos concluiu-se que a glicólise é um processo capaz de fornecer ATP suficiente e adicionalmente fornece os blocos de biomassa como a acetil coenzima A (necessária à formação dos ácidos gordos), os intermediários glicolíticos (necessários à formação de aminoácidos não essenciais) e a ribose (necessária para a formação de nucleótidos) imprescindíveis para uma multiplicação celular viável, necessária para a carcinogénese (13,73).

Perante esta perspetiva torna-se evidente que a conversão de toda a glicose para a formação de CO_2 através da fosforilação oxidativa para maximizar a quantidade de ATP inibe a proliferação celular rápida necessária para o crescimento maligno, uma vez que impede a formação desses blocos de biomassa essenciais.

A escassez de ATP apenas se torna um problema quando há uma diminuição dos recursos, o que raramente acontece durante a multiplicação das células malignas porque a nova circulação (angiogénese) fornece uma suplementação contínua de glicose e de outros

nutrientes (19). Independentemente da velocidade de replicação destas células, elas exibem um rácio de ATP:ADP e NADH:NAD⁺ (dinucleótido de nicotinamida e adenina : dinucleótido de adenosina) elevado e qualquer alteração mínima neste rácio, pode afetar o crescimento e proliferação celular levando à apoptose, fenómeno típico no STRESS OXIDATIVO (Figura 4) (13,74).

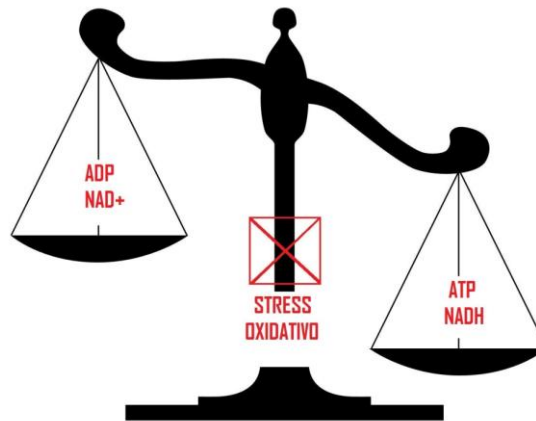


Figura 4: Ação do stress oxidativo no balanço ATP:ADP. O stress oxidativo é uma condição caracterizada por desequilíbrio entre a produção de espécies reactivas de oxigénio e a sua remoção. Todos os organismos vivos possuem um ambiente intracelular de natureza redutora, existindo um equilíbrio entre as formas oxidada e reduzida de moléculas como o NADH, equilíbrio esse mantido por enzimas à custa de energia metabólica. Perturbações neste equilíbrio redox podem provocar a produção de peróxidos e radicais livres que danificam todos os componentes celulares, incluindo proteínas, lípidos e o DNA. Em condições extremas de stress oxidativo esses danos causam esgotamento dos níveis de ATP resultando em apoptose ou necrose celular.

Uma vez que este rácio deve ser mantido, o nosso organismo apresenta vias de sinalização que são sensíveis a estas alterações, sendo o melhor mecanismo que visa manter esse rácio iniciado pela atividade da adenilato quinase (ADK). Quando o ATP diminui, há a conversão de 2 moléculas de adenosina difosfato (ADP) em ATP+AMP e, a acumulação do AMP ativa a AMPK (13)

4.1.1.2. AMPK e mTOR

A AMPK como já referido é uma enzima central no controlo do metabolismo da glicose e dos lípidos em todas as células eucarióticas em resposta a alterações nutricionais (11,12).

A sua ativação é responsável pela ativação de uma cascata de processos catabólicos que produzem ATP incluindo: a ativação da β oxidação dos ácidos gordos, provocando uma

alteração de metabolismo para obtenção de ATP da glicólise aeróbia para a fosforilação oxidativa (comprometendo o efeito Warburg), impossibilitando a formação dos ácidos gordos e outros precursores de macromoléculas necessárias para a rápida multiplicação; promove a captação da glicose (devido ao aumento do transportador de glicose tipo 4- GLUT 4), fazendo com que a concentração de glicose no plasma não seja suficiente para o metabolismo das células malignas, podendo culminar num stress oxidativo e conseqüentemente em apoptose. A sua ativação também é responsável pela inibição de processos anabólicos que consomem ATP desde a inibição da gliconeogénese hepática, resultando na diminuição dos níveis de glicose no plasma; inibição da síntese hepática de colesterol; da lipólise, impedindo a formação de ácidos gordos que são macromoléculas necessárias para a multiplicação dessas células e inibição da síntese de proteínas, que são essenciais à multiplicação dessas células impedindo a proliferação celular (Figura 5)(7,13).

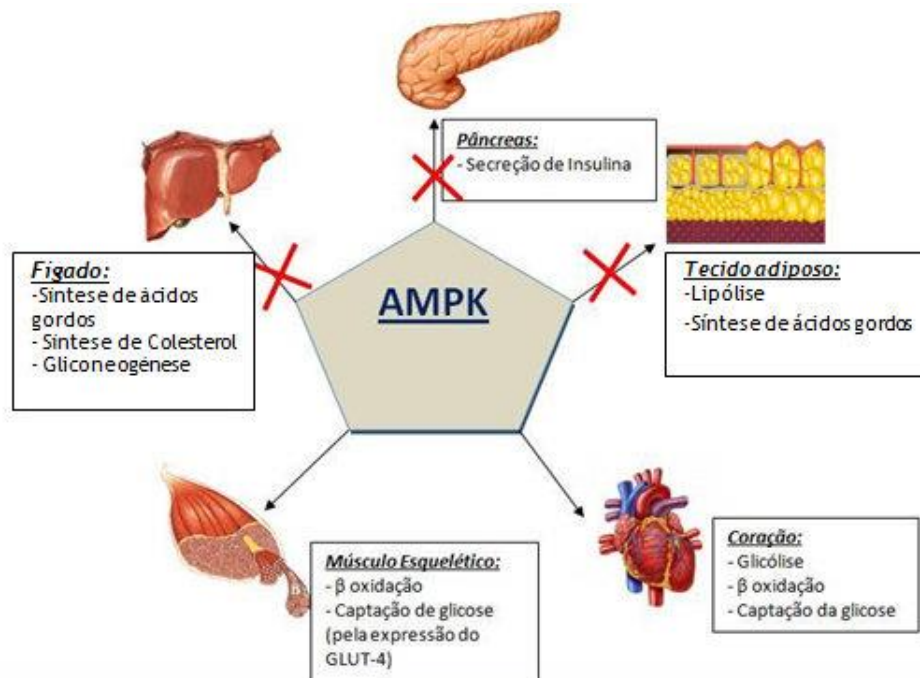


Figura 5: Ação da AMPK em diferentes órgãos que comprometem o efeito Warburg

Assim, a super nutrição é capaz de inibir o LKB1/AMPK, podendo contribuir para um risco aumentado de cancro em pessoas com DM e obesos, enquanto o exercício e a dieta podem contribuir para a ativação do LKB1/AMPK podendo resultar numa supressão tumoral (13).

O crescimento celular é dependente dos nutrientes que estão disponíveis no meio e são os fatores de crescimento que ativam uma série de vias de sinalização que metabolizam esses nutrientes necessários á proliferação (12). Estudos revelaram que uma das maiores vias de

regulação do crescimento controlada pelo LKB1/AMPK é o mamalian target of rapamycin pathway (m-TOR 1). O m-TOR é um sistema central que integra estímulos provenientes de nutrientes e fatores de crescimento responsáveis pelo controlo do crescimento celular em todas as células eucarióticas estimulando a síntese de proteínas, essenciais para a multiplicação celular (75).

Assim, quando os níveis de ATP diminuem (por exemplo no stress oxidativo) o LKB1 é ativado e ativa a AMPK (Figura 6). A ativação dessa quinase resulta na inibição do m-TOR1, inibindo múltiplos fatores de crescimento cruciais à síntese de proteínas e proliferação celular (59).

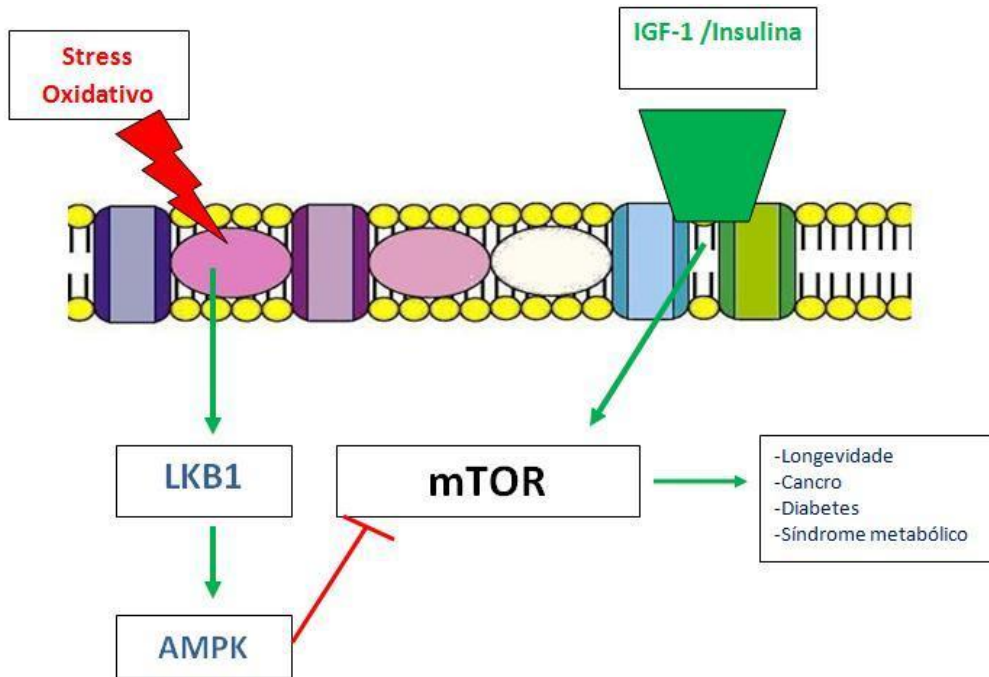


Figura 6: Ação do stress oxidativo sobre o sistema m-TOR

4.1.1.3. Ativação do LKB1/AMPK pela Metformina

A metformina pode influenciar a carcinogénese quer diretamente pela ativação do AMPK quer indiretamente através da redução dos níveis de insulina (20,27).

A grande maioria dos estudos realizados dá ênfase à sua capacidade para a ativação da AMPK, colocando-se a hipótese de que esta propriedade está na base da prevenção e/ou tratamento do cancro (11,19,20). Esta biguanida, quando administrada, inibe o complexo respiratório I resultando na diminuição do ATP e consequentemente no aumento do AMP, que por sua vez contribui para a ativação da AMPK e induz a fosforilação da sua subunidade no Thr172 pela ativação do LKB1 (Figura 7). Como já acima referido, este processo vai culminar na ativação de uma série de processos catabólicos para obtenção de ATP e inibição de processos anabólicos consumidores de ATP, que impedem o efeito Warburg (19,76) e inibem a síntese

proteica (pela inibição do mTOR) resultando na incapacidade de proliferação celular das células cancerígenas (20,27,76).

No entanto, também a diminuição indireta dos níveis de insulina (uma hormona mitogénica) após a administração da metformina, parece desempenhar um papel importante para o seu efeito anti tumoral (20). Estudos demonstraram que a metformina tem a capacidade de reduzir a insulina plasmática em cerca de 22% e aumentar a sensibilidade à insulina em cerca de 25% em mulheres não-diabéticas com neoplasia da mama (77), anulando o efeito mitogénico da insulina (11,77).

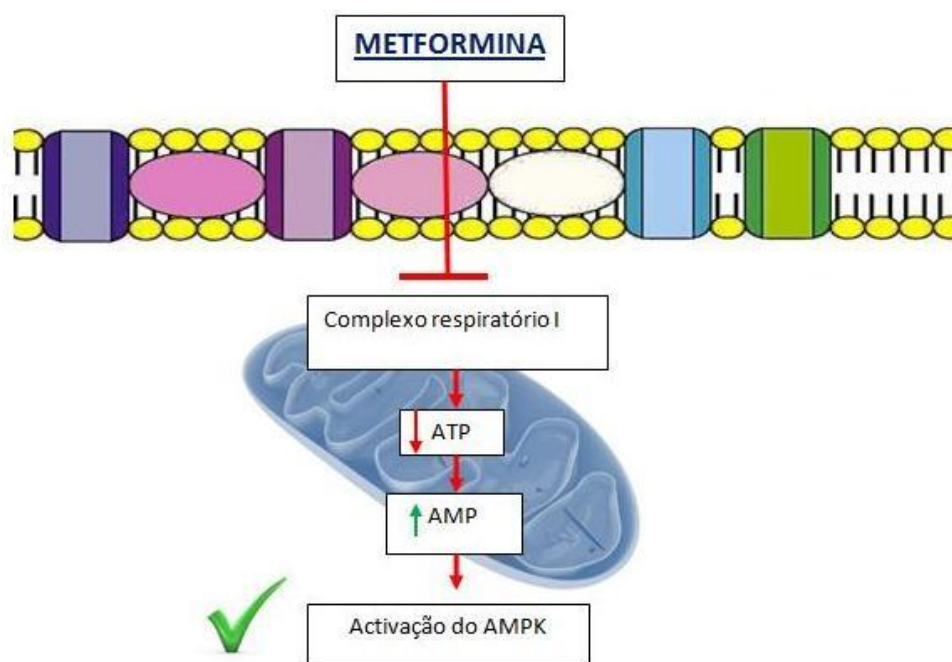


Figura 7: Ação da Metformina na via AMPK

Contudo sabe-se que o LKB1 (gene de supressão tumoral) é muitas vezes desativado por mutações durante a carcinogénese e a perda desse gene faz com que essas pessoas fiquem mais suscetíveis ao desenvolvimento de pólipos intestinais assim como a uma ampla variedade de cancros desde pâncreas, fígado, pulmão, mama, ovários, útero, testículos entre outros. Esta é uma condição que se assemelha aos portadores da síndrome de Peutz Jeghers, uma doença autossómica dominante resultante de uma mutação no cromossoma 19 no gene LKB1 (13,78).

Na ausência deste gene e em condições celulares basais, algumas vias de proliferação e crescimento celular (p.ex: m-TOR) são estimuladas pela ausência de ativação do AMPK,

havendo uma maior propensão para a carcinogénese. No entanto, quando estas células se tornam malignas, elas requerem mais energia do que as células normais e na ausência do LKB1 a AMPK não é ativada fazendo com que o ATP necessário não seja formado culminando na apoptose destas células (79), verificando-se um duplo efeito do LKB1 consoante as necessidades metabólicas. Uma vez que alguns estudos relatam que a metformina pode inibir a gliconeogénese hepática de forma independente da via do LKB1/AMPK (80), a administração deste ADO nestas circunstâncias pode criar um ambiente de stress oxidativo, diminuindo ainda mais os níveis de ATP, criando um ambiente propício à apoptose (Figura 8).

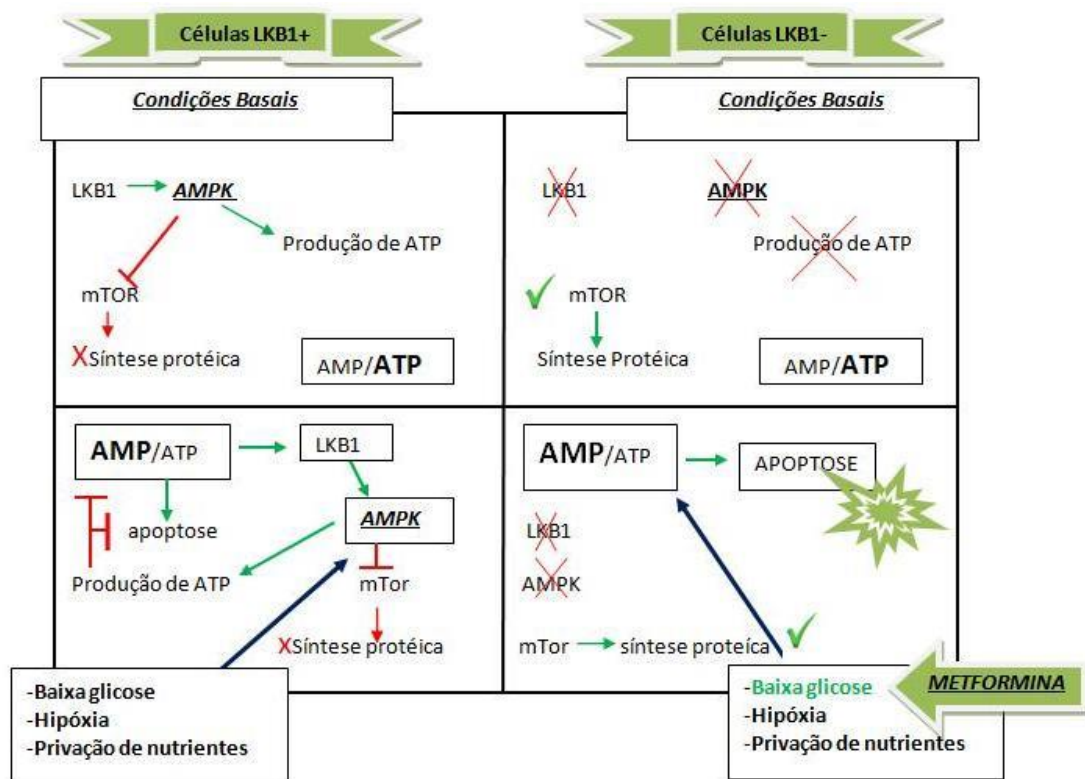


Figura 8: Ação da Metformina em pacientes com LKB1 e sem LKB1.

4.1.2. Inibição dos processos inflamatórios pela Metformina

A inflamação é um processo da imunidade inata em resposta a estímulos potencialmente fatais como a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS), fator de necrose tumoral α (TNF- α), IL-8 (interleucina 8), LPS (lipopolissacarídeos) entre outros. A via do fator nuclear kappa B (NF κ B) tem um duplo papel no cancro, por um lado, como parte do sistema imunitário tenta eliminar as células transformadas, por outro lado o NF κ B parece estar ativado continuamente nas células malignas exercendo uma variedade de efeitos pró-tumorais (81). A sua função anti tumoral é designada como “tumor immune surveillance”, no entanto,

durante esta fase o sistema imunitário pode não ser capaz de eliminar todas as células cancerígenas ou pré-cancerígenas resultando numa fase temporária de “equilíbrio” entre o sistema imunitário e a progressão tumoral, seguindo-se uma fase designada por “escape das células malignas” quando o sistema imunitário perde a sua capacidade de inibir o crescimento, e a progressão tumoral continua (81,82).

Coloca-se a possibilidade da via NFκB ser responsável pela associação que existe entre a inflamação crónica e o cancro, uma vez que estudos epidemiológicos realçam que os pacientes com inflamação crónica têm um risco aumentado para o desenvolvimento de cancro, tal como os imunodeprimidos. Esta associação pode surgir do fato da inflamação contribuir para a ativação do NFκB, que por sua vez é responsável pela ativação dos neutrófilos do sistema imunitário, produtores das ROS para destruírem os patógenos, podendo resultar em alterações do ácido desoxirribonucléico (DNA) contribuindo para a iniciação tumoral, transformação do epitélio para mesênquima, formação de metástases e ativação das MMPs 8 (metaloproteinases da matriz tipo 8), perdendo a matriz extracelular e contribuindo para a progressão tumoral.

Os níveis de NFκB podem estar elevados perante duas situações: quando há uma mutação dos genes NFκB resultando na ativação do NFκB ou pelo aumento da libertação exagerada de citocinas pelos macrófagos durante um processo inflamatório. Verifica-se que o aparecimento de linfomas está mais associado à primeira hipótese, enquanto que os tumores sólidos estão relacionados com o aumento da atividade do NFκB (83).

O cancro do colón decorrente da inflamação é um bom exemplo desta associação uma vez que estudos comprovaram que a colite estimula a ativação NFκB nessas células epiteliais contribuindo para a sua transformação tumoral (84). Também o aumento da incidência do cancro hepático nas pessoas que desenvolvem hepatite poderá ser explicado baseado neste mecanismo (81).

Em suma, a atividade do NFκB parece desempenhar um papel importante como cofator nos tumores sólidos assegurando e contribuindo para o crescimento e progressão das células transformadas e a sua contínua activação é atingida pela libertação constante de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos (p.ex: células de Kupffer na hepatite viral). Assim a inativação do NFκB constitui um alvo para desenvolver novas terapêuticas anti tumorais (83). A metformina aparenta ser capaz de inibir a resposta inflamatória associada a essa transformação e ao crescimento maligno pela inativação do NFκB (85).

4.1.3. Metformina e células estaminais cancerígenas

Se por um lado a metformina é capaz de inibir a resposta inflamatória pela inibição do NFκB, (86), por outro através do mesmo mecanismo, quando combinada com um medicamento citotóxico, parece ter a capacidade de prevenir a reocorrência do cancro - “dandelion hypothesis” (11,26). Esta hipótese foi bem explicada por Hirsch *et al.* (25) que revelaram que

os tumores apresentam células estaminais (células com capacidade de se transformarem e darem origem a todos os tipos de células presentes num cancro) fazendo deles tumores quimio-resistentes. A quimioresistência advém do fato da QT somente contribuir para a diminuição da progressão tumoral destruindo apenas as células já transformadas, havendo uma possibilidade de uma recorrência tumoral se as células estaminais malignas persistirem. Assim, a metformina que consegue seletivamente destruir estas células estaminais malignas pode inibir essa recorrência e progressão tumoral quando associada às terapêuticas citotóxicas (p.ex: Doxorubicina) (25,26).

Alguns estudos tentam explicar a ação da metformina defendendo que este ADO atua inibindo um dos passos mais precoces do processo de inflamação, o fator NF- κ B, resultando num atraso da transformação celular. No entanto, essa capacidade inibitória é perdida quando a metformina é prescrita depois do estímulo inflamatório inicial, uma vez que por essa altura para além da presença de células estaminais malignas, também existem células malignas já transformadas que não estão sujeitas à acção da metformina. Contudo, quando a metformina é administrada em conjunto com um citotóxico, (p.ex: Doxorubicina) a sua atividade sinérgica é capaz de destruir as células já transformadas (pela acção do agente citotóxico) e destruir as células estaminais malignas (pela acção da metformina), inibindo o feedback inflamatório e culminando no bloqueio da progressão tumoral e no prolongamento da remissão (“dandelion hypothesis”) (Figura 9) (25,26,85).

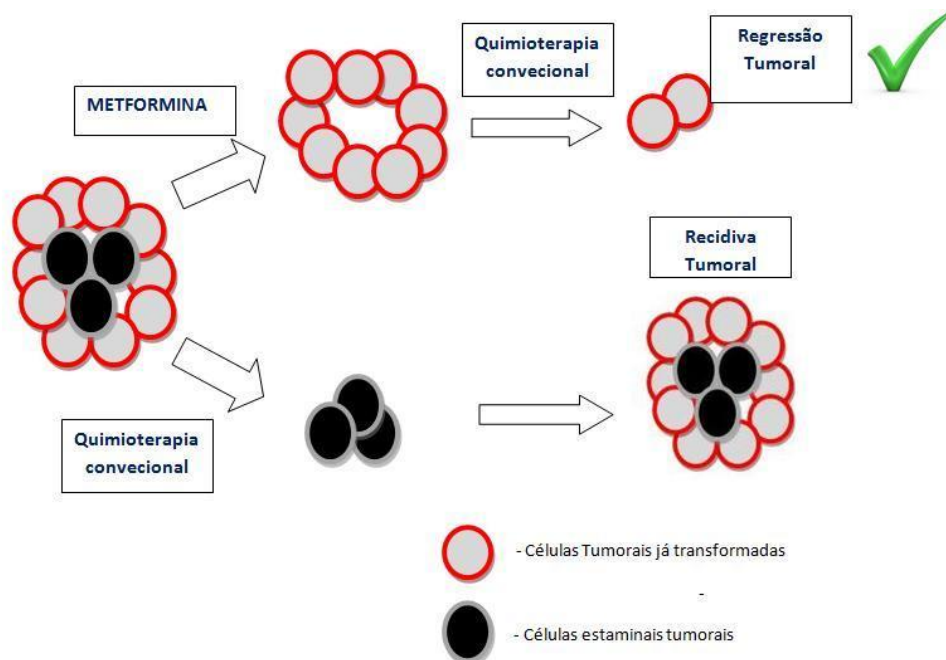


Figura 9: Combinação da Metformina com a Quimioterapia convencional (“dandelion hypothesis”). Esta é uma hipótese que apoia a capacidade da metformina em atuar especificamente nas células estaminais malignas (células a partir das quais o cancro se desenvolve). Esta capacidade previne a recorrência tumoral quando usada em combinação com a QT, uma vez que esta última apenas atua nas células malignas já transformadas.

4.1.4. Efeito anti-angiogénico da Metformina

A angiogénese tem um papel crucial no crescimento tumoral e na formação de metástases. Ela é iniciada pela presença de fatores de crescimento vasculares endoteliais (VEGF) e por isso a sua inibição é um dos alvos da terapia para o cancro (78).

Os neutrófilos são imprescindíveis para o processo inflamatório, libertando diferentes mediadores entre os quais moléculas pró-angiogénese, especialmente a VEGF-A. A VEGF é uma molécula mitogénica com inúmeras funções nas células endoteliais, incluindo o aumento da permeabilidade vascular, a indução da angiogénese, crescimento das células endoteliais, promoção da migração celular e inibição da apoptose (78).

Estudos concluíram que a metformina através da ativação do AMPK é capaz de inibir o recrutamento dos neutrófilos que são ativados durante a inflamação fazendo com que haja uma diminuição do VEGF e consequentemente uma inibição da angiogénese (86). Outros estudos *in vitro* demonstram que a metformina diminuiu a migração celular e a expressão VEGF no mRNA (mensageiro do RNA), sendo esta causa-efeito dose-dependente (87).

4.2. Limitações encontradas nos estudos

Durante a minha pesquisa e após analisar uma grande parte dos estudos realizados nesta área verifiquei que entre eles existiam algumas discrepâncias, fazendo deste um tema bastante controverso. No entanto muitas dessas divergências nos estudos *pré-clínicos* “*in vitro*” podem dever-se ao fato dos valores da metformina e glicose utilizados não serem os ideais.

Apesar de uma grande parte dos estudos demonstrarem um papel importante da metformina no tratamento e prevenção do cancro da mama, outros fazem uma ressalva das limitações que muitos desses estudos apresentam (88). Uma das principais lacunas dos estudos “*in vitro*” é a utilização de condições suprafisiológicas da concentração da glicose plasmática (cerca de 25mM/L o que corresponde a 450 mg/dL), correspondendo a um valor quatro vezes e meio superior ao valor fisiológico “*in vivo*” e doses de metformina suprafarmacológicas (27,74,88). Uma vez que “*in vivo*” o valor normal da concentração de glicose plasmática em jejum em pessoas saudáveis é cerca de 5 mM/L, o que equivale a 90mg/dL e em pessoas com DM é superior a 7 mM/L, equivalente a 126 mg/dL, a utilização de valores suprafarmacológicos de metformina, pode simplesmente refletir a dose necessária para a sua ação em meios hiperglicémicos que em nada se assemelham ao valor fisiológico humano (74). Outra limitação advém do fato de que para observarmos os efeitos da metformina nas células malignas “*in vitro*” é necessário que a sua exposição a este medicamento ocorra durante semanas ou meses o que geralmente não se constata. Em muitos dos estudos, as células malignas são expostas à metformina durante um curto período de tempo (88).

5. Conclusão

O cancro é uma patologia que preocupa toda a população, não só devido á sua crescente incidência mas sobretudo devido ao sofrimento psicológico, emocional e físico que muitas vezes culmina na morte.

Apesar da ciência não estagnar e tentar arduamente descobrir a cura para este problema de saúde, esse objetivo infelizmente ainda não foi atingido.

Contudo, a metformina, o antidiabético oral mais prescrito em todo o mundo no controlo da DM tipo 2 está a ser estudada como potencial medicamento para a prevenção e tratamento de vários tipos de neoplasias, quer isoladamente quer como terapia adjuvante.

Até ao momento, já foram descritos inúmeros benefícios do uso deste ADO em vários cancros independentemente do paciente ser diabético ou não. Porém, e apesar de alguns mecanismos de ação neste contexto já serem compreendidos, muitos ainda permanecem obscuros e nem todos os estudos obtiveram resultados consensuais.

A elaboração de estudos que consigam superar as lacunas identificadas em muitos dos já efetuados, e os resultados dos ensaios de estudo ainda a decorrer, poderão contribuir para uma melhor compreensão da ação da metformina no cancro, e simultaneamente poderão ser cruciais para compreendermos se este é um medicamento promissor nesta área.

Bibliografia

- (1) Stricker TP, Kumar V. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Aster J, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Patologia Básica, 8ª edição. Saunders/Elsevier Editora, 2013. p188-89.
- (2) Cancer Research UK. Worldwide Cancer [Internet]. 2015. Disponível em: http://publications.cancerresearchuk.org/downloads/Product/CS_KF_WORLDWID.pdf
- (3) Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergenstal RM, Gapstur SM, Habel LA, et al. Diabetes and cancer: a consensus report. *CA Cancer J Clin.* 2010;60(4):207-21.
- (4) Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet.* 2006;367:1747-57.
- (5) Masharani U, German MS. Hormônios pancreáticos e diabetes melito. In: Gardner DG, Shoback D. Endocrinologia básica e clínica de Greenspan (Lange), 9ª edição. McGraw-Hill Editora, 2013.p614.
- (6) Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J.* 2000;3:607-14.
- (7) Rena G, Pearson ER, Sakamoto K. Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights? *Diabetologia* 2013;56(9):1898-906.
- (8) Rena G, Pearson ER, Sakamoto K. Molecular action and pharmacogenetics of metformin: current understanding of an old drug. *Diabetes Management.* 2012;2(5): 439-52.
- (9) Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest.* 2011;108:1167-74.
- (10) Kyrylkova K, Kyryachenko S, Leid M, Kioussi C. Detection of apoptosis by TUNEL assay. *Methods Mol Bio.* 2012;887:41-7.
- (11) Martin-Castillo B, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Menendez JA. Metformin and cancer: doses, mechanisms and the dandelion and hormetic phenomena. *Cell Cycle.* 2010;9(6):1057-64.
- (12) Shackelford DB, Shaw RJ. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumor suppression. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(8):563-75.

- (13) Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*. 2009;324(5930):1029-33.
- (14) Cassidy J, Bissett D, Spence R, Payne M. Etiology and epidemiology. Genetics of cancer. In: Cassidy J, Bissett D, Spence R, Payne M. *Oxford Handbook of Oncology*, 3th edition. Oxford University Press, 2010. p6-24.
- (15) World Health Organization. Treatment of cancer [Internet]. 2015. Disponível em: <http://www.who.int/cancer/treatment/en>
- (16) Santos R, Piteira S. Cancro em Portugal [Internet]. Público 2014. Disponível em: <http://www.publico.pt/multimedia/infografia/cancro-em-portugal-114>
- (17) Pimentel F. Qualidade de vida e oncologia. Coimbra: Edições Almedina SA, 2006.
- (18) Pinheiro S, Tyczynski J, Bray F, Amado J, Matos E, Parkin D. Cancer incidence and mortality in Portugal. *Eur J Cancer* 2003;39(17):2507-20.
- (19) Andrzejewski S, Gravel SP, Pollak M, St-Pierre J. Metformin directly acts on mitochondria to alter cellular bioenergetics. *Cancer Metab*. 2014; 28;2:12.
- (20) Aksoy S, Sendur MA, Altundag K. Demographic and clinico-pathological characteristics in patients with invasive breast cancer receiving metformin. *Med Oncol*. 2013;30(2):590.
- (21) Campagnoli C, Berrino F, Venturelli E, Abbà C, Biglia N, Brucato T, et al. Metformin decreases circulating androgen levels in non diabetic women with breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2013;13(6):433-8.
- (22) Peeters PJ, Bazelier MT, Vestergaard P, Leufkens HG, Schmidt MK, de Vries F et al. Use of metformin and survival of diabetic women with breast cancer. *Curr Drug Saf*. 2013;8(5):357-63.
- (23) Besic N, Satej N, Horvat AG, Ratosa I, Marinko T, Gazic B, et al. Long term use of metformin and the molecular subtype in invasive breast carcinoma patients- a retrospective study of clinical and tumor characteristics. *BMC Cancer*. 2014;14:298.
- (24) Tseng CH. Metformin may reduce breast cancer risk in Taiwanese women with type 2 diabetes. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;145(3):785-90.
- (25) Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsihchlis PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res*. 2009;69(19):7507-11.

- (26) Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer Res.* 2011;71(9):3196-201.
- (27) Sadighi S, Amanpour S, Behrouzi B, Khorgami Z, Muhammadnejad S. Lack of Metformin Effects on Different Molecular Subtypes of Breast Cancer under Normoglycemic Conditions in vitro. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(5):2287-90.
- (28) Sanli T, Rashid A, Liu C, Harding S, Bristow RG, Cutz JC et al. Ionizing radiation activates AMP-activated kinase (AMPK): a target for radiosensitization of human cancer cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010;78(1):221-9.
- (29) Song CW, Lee H, Dings RP, Williams B, Powers J, Santos TD et al. Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. *Sci Rep.* 2012;2:362.
- (30) Niraula S, Dowling RJ, Ennis M, Chang MC, Done SJ, Hood N, et al. Metformin in early breast cancer: a prospective window of opportunity neoadjuvant study. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;135(3):821-30.
- (31) Hadad S, Iwamoto T, Jordan L, Purdie C, Bray S, Baker L, et al. Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a preoperative, window-of-opportunity, randomized trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;128(3):783-94.
- (32) Currie CJ, Poole CD, Gale EA. The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2009;52(9):1766-77.
- (33) Ferro A, Goyal S, Kim S, Wu H, Taunk NK, Shiff D, et al. Evaluation of Diabetic Patients with Breast Cancer Treated with Metformin during Adjuvant Radiotherapy. *Int J Breast Cancer* 2013;659723.
- (34) Kyrylkova K, Kyryachenko S, Leid M, Kioussi C. Detection of apoptosis by TUNEL assay. *Methods Mol Bio.* 2012;887:41-7.
- (35) Azoulay L, Dell'Aniello S, Gagnon B, Pollak M, Suissa S. Metformin and the incidence of prostate cancer in patients with type 2 diabetes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(2):337-44.
- (36) He XX, Tu SM, Lee MH, Yeung SC. Tiazolidiones and metformin associated with improved survival of diabetics prostate cancer patients. *AnnOncol.* 2011;22(12):2640-5.

- (37) Spratt DE, Zhang C, Zumsteg ZS, Pei X, Zhang Z, Zelefsky MJ. Metformin and prostate cancer: benefit for development of castration-resistant disease and prostate cancer mortality. *Eur Urol*. 2013;63(4):709-16.
- (38) Randazzo M, Beatrice J, Huber A, Grobholz R, Manka L, Wyler SF, et al. Influence of metformin use on PSA values, free-to-total PSA, prostate cancer incidence and grade and overall survival in a prospective screening trial (ERSPC Aarau). *World J Urol*. 2014. (In press)
- (39) Tseng CH. Metformin significantly reduces incident prostate cancer risk in Taiwanese men with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Cancer*. 2014;50(16):2831-7.
- (40) Patel T, Hruby G, Badani K, Abate-Shen C, McKiernan JM. Clinical outcomes after radical prostatectomy in diabetic patients treated with metformin. *Urology*. 2010;76(5):1240-4.
- (41) Kaushik D, Karnes RJ, Eisenberg MS, Rangel LJ, Carlson RE, Bergstralh EJ. Effect of metformin on prostate cancer outcomes after radical prostatectomy. *Urol Oncol*. 2014;32(1):43.e1-7.
- (42) Joshua AM, Zannella VE, Downes MR, Bowes B, Hersey K, Koritzinsky M, et al. A pilot window of opportunity neoadjuvant study of metformin in localized prostate cancer. *Prostatic Dis*. 2014;17(3):252-8.
- (43) Zhang T, Zhang L, Zhang T, Fan J, Wu K, Guan Z, et al. Metformin sensitizes prostate cancer cells to radiation through EGFR/p-DNA-PKCS in vitro and in vivo. *Radiat. Res*. 2014;181(6):641-9.
- (44) Nobes JP, Langley SE, Laing RW. Use of metformin and lifestyle intervention to prevent ADT-related metabolic syndrome in prostate cancer. *J Clin Oncol* 2009;27(15S): 5159.
- (45) Keating NL, O'Malley AJ, Smith MR. Diabetes and cardiovascular disease during androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:4448-56.
- (46) Mazzone PJ, Rai H, Beukemann M, Xu M, Jain A, Sasidhar M. The effect of metformin and thiazolidinedione use on lung cancer in diabetics. *BMC Cancer*. 2012;12:410.
- (47) Lai SW, Liao KF, Chen PC, Tsai PY, Hsieh DP, Chen CC. Antidiabetes drugs correlate with decreased risk of lung cancer: a population-based observation in Taiwan. *Clin Lung Cancer*. 2012;13:143-8.

- (48) Smiechowski BB, Azoulay L, Yin H, Pollak MN, Suissa S. The use of metformin and the incidence of lung cancer in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2013;36:124-9.
- (49) Tsai MJ, Yang CJ, Kung YT, Sheu CC, Shen YT, Chang PY, et al. Metformin decreases lung cancer risk in diabetic patients in a dose-dependent manner. *Lung Cancer*. 2014;86(2):137-43.
- (50) Lin JJ, Gallagher EJ, Sigel K, Mhango G, Galsky MD, Smith CB, et al. Survival of Patients with Stage IV Lung Cancer with Diabetes treated with Metformin. *Am J Respir Crit Care Med* .2015;191(4):448-54.
- (51) Teixeira SF, Guimarães Idos S, Madeira KP, Daltoé RD, Silva IV, Rangel LB. Metformin synergistically enhances antiproliferative effects of cisplatin and etoposide in NCI-H460 human lung cancer cells. *J Bras Pneumol*. 2013;39(6):644-9.
- (52) Morgillo F, Sasso FC, Della Corte CM, Vitagliano D, D'Aiuto E, Troiani T et al. Synergistic effects of metformin treatment in combination with gefitinib, a selective EGFR tyrosine kinase inhibitor, in LKB1 wild-type NSCLC cell lines. *Clin Cancer Res*. 2013;19(13):3508-19.
- (53) Lin CC, Yeh HH, Huang WL, Yan JJ, Lai WW, Su WP, et al. Metformin enhances cisplatin cytotoxicity by suppressing signal transducer and activator of transcription-3 activity independently of the liver kinase B1-AMP-activated protein kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013;49(2):241-50.
- (54) Storozhul Y, Hopmans SN, Sanli T, Barron C, Tsiani E, Cutz JC, et al. Metformin inhibits growth and enhances radiation response of non-small cell lung cancer (NSCLC) through ATM and AMPK. *Br J* 2013;108(10):2021-32.
- (55) Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Uchiyama T, et al. Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prev Res* 2010;3(9):1077-83.
- (56) Lee MS, Hsu CC, Wahlqvist ML, Tsai HN, Chang YH, Huang YC. Type 2 diabetes increases and metformin reduces total colorectal, liver and pancreatic cancer incidences in Taiwanese: a retrospective population prospective cohort study of 800,000 individuals. *BMC Cancer*. 2011;11:20.
- (57) Smiechowski B, Azoulay L, Yin H, Pollak MN, Suissa S. The use of metformin and colorectal cancer incidence in patients with type II diabetes mellitus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(10):1877-83

- (58) Cho YH, Ko BM, Kim SH, Myung YS, Choi JH, Han JP, et al. Does metformin affect the incidence of colonic polyps and adenomas in patients with type 2 diabetes mellitus? *Intest Res.* 2014;12(2):139-45.
- (59) Sehdev A, Shih YC, Vekhter B, Bissonnette MB, Olopade OI, Polite B. Metformin for primary colorectal cancer prevention in patients with diabetes: A case-control study in a US population. *Cancer.* 2015;121(7):1071-8.
- (60) Sui X, Xu Y, Yang J, Fang Y, Lou H, Han W, et al. Use of metformin alone is not associated with survival outcomes of colorectal cancer cell but AMPK activator AICAR sensitizes anticancer effect of 5-fluorouracil through AMPK activation. *PLoS One.* 2014;9(5):e97781.
- (61) Nangia-Makker P, Yu Y, Vasudevan A, Farhana L, Rajendra SG, Levi E, et al. Metformin: A Potential Therapeutic Agent for Recurrent Colon Cancer. *PloS ONE.* 2014;9(1):e84369.
- (62) Kato K, Gong J, Iwama H, Kitanaka A, Tani J, Miyoshi H, et al. The antidiabetic drug inhibits gastric cancer cell proliferation in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(3):549-60.
- (63) Kim YI, Kim SY, Cho SJ, Park JH, Choi IJ, Lee YJ, et al. Long-term metformin use reduces gastric cancer risk in type 2 diabetics without insulin treatment: a nationwide cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39(8):854-63.
- (64) Lee CK, Jung M, Jung I, Heo SJ, Jeong YH, An JY, et al. Cumulative Metformin Use and Its Impact on Survival in Gastric Cancer Patients After Gastrectomy. *Ann Surg* 2015. (In press)
- (65) Xie Y, Wang JL, Ji M, Yuan ZF, Peng Z, Zhang Y, et al. Regulation of insulin-like growth factor signaling by metformin in endometrial cancer cells. *Onco Lett.* 2014;8(5):1993-9
- (66) Tebbe C, Chhina J, Dar SA, Sarigiannis K, Giri S, Munkarah AR, et al. Metformin limits the adipocyte tumor promoting effect on ovarian cancer. *Oncotarget.* 2014;5(13):4746-64.
- (67) Hsieh SC, Tsai JP, Yang SF, Tang MJ, Hsieh YH. Metformin inhibits the invasion of hepatocellular carcinoma cells and enhances the chemosensitivity to sorafenib through a downregulation of the ERK/JNK-mediated NF.κB- dependent pathway that reduces uPA and MMP-9 expression. *Amino Acids.* 2014;46(12):2809-22.

- (68) Tsai MJ, Yang CJ, Kung YT, Sheu CC, Shen YT, Chang PY, et al. Metformin decreases lung cancer risk in diabetic patients in a dose-depend manner. *Lung Cancer*. 2014;86(2):137-43.
- (69) Psutka SP, Boorjian SA, Lohse CM, Stewart SB, Tollefson MK, Cheville JC, et al. The association between metformin use and oncologic outcomes among surgically treated diabetic patients with localized renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. 2015;33(2):67.e15-23.
- (70) Costa D, Gigoni A, Wurth R, Cancedda R, Florio T. A metformin inhibition of neuroblastoma cell proliferation is differently modulated by cell differentiation induced by retinoic acid or overexpression of NDM29 non-coding RNA. *Cancer Cell Int*. 2014;14:59.
- (71) Isakovic A, Harhaji L, Stevanovic D, Markovic Z, Sumarac-Dumanovic M, Starcevic V, et al. Dual antiangioma action of metformin: cell cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64(10):1290-302.
- (72) Zhuang Y, Chan DK, Haugrud AB, Miskimins WK. Mechanisms by Which Low Glucose Enhances the Cytotoxicity of Metformin to Cancer Cells Both In Vitro and In Vivo. *PLoS ONE*. 2014;9(9):e108444.
- (73) Zhivotovsky B, Orrenius S. The Warburg Effect returns to the cancer stage. *Semin Cancer Biol*. 2009;19:1-3.
- (74) Menendez JA, Oliveras-Ferraros C, Cufi S, Corominas-Faja B, Joven J, Martin-Castillo B, et al. Metformin is synthetically lethal with glucose withdrawal in cancer cells. *Cell Cycle*. 2012;11(15):2782-92.
- (75) Wullschleger S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006;124:471-84.
- (76) Dowling RJ, Goodwin PJ, Stambolic V. Understanding the benefit of metformin use in cancer treatment. *BMC Med*. 2011;9:33.
- (77) Goodwin PJ, Pritchard KI, Ennis M, Clemons M, Graham M, Fantus IG. Insulin-lowering effects of metformin in women with early breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2008;8:501-5.
- (78) Pollak MN. Investigating Metformin for Cancer Prevention and Treatment: The End of the Beginning. *Cancer Discov*. 2012;2(9):778-90.

- (79) Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, Hurley RL, Witters LA, DePinho RA, et al. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad USA*. 2014;101(10):3329-35.
- (80) Foretz M, Hébrard S, Leclerc J, Zarrinpashned E, Soty M, Mithieux G, 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(7):2355-69.
- (81) Karin M. NF- κ B as a Critical Link between Inflammation and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1:a000141.
- (82) Swann JB, Smyth MJ. Immune surveillance of tumors. *J Clin Invest*. 2007;117(5):1137-46.
- (83) Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer*. 2013;12:86.
- (84) Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li Z-W, Egan LJ, et al. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 2004;118(3):285-96.
- (85) Hirsch HA, Iliopoulos D, Struhl K. Metformin inhibits the inflammatory response associated with cellular transformation and cancer stem cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(3):972-7.
- (86) Zhao X, Zmijewski JW, Lorne E, Liu G, Park YJ, Tsuruta Y, et al. Activation of AMPK attenuates neutrophil proinflammatory activity and decreases the severity of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: 497-504.
- (87) Hamid S, Nilufar E, Yadollah S, Mahmood G, Behroz N, Hasan H, et al. Anti-angiogenic effects of metformin, an AMPK activator, on human umbilical vein endothelial cells and on granulation tissue in rat. *Iranian J Basic Med Sci*. 2012;15(6):1202-9.
- (88) Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M, Pruneri G, Serrano D, Guerrieri-Gonzaga A, et al. Dual effect of metformin on breast cancer proliferation in a randomized presurgical trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(21):2593-600.